

CARLOS LASARO PEREIRA DE MELO

**MELHORAMENTO DE FEIJÃO DO TIPO CARIOCA: AVALIAÇÃO DE  
POPULAÇÕES SEGREGANTES E USO DE MARCADORES MOLECULARES  
VISANDO RESISTÊNCIA A PATÓGENOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2006

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M528m  
2006

Melo, Carlos Lasaro Pereira de, 1979-  
Melhoramento de feijão do tipo carioca : avaliação de  
populações segregantes e uso de marcadores moleculares  
visando resistência a patógenos / Carlos Lasaro Pereira  
de Melo. – Viçosa : UFV, 2006.  
xi, 107f. : il. ; 29cm.

Orientador: José Eustáquio de Souza Carneiro.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Feijão - Melhoramento genético. 2. Marcadores  
genéticos. 3. Feijão - Populações. 4. Feijão - Resistência  
a doenças e pragas. 5. *Phaseolus vulgaris*. I. Universidade  
Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 635.6522

CARLOS LASARO PEREIRA DE MELO

**MELHORAMENTO DE FEIJÃO DO TIPO CARIOCA: AVALIAÇÃO DE  
POPULAÇÕES SEGREGANTES E USO DE MARCADORES MOLECULARES  
VISANDO RESISTÊNCIA A PATÓGENOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 31 de Outubro de 2006.

---

Prof. Everaldo Gonçalves de Barros  
(Co-orientador)

---

Prof. Pedro Crescêncio Souza Carneiro  
(Co-orientador)

---

Dr. Trazilbo José de Paula Júnior

---

Dra. Eveline Teixeira Caixeta

---

Prof. José Eustáquio de Souza Carneiro  
(Orientador)

Aos meus maravilhosos pais, Carlos Pereira de Melo e Sinfrônia Pereira de Melo,  
pela constante ajuda em todos os momentos da minha jornada.

**OFEREÇO**

Ao meu querido filho, Matheus Ferreira Melo,  
por me tornar uma pessoa melhor.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao Pai Deus, pela saúde, pela vida e suas respectivas lições.

Aos meus pais, pelo constante apoio e presentes em todos os momentos da minha vida, mesmo na distância geográfica.

Ao meu querido filho, Matheus F. Melo, fruto de um lindo relacionamento, o qual foi e sempre será um dos meus maiores incentivos durante minha vida, tornando-a mais bela. Apesar da distância geográfica, estará sempre presente no meu coração e em meus pensamentos.

Aos queridos Lásaro, Luzia, Fátima, Carlos Airton e Ederlúcio pelos conselhos, motivação e compreensão em todas as etapas desta caminhada.

Ao meu estimado orientador prof. José Eustáquio de Souza Carneiro, exemplo de caráter profissional e pessoal, pela maravilhosa orientação, por sua colaboração e confiança em todas as etapas da minha formação, desde o início dos trabalhos no Programa Feijão.

Ao estimado co-orientador prof. Everaldo Gonçalves de Barros, pelas valiosas sugestões, pelo apoio e suporte nos trabalhos realizados no Laboratório de Genética Molecular de Plantas BIOAGRO/UFV; pela amizade.

Ao amigo e co-orientador prof. Pedro Crescêncio Souza Carneiro, pelos valiosos conselhos, apoio e críticas no desenvolvimento dos trabalhos.

Ao estimado prof. Cosme Damião Cruz, pelas sugestões, críticas e apoio, desde a graduação na área de genética quantitativa e biometria.

Ao prof. Maurílio Alves Moreira, pela oportunidade de estágio e bolsa concedida na área de Genética Molecular de Plantas.

Ao Dr. Trazilbo José de Paula Júnior, pela contribuição e valiosas críticas para tornar a escrita desta tese mais simples e objetiva; pela amizade e ajuda na apresentação à EPAMIG.

À Dra. Eveline Teixeira Caixeta, pelas importantes sugestões na dissertação desta tese, contribuindo sobremaneira para sua leitura mais concisa.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial ao Programa de Genética e Melhoramento, pela oportunidade concedida.

A todos os professores da UFV, aqui bem representados, os quais tiveram uma porcentagem significativa na minha formação acadêmica e profissional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo suporte financeiro.

Aos amigos e colegas do alojamento e das repúblicas em que vivi toda a minha estadia em Viçosa, pelo agradável convívio, quando possível, familiar e pela amizade.

Aos amigos e colegas dos laboratórios do BIOAGRO e do Programa Feijão da UFV: Abner, Aline, Alisson, Beatriz, Bruna, Bruno, Camila, Cassiana, Demerson, Glauco, Geraldo, Janaína, Jeziel, José Eduardo, Klever, Lelisângela, Lílian, Márcia Regina, Márcia Flores, Newton, Suelen, Thiago, Valéria, Vilmar, entre outros, pela constante ajuda e agradável convivência.

Ao Dr. Vilmar A. Ragagnin, pela grande contribuição ao desenvolvimento deste trabalho, principalmente em Genética Molecular, por sua paciência, esforço e amizade.

A todos os funcionários da UFV, principalmente ao Sr. Gilberto, representando os funcionários de campo (Coimbra e Viçosa) do Programa Feijão da UFV, pela constante ajuda nos trabalhos de campo e amizade. Ao Sr. José Pinto Rosa, pela valiosa ajuda na condução dos trabalhos em casa de vegetação. Também aos funcionários Aloísio, Gláucia e João Paulo pelo apoio durante a execução dos trabalhos no BIOAGRO/UFV.

Às secretárias do Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Maria da Conceição L. Vieira, Rosemeire e Rita de Cássia Rosado Cruz, pelo apoio sempre que necessário.

A todos os amigos e colegas do Curso de Genética e Melhoramento que, direta ou indiretamente, contribuíram para a condução deste trabalho.

À comunidade viçosense, pelo convívio democrático e recepção agradável durante toda a minha estadia em Viçosa.

Enfim, a todo povo brasileiro que, por meio do pagamento de seus impostos, sempre custearam minha formação profissional.

## **BIOGRAFIA**

CARLOS LASARO PEREIRA DE MELO, filho de Carlos Pereira de Melo e Sinfrônia Pereira de Melo, nasceu em 17 de outubro de 1979, em Brasília-DF.

Cursou o primário nas Escolas Estaduais Domingos Pinto Brochado e Padre Lamberto, nas cidades de Unaí-MG, e Cabeceira de Goiás-GO, respectivamente.

Concluiu o ensino fundamental na Escola Estadual Virgílio de Melo Franco, em Unaí-MG. Em Dezembro de 1997, concluiu o 3º ano científico no Centro de Ensino Objetivo, em Taguatinga-DF.

Em março de 1998, iniciou o Curso Superior de Agronomia na Universidade Federal de Viçosa - UFV, colando grau em março de 2003.

Em março de 2003, iniciou o Curso de Mestrado em Genética e Melhoramento, na UFV, defendendo tese em 20 de Agosto de 2004.

Em Agosto de 2004, iniciou o Curso de Doutorado, no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, linha de pesquisa em Melhoramento Vegetal, na UFV, defendendo tese em Outubro de 2006.

## CONTEÚDO

	Página
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. OBJETIVOS .....	4
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	5
3.1. Evolução do melhoramento do feijão tipo “carioca” no Brasil.....	5
3.2. Alternativas para seleção de populações segregantes .....	8
3.3. Principais doenças foliares do feijoeiro, variabilidade patogênica, fontes de resistência e controle genético da resistência .....	12
3.3.1. Antracnose.....	12
3.3.2. Mancha angular .....	15
3.3.3. Ferrugem .....	17
3.4. Melhoramento visando resistência aos patógenos do feijoeiro.....	19
3.5. Marcadores moleculares no melhoramento do feijoeiro.....	20
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
CAPÍTULO 1 .....	35
CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE POTENCIAIS GENITORES DE FEIJÃO DO TIPO CARIOCA .....	35
1. INTRODUÇÃO .....	35
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	38
2.1. Material genético.....	38
2.2. Locais de condução dos experimentos.....	39
2.3. Caracterização fenotípica das linhagens elites.....	39
2.3.1. Inoculação de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> .....	39
2.3.2. Inoculação de <i>Uromyces appendiculatus</i> .....	40
2.3.3. Inoculação de <i>Phaeoisariopsis griseola</i> .....	41
2.4. Caracterização molecular das linhagens elites.....	42
3. RESULTADOS.....	44
3.1. Reação das linhagens elites aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular .....	44
3.2. Caracterização molecular das linhagens .....	47
4. DISCUSSÃO .....	49
5. RESUMO E CONCLUSÕES .....	52

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
CAPÍTULO 2 .....	57
PREDIÇÃO DO POTENCIAL GENÉTICO DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO DO TIPO CARIOCA.....	57
1. INTRODUÇÃO .....	57
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	59
2.1. Material Genético.....	59
2.2. Avaliação das populações segregantes.....	59
2.3. Análise genético-estatística - avaliação das populações F <sub>2</sub> e F <sub>3</sub> .....	60
2.4. Predição do potencial genético das populações segregantes .....	61
3. RESULTADOS.....	63
3.1. Avaliação das populações segregantes (gerações F <sub>2</sub> e F <sub>3</sub> ).....	63
3.2. Seleção de populações segregantes baseado no procedimento de Jinks e Pooni (1976).....	66
4. DISCUSSÃO .....	69
5. RESUMO E CONCLUSÕES .....	71
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
CAPÍTULO 3 .....	74
SELEÇÃO INDIRETA POR MEIO DE MARCADORES ESPECÍFICOS DE ALELOS DE RESISTÊNCIA A PATÓGENOS EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJOEIRO .....	74
1. INTRODUÇÃO .....	74
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	76
2.1. Material genético.....	76
2.2. Genotipagem de plantas F <sub>4</sub> visando resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular .....	76
3. RESULTADOS.....	78
4. DISCUSSÃO .....	82
5. RESUMO E CONCLUSÕES .....	83
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
CAPÍTULO 4 .....	87
POTENCIAL DA METODOLOGIA DE JINKS e POONI COMO PROCEDIMENTO DE ESCOLHA DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJOEIRO .....	87
1. INTRODUÇÃO .....	87
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	90
2.1. Material genético.....	90
2.2. Local de condução do experimento.....	90

2.3. Avaliação das famílias $F_{3:5}$ .....	90
3. RESULTADOS.....	95
4. DISCUSSÃO .....	102
5. RESUMO E CONCLUSÕES .....	104
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	105
CONCLUSÕES GERAIS .....	107

## RESUMO

MELO, Carlos Lasaro Pereira, D.S., Universidade Federal de Viçosa, Outubro de 2006.  
**Melhoramento de feijão do tipo Carioca: avaliação de populações segregantes e uso de marcadores moleculares visando resistência a patógenos.** Orientador: José Eustáquio de Souza Carneiro. Co-orientadores: Everaldo Gonçalves de Barros e Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

Visando desenvolver linhagens de feijão do tipo carioca, resistentes à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) e mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) e com características agronômicas desejáveis, foi realizada a caracterização fenotípica e molecular de 30 linhagens elites de feijão do tipo carioca e da isolinha Rudá-R, a qual é proveniente do programa de piramidação de genes de resistência a patógenos do feijoeiro, em andamento no BIOAGRO/UFV. Todas as linhagens foram cruzadas com a ‘Rudá-R’, aqui utilizada como fonte de genes de resistência às doenças mencionadas anteriormente. Posteriormente, as populações segregantes foram avançadas e avaliadas em campo nas gerações F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>, nas safras da seca de 2004 e de 2005, utilizando o delineamento de blocos ao acaso, com três repetições. Na geração F<sub>3</sub> foram tomados dados de produção de grãos por planta, com o intuito de estimar a variância genética média de cada população e, assim, predizer o potencial genético dessas populações, conforme metodologia de Jinks e Pooni. Nesse estudo foi utilizada como testemunha a cultivar Talismã como padrão, também de grãos do tipo carioca. Considerando os resultados da caracterização fenotípica e molecular dos genitores e da avaliação das populações segregantes foram selecionadas cinco populações de bom desempenho e com potencial para utilização de seleção indireta por meio de marcadores moleculares visando resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular. Cerca de 150 plantas F<sub>4</sub> de cada uma dessas populações foram genotipadas utilizando marcadores RAPD e SCAR, previamente identificados pelo Programa do BIOAGRO/UFV. Foram identificadas plantas F<sub>4</sub> com presença de marcas moleculares ligadas a diferentes alelos de resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular, nas diferentes populações segregantes; em alguns casos constatou-se, molecularmente, a introgressão de dois ou três genes de resistência, o que seria dificultado utilizando somente inoculações artificiais. Além disso, no sentido de validar a metodologia de predição do potencial genético de

populações segregantes no melhoramento do feijoeiro, foram escolhidas as duas populações mais promissoras e as duas menos promissoras, baseado no potencial de gerar linhagens superiores ao padrão Talismã. Foram extraídas 53 famílias  $F_{3;5}$  de cada população e estas avaliadas em campo no delineamento em látice quadrado triplo. De acordo com os resultados obtidos concluiu-se que a metodologia de Jinks e Pooni foi eficiente na identificação de populações segregantes mais promissoras, as quais originaram famílias de bom desempenho, com vistas à extração de linhagens superiores.

## ABSTRACT

MELO, Carlos Lasaro Pereira, D.S., Universidade Federal de Viçosa, October of 2006.

**‘Carioca’ bean breeding: evaluation of segregate population and use of molecular markers looking for resistance to pathogens.** Advisor: José Eustáquio de Souza Carneiro. Co-Advisers: Everaldo Gonçalves de Barros and Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

In order to develop Carioca bean lines resistant to *Colletotrichum lindemuthianum*, *Uromyces appendiculatus* and *Phaeoisariopsis griseola* and showing desirable agronomic characteristics, it was done phenotypic and molecular characterization of 30 Carioca bean lines and also of ‘Rudá-R’ which comes from a program of pyramiding of gene resistant to bean pathogen, at BIOAGRO/UFV. At the dry season 2004/05, segregate population were advanced and evaluated in field at generations F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> by using randomized block design, with three replications. At F<sub>3</sub> were collect data of grain production per plant in order to estimate the average of genetic variance of each population and then determine their genetic potential according to Jinks and Pooni prediction methodology. Cultivar Talismã was used as control. Considering the results of characterization and evaluation, five populations were selected because of good performance and potential to use indirect selection from molecular markers. Around 150 F<sub>4</sub> plants of each population were genetically identified by using RAPD and SCAR markers, previously identified by BIOAGRO program. Some F<sub>4</sub> plants from different segregate populations showed molecular marks connected to different alleles of that pathogens resistance. In some cases introgression of two or three resistance gene could be molecularly observed, and only artificial inoculation could difficult it. Aiming to valid the prediction methodology, two populations more promising and two less promising were chosen, based in the potential to provide lines superior to ‘Talismã’ pattern. From each population was extracted 53 families F<sub>3:5</sub> and then they were evaluated in field in a square lattice triple design. According to the results, Jinks and Pooni methodology was efficient in identifying segregate populations that are more promising and provided families of good performance, in order to extract superior lines.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil, apesar de maior produtor e consumidor de feijão da espécie *Phaseolus vulgaris* L., ainda apresenta uma das menores médias de produtividades mundiais, cerca de 808 kg.ha<sup>-1</sup> (Brasil, 2006). Um dos principais fatores que contribuem para essa baixa produtividade é a incidência de grande número de organismos fitopatogênicos, responsáveis por perdas significativas nas lavouras, chegando muitas vezes a inviabilizar a cultura em determinadas regiões.

Diversas estratégias têm sido utilizadas para o controle das doenças, destacando-se como uma das mais eficientes o uso de cultivares resistentes, principalmente por não onerar o custo de produção e reduzir os impactos negativos, pela aplicação exarcebada de agrotóxicos. As pesquisas procuram fornecer alternativas que possibilitem a redução dos custos de produção e, conseqüentemente, aumento da rentabilidade para o produtor. Nesse sentido, o desenvolvimento de cultivares com maior espectro de resistência é uma busca constante dos programas de melhoramento.

Os melhoristas, nas últimas duas décadas, têm dedicado muitos esforços visando desenvolver cultivares de feijão resistente aos principais patógenos. Doenças foliares como antracnose, ferrugem e mancha angular têm recebido uma atenção especial de vários programas de melhoramento, tanto no Brasil como no exterior. Apesar da grande contribuição dada pelos diversos programas, até o presente momento, ainda não se dispõem de cultivares de feijão de grãos do tipo carioca, o mais cultivado no país, com uma ampla resistência aos patógenos responsáveis por essas doenças. Isso se deve, em parte, à grande variabilidade patogênica desses fungos e à grande dificuldade de associar em um mesmo cultivar, pelos métodos convencionais, alelos de resistência a múltiplos patótipos de diferentes patógenos. Uma alternativa que já vem sendo utilizada com sucesso em alguns programas de melhoramento, consiste no uso de marcadores moleculares como ferramenta auxiliar no processo de seleção (Kelly e Miklas, 1998; Yu et al., 2000, Alzate-Marin et al., 2005).

O Programa de Melhoramento Genético do Feijoeiro do BIOAGRO/UFV (PMGF-BIOAGRO/UFV), desde 1992, tem realizado subprogramas de retrocruzamentos com o objetivo de piramidar genes de resistência aos patógenos do feijoeiro. Vários estudos foram conduzidos procurando compreender a herança da resistência a diferentes

patótipos de diferentes patógenos e, principalmente, identificar marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*) ligados a alelos de resistência a patótipos específicos dos fungos causadores da antracnose, ferrugem e mancha angular (Alzate-Marin et al., 2001a).

Os estudos desenvolvidos pelo PMGF-BIOAGRO/UFV permitiram a identificação de uma série de marcadores RAPD (OPY20<sub>830</sub>, OPAZ20<sub>940</sub>, OPF10<sub>1050</sub>, OPX11<sub>550</sub>, OPBA8<sub>560</sub>, OPH13<sub>490</sub>) e conversão desses em SCAR (SCARY20<sub>830</sub>, SCARAZ20<sub>940</sub>, SCARF10<sub>1050</sub>, SCARH13<sub>490</sub>, etc.) ligados a diferentes alelos de resistência a *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaeoisariopsis griseola* e *Uromyces appendiculatus*, os quais foram utilizados para auxiliar na seleção para resistência a tais patógenos (Carvalho et al., 1998; Arruda et al., 2000; Alzate-Marin et al., 2000; Faleiro et al., 2003; Ragagnin et al., 2003). Assim foram desenvolvidas várias isolinhas portadoras de alelos específicos de resistência, utilizando como genitor recorrente a cultivar Rudá, de grãos do tipo carioca. Posteriormente, foram realizados intercruzamentos entre linhagens homozigotas contendo separadamente os alelos *Co-4*, *Co-6*, *Co-10*, *Phg-1* e *Ur-ON*, possibilitando a obtenção de isolinhas Rudá, portadoras de até cinco alelos de resistência (Rudá-R) (Ragagnin, 2004).

Considerando a grande demanda por cultivares de feijoeiro resistente a patógenos, uma estratégia pertinente seria a utilização dessa isolinha (Rudá-R) como fonte de resistência, em um programa de melhoramento convencional assistido por marcadores moleculares. Sabendo-se da existência de várias cultivares comerciais com tipo de grão carioca passíveis de serem utilizadas em cruzamentos, a etapa seguinte à realização das hibridações seria a identificação das populações mais promissoras, com vistas à extração de linhagens superiores. Nesse contexto, a população segregante considerada ideal seria aquela que associa média alta e suficiente variância genética de modo a obter sucesso com a seleção.

Com o propósito de avaliar o potencial de populações segregantes no melhoramento de plantas autógamas, alguns trabalhos têm sido desenvolvidos (Singh e Urrea, 1995; Oliveira et al., 1996; Santos et al., 2001; Carneiro, 2002). Uma metodologia promissora é a apresentada por Jinks e Pooni (1976), que possibilita prever o potencial de uma dada população em gerar linhagens superiores a um determinado padrão na geração  $F_{\infty}$ , utilizando para isso estimativas de parâmetros genéticos de média e variância obtidas nas gerações iniciais ( $F_2$  ou  $F_3$ ). Dessa forma, essa metodologia torna possível o descarte de populações pouco promissoras, logo no

início do programa, tornando-o mais eficiente. A exigência do mercado consumidor brasileiro por cultivares com grãos tipo carioca reduz muito a fonte de germoplasma a ser utilizada, limitando a variabilidade genética disponível aos programas. Portanto, a variância em relação ao caráter em apreço é, além da média, uma importante propriedade de uma população ou conjunto de indivíduos a ser considerada no estudo de caracteres quantitativos (Cruz, 2005).

## 2. OBJETIVOS

O principal objetivo deste trabalho foi desenvolver linhagens de feijão do tipo carioca resistentes a *C. lindemuthianum*, *U. appendiculatus* e *P. griseola* e com características agronômicas desejáveis.

Os objetivos específicos foram:

- a. Caracterização fenotípica de 31 linhagens elites de feijão do tipo carioca, quanto à reação a diferentes patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum*, *Uromyces appendiculatus* e *Phaeoisariopsis griseola*
- b. Caracterização molecular de 31 linhagens elites de feijão do tipo carioca quanto aos marcadores de alelos de resistência a patógenos, previamente identificados pelo programa de melhoramento do feijoeiro do BIOAGRO/UFV;
- c. Identificação de populações segregantes de feijoeiro promissoras com vistas à extração de linhagens superiores;
- d. Identificação de plantas F<sub>4</sub> resistentes aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular por meio de marcadores moleculares RAPD e SCAR;
- e. Avaliação da metodologia de Jinks e Pooni (1976) como alternativa para escolha de populações segregantes no melhoramento genético do feijoeiro.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Evolução do melhoramento do feijão tipo “carioca” no Brasil

A década de 70 foi marcante, quando os maiores esforços em melhoramento do feijoeiro aconteceram. Nesta época, foi criado o Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (Embrapa Arroz e Feijão) e, também, estabeleceu-se a grande maioria dos programas de desenvolvimento de linhagens. Neste mesmo período o programa do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), produziu a primeira cultivar de feijão do tipo carioca, denominada de ‘Carioca’, lançada em 1970 (Almeida et al., 1971). Essa cultivar, 30% mais produtiva do que os outros tipos de feijão na época, revolucionou o cultivo no país com profundas alterações nos padrões de grãos produzidos e consumidos no Brasil, tomando a dianteira na preferência dos brasileiros.

A cultivar Carioca foi obtida a partir de uma planta selecionada por um agricultor no município de Palmital, em São Paulo, o qual ficara bem impressionado com o seu potencial produtivo (A revolução..., 2000). Existem duas versões sobre a sua origem: uma relacionada ao processo de mutação genética, e a outra baseada na ocorrência de cruzamentos naturais. A mais aceita entre os melhoristas é a que o feijão ‘Carioca’ tenha surgido por mutações genéticas ocorridas nas variedades cultivadas daquela época. O nome fantasia ‘Carioca’ é uma alusão aos desenhos curvilíneos das calçadas da praia de Copacabana, no Rio de Janeiro. Os grãos possuem cor de fundo bege com rajas marrons, apresentando variações de tonalidades, peso de 100 grãos, tamanho e formato.

Os dados acerca da produtividade e da resistência da ‘Carioca’ eram animadores, em comparação às cultivares Rosinha, Bico-de-ouro, Mulatinho, Chumbinho e Jalo, as mais cultivadas naquela época. Somente no Estado de São Paulo, a produtividade saiu do patamar de 490 kg ha<sup>-1</sup> para alcançar 1.177 kg ha<sup>-1</sup> no período compreendido entre 1970 a 1998, atingindo um ganho de 140% em rendimento de grãos (A revolução..., 2000). Esse aumento de produtividade também é reflexo da adoção de novas tecnologias que surgiram com a Revolução Verde, portanto, não sendo exclusividade do melhoramento genético. Em Minas Gerais, a ‘Carioca’ foi avaliada a partir de 1969, destacando-se em quase todos os experimentos. Após 1975, sua adoção foi rápida no Estado, bem como em quase todo o País. Atualmente, feijões do grupo

Carioca representam em torno de 70% do total de feijão consumido no Brasil (Embrapa, 2006).

Pela sua rápida utilização pelos programas de melhoramento genético do feijão no país, além do seu cultivo em larga escala, o feijão do grupo Carioca, desde sua adoção até início da década de 90, ficou mais vulnerável a fatores bióticos e abióticos reduzindo sobremaneira sua produtividade. No caso dos programas de melhoramento, houve uma expressiva redução da base genética das populações segregantes avaliadas para extração de linhagens, pois os materiais com tipo de grão carioca participavam da maioria das hibridações.

Dentre os principais programas de melhoramento de feijão no país, estão os conduzidos pela Embrapa Arroz e Feijão, nas Universidades Federais de Viçosa e de Lavras, no Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), na Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), na Embrapa Clima Temperado, na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S. A. (EPAGRI), na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) (Vieira et al., 1999), e na FT Pesquisa e Sementes, esta última como única empresa privada do setor.

Todos esses programas têm obtido, nos últimos anos, inúmeras cultivares com tipo de grão carioca, a maioria com vantagens em termos de produtividade e resistência às doenças, em relação a cultivar carioca original. Entretanto, a aceitação de algumas delas foi baixa, fato que culminou na inexistência dessas cultivares no mercado após alguns anos de cultivo, pois detalhes de cor, tamanho e forma do grão restringiram sua comercialização (Ramalho e Abreu, 2006). Atualmente essas características são imprescindíveis para uma rápida e duradoura aceitação de uma nova cultivar por agricultores e consumidores.

A ‘Carioca 80’, por exemplo, desenvolvida pelo IAC, associou bom potencial produtivo e o tipo de grão, exceto a cor amarela do halo em torno do hilo do grão, com a resistência a várias raças de *Colletotrichum lindemuthianum*. Todavia essa cultivar possuía um elevado tempo de cocção, problema associado à cor do halo e, assim, uma nova variedade que possua o halo amarelo dificilmente será adotado pelos produtores e consumidores (Ramalho e Abreu, 2006).

A cultivar Carioca MG, proveniente de hibridação realizada pela UFLA entre a ‘Carioca 80’ e a ‘Rio Tibagi’, recomendada para cultivo em 1992, possui porte menos prostrado, semelhante ao genitor Rio Tibagi, todavia não foi possível obter um tipo de

grão com a mesma tonalidade e tamanho do padrão Carioca (Ramalho et al., 2004). A cultivar Aporé é proveniente de cruzamento múltiplo envolvendo linhagens desenvolvidas pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Depois de cinco anos de avaliação, em diversos ambientes, ela foi recomendada, em 1992, pela Embrapa Arroz e Feijão para cultivo nas regiões produtoras dos Estados de GO, MS, MG e BA. Entretanto, essa variedade também apresentava o halo amarelo não tendo a preferência dos agricultores e consumidores.

Outra cultivar desenvolvida pelo CIAT e introduzida como linhagem A 285 pela Embrapa Arroz e Feijão foi a ‘Rudá’, oriunda do cruzamento entre a ‘Carioca’ e a ‘Rio Tibagi’. Após avaliação em vários ambientes, em GO/DF, MG, ES, MS e PR, ela foi recomendada para cultivo nesses Estados em 1992 (Embrapa, 2006). Apesar de apresentar um bom potencial produtivo, seus grãos são pequenos e com a tonalidade do fundo creme e rajas mais escuras, além de ser suscetível a maioria dos patótipos dos agentes causais da antracnose, ferrugem e mancha angular.

A cultivar Pérola é proveniente de seleção de linha pura na cultivar Aporé, realizada pela Embrapa Arroz e Feijão. Após avaliações em 57 ambientes, realizadas na BA, GO, DF, MT e MG, a referida linhagem foi recomendada para cultivo nesses Estados em 1994. Quando comparada às demais cultivares do grupo carioca, esta cultivar produz grãos maiores, o que lhes confere excelente aspecto visual. Além disso, apresenta cor do grão bege clara com rajas claras, característica que lhe confere maior tempo de armazenamento e prateleira. Apesar de todas as suas vantagens perante as demais cultivares do grupo ‘Carioca’, a cultivar Pérola apresenta reações de suscetibilidade de moderada à alta a muitos patótipos dos fungos causadores da antracnose, ferrugem e mancha angular.

Diante dos relatos feitos, percebe-se que o melhoramento de plantas deve ser realizado por etapas, na tentativa de, ao final do processo, obter linhagens e/ou cultivares que associem diversas características agronômicas favoráveis. Uma boa opção é promover a seleção recorrente, ou seja, ciclos sucessivos de seleção precedidos pelo intercruzamento das melhores famílias.

Pensando nisso, o programa de melhoramento de feijão da UFLA iniciou um programa de seleção recorrente em 1990. A população base foi obtida pelo intercruzamento de dez linhagens fontes de caracteres de interesse. Após o terceiro ciclo seletivo foi identificada uma linhagem que associou grãos de padrão comercial carioca,

resistência aos patótipos 65 e 89 de *C. lindemuthianum*, boa produtividade e maior precocidade que a ‘Pérola’.

Outra opção de cultivar de feijão do grupo ‘Carioca’ disponível é a BRS Requite, lançada em 2003. Esta originou-se do cruzamento Carioca MG // POT 94 / AN910523. Após 29 ensaios regionais, atualmente denominados de ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU), nos Estados de GO, DF, MS, MT e MG, ela mostrou superioridade de 8,4% em rendimento quando comparada com a média das testemunhas Pérola e IAPAR 81. A BRS Requite possui excelentes qualidades culinárias, com a vantagem de manter a coloração clara do grão por um período de tempo maior (Faria et al., 2003). Entretanto, essa cultivar é suscetível à ferrugem, crestamento bacteriano comum, mancha angular e mosaico dourado.

Em uma parceria entre a Embrapa Arroz e Feijão e o CIAT, foi desenvolvida a cultivar BRS Horizonte (Melo et al., 2004). Apesar dela não ter apresentado superioridade em produtividade, na média de 33 ensaios de VCU realizados nos Estados de GO, DF, SC e PR, quando comparada à ‘Pérola’ e à ‘IAPAR 81’, ela possui vantagens pelo porte ereto e boa resistência ao acamamento, permitindo realizar a colheita mecanizada. Além disso, possui grãos do tipo carioca que atendem às exigências do mercado e maior teor de proteína em relação à ‘Pérola’ (Melo et al., 2004).

O programa de melhoramento do feijoeiro do BIOAGRO/UFV tem conduzido subprogramas de retrocruzamento assistido por marcadores moleculares. Em um desses, foi obtida a linhagem Vi 4899 proveniente do cruzamento entre as cultivares Rudá e Ouro Negro. Na média de 16 ensaios regionais (VCU) na região sul do Brasil, essa linhagem mostrou superioridade de 13% em produtividade de grãos, quando comparada à média das testemunhas, ‘Carioca’ e ‘Pérola’. Além disso, apresentou reação de incompatibilidade a dez patótipos de *U. appendiculatus* e 17 de *C. lindemuthianum* e com um teor de proteína superior à ‘Pérola’. Essa linhagem foi indicada, em 2005, para cultivo nos três Estados do sul do país, com o nome fantasia de BRSMG Pioneiro (Moreira et al., 2005).

### **3.2. Alternativas para seleção de populações segregantes**

O sucesso de um programa de melhoramento utilizando a hibridação depende da eficiência na escolha dos genitores e/ou das populações segregantes. Entre outros fatores,

essa escolha depende dos caracteres a serem melhorados, do tipo de herança e da fonte de germoplasma disponível (Fehr, 1987). Geralmente, os cruzamentos são feitos entre genitores cujos fenótipos são complementares e necessários para contornar os problemas de uma determinada região.

A escolha de genitores é facilitada quando o caráter a ser melhorado é de herança simples, isto é, controlado por poucos genes e pouco influenciado pelo ambiente. Assim, basta ter um dos genitores com boa adaptação e o outro portador do alelo de interesse. Contudo, quando se trata de caracteres de herança complexa, como a produtividade de grãos, a escolha de genitores é dificultada, pois estes devem ser escolhidos de modo a gerar populações segregantes que associem média alta e grande variabilidade genética (Ramalho et al., 1993; Santos, 2000). Nesse caso, alguns procedimentos podem auxiliar o melhorista, podendo ser separados em duas categorias (Baenziger & Peterson, 1991; Abreu, 1997).

A primeira envolve procedimentos usando informações dos pais, como por exemplo, desempenho “per se” dos pais (média dos experimentos de avaliação de cultivares), coeficiente de parentesco, análises multivariadas e marcadores moleculares para estimar a divergência genética. Na outra categoria usa-se informação sobre o comportamento das progênes oriundas dos cruzamentos, como os cruzamentos dialélicos, estimativa de  $m+a$  e  $d$  e a metodologia de Jinks e Pooni, 1976.

Dentre as metodologias que avaliam o desempenho dos pais, a mais empregada é a própria média do caráter em questão. Porém, esse método tem como desvantagem a impossibilidade de antever a variabilidade genética gerada no cruzamento, pois o fato de dois pais apresentarem média alta não implica que o híbrido entre eles irá gerar uma população segregante com variabilidade satisfatória para se obter sucesso com a seleção (Ramalho et al., 1993).

A avaliação do potencial de um cruzamento pelo coeficiente de parentesco tem sido realizada em algumas ocasiões (Toledo, 1992; Gizlice et al., 1993). Esse método considera a genealogia dos materiais a serem utilizados como genitores e o fato dos genótipos com menor grau de parentesco possuírem maior divergência genética. Entretanto, o emprego do coeficiente de parentesco, na maioria das vezes, é impossibilitado por falta de registro da genealogia dos genitores ou das populações de interesse. Este fato tornou-se mais agravante com a aprovação da Lei nº 9.456 (Brasil, 1997) referente à proteção de cultivares.

Estudo da divergência genética, por meio de técnicas multivariadas, tem-se difundido entre os melhoristas. Entre essas técnicas tem-se a análise de variância

multivariada, as variáveis canônicas, os componentes principais e a análise de agrupamento baseada em medidas de similaridade ou dissimilaridade (Cruz e Regazzi, 2001). Sua principal limitação é que as características agro-morfológicas, normalmente avaliadas, são altamente influenciadas pelo ambiente. E ainda o simples fato de dois genitores serem divergentes não implica em superioridade de seus híbridos.

No caso do feijoeiro, a divergência genética tem sido utilizada para agrupar o germoplasma existente em grupos gênicos. Singh et al. (1991), avaliando um grande número de linhagens, conseguiram separar os genótipos nos grupos mesoamericano e andino, bem como em diferentes raças. Baseado nessas informações, vários trabalhos têm demonstrado que a chance de se obter sucesso em um programa de melhoramento do feijoeiro é restrita quando as hibridações são realizadas entre cultivares pertencentes à mesma raça ou grupos gênicos (Singh e Urrea, 1995; Abreu et al., 1999). Contudo, populações provenientes de genitores de grupos gênicos diferentes nem sempre são adaptadas, possuindo fenótipos indesejáveis, o que dificulta a seleção de linhagens promissoras. Assim, dificilmente uma maior frequência de locos segregando oriundos de uma maior divergência pode compensar a má adaptação dos genitores (Abreu et al. 1999).

Dentre os métodos de escolha dos genitores em função do desempenho de suas progênes, os cruzamentos dialélicos têm sido empregados em várias espécies, principalmente nas alógamas. Contudo, existem críticas sobre a validade das conclusões obtidas a partir da análise dos dados.

Nas espécies autógamas, uma das principais críticas se refere à suposição de que os parentais de um dialelo possam representar uma amostra de uma população para a qual as conclusões são extrapoladas. Nessas espécies, o que geralmente ocorre é a escolha dos parentais em função das características que o melhorista busca recombinar. Assim, não é válido proceder às estimativas de parâmetros genéticos, tais como variâncias, herdabilidade e grau médio de dominância, porque não se dispõe de uma população de referência para essas estimativas (Ramalho et al., 1993). Além disso, o dialelo possui como principal limitação o trabalho necessário na realização das hibridações, principalmente quando está envolvido um grande número de genitores e se trabalha com espécies em que os cruzamentos artificiais são difíceis, impossibilitando a obtenção de número suficiente de sementes híbridas por polinização, como é o caso da cultura do feijoeiro. E ainda não permite obter informações sobre média e variabilidade dentro das populações segregantes, simultaneamente, quando predomina o efeito aditivo dos genes.

Uma alternativa que pode ser empregada na escolha de populações segregantes é a estimativa de  $m+a$  e  $d$  (Vencovsky, 1987). Essa estimativa corresponde à média geral mais o somatório da contribuição dos locos em homozigose nos genitores, em relação a essa média. Dessa forma, uma população com maior estimativa de  $m+a$  possui, em relação à outra, maior frequência de locos com os alelos favoráveis em homozigose.

Por outro lado, a estimativa de  $m+a$  também não informa sobre a variabilidade a ser liberada pelas populações segregantes, embora permita identificar aquelas com maior frequência de alelos favoráveis. Outra limitação dessa metodologia é referente a necessidade de se avaliar as populações segregantes, juntamente com os respectivos pais em pelo menos duas gerações seguidas ( $F_1$  e  $F_2$  ou  $F_2$  e  $F_3$ ). Essa estimativa tem sido utilizada em algumas oportunidades na avaliação do potencial de populações de feijoeiro visando à extração de linhagens (Singh e Urrea, 1995; Oliveira et al., 1996; Abreu et al., 2002; Carneiro, 2002).

Uma metodologia que tem ganhado importância, principalmente no melhoramento de plantas autógamas, é o método de Jinks e Pooni (1976). Sua eficiência tem sido avaliada em várias espécies autógamas (Otubo et al., 1996; Melo et al., 1997; Triller, 1994; Toledo, 1986; Snape, 1982; Santos et al., 2001; Abreu et al., 2002; Oliveira et al., 2003). Esse método tem a vantagem de permitir predizer o potencial de um dado cruzamento nas gerações iniciais estimando parâmetros genéticos de média e variância, o qual permite a análise detalhada da estrutura e potencial genético do material avaliado. Dessa forma, possibilita o descarte de populações segregantes pouco promissoras logo no início do programa, com sensível redução de tempo e recursos. Para o seu emprego basta tomar dados de produção por planta dentro de populações segregantes nas primeiras gerações de autofecundação ( $F_2$  ou  $F_3$ ). Além disso, considera-se que a média da geração  $F_2$  ou  $F_3$  é igual à média da população na geração  $F_\infty$ . Vale ressaltar que esta pressuposição é válida quando não se observa a ocorrência de efeitos de dominância na determinação do caráter de interesse.

Um dos primeiros trabalhos evidenciando a eficiência da metodologia de Jinks e Pooni (1976), foi realizado por Triller e Toledo (1996), com a cultura da soja. Verificou-se que a predição do potencial genético de cruzamentos para a extração de linhas puras transgressivas por meio da média e variância dos pais e da geração  $F_3$  é de alta eficiência em características com herdabilidade de média a alta. Tem boas possibilidades de sucesso em características como produção de grãos, de moderada a baixa herdabilidade, quando cuidados para diminuir a influência da interação genótipos x ambientes são tomados.

Santos et al. (2001) avaliaram 23 populações segregantes de arroz de terras altas, em dois locais em Minas Gerais, em três épocas de semeadura. Os autores observaram que as melhores famílias foram originadas das melhores populações segregantes indicadas pelo método de Jinks e Pooni (1976), comprovando a eficiência da seleção precoce por este método.

Na cultura do feijoeiro, Abreu et al. (2002) avaliaram quatro populações segregantes de feijão nas gerações  $F_1$  e  $F_2$  juntamente com os genitores, obtendo estimativas dos componentes de média e de variância. Observaram boa concordância da porcentagem de linhagens superiores a um determinado padrão, na geração  $F_{5:7}$  e a probabilidade estimada pela metodologia proposta por Jinks e Pooni (1976), evidenciando o potencial desta metodologia na predição precoce de populações segregantes de feijão. As estimativas apresentaram correlação positiva com as estimativas do componente de média  $m+a$ .

A coerência das estimativas de probabilidade pela metodologia de Jinks e Pooni (1976), na geração  $F_2$ , com as estimativas do componente  $m+a$  e  $d$  obtido na avaliação simultânea das gerações  $F_2$  e  $F_3$  e a avaliação das famílias  $F_{2:4}$ ,  $F_{2:5}$  e  $F_{4:6}$  de feijoeiro em dois locais em Minas Gerais foi comprovado por Carneiro (2002).

Oliveira et al. (2003) avaliaram 40 populações segregantes de feijão do grupo preto, com vistas à identificação das mais promissoras para extração de linhagens. Observaram que a média por si só não é um bom preditor do potencial das populações segregantes promissoras, devendo-se associar, dessa forma, a variância genética dessas.

### **3.3. Principais doenças foliares do feijoeiro, variabilidade patogênica, fontes de resistência e controle genético da resistência**

#### **3.3.1. Antracnose**

A antracnose do feijoeiro-comum apresenta ampla distribuição no Brasil, especialmente nas regiões sul e sudeste e em áreas serranas onde as temperaturas moderadas favorecem o seu desenvolvimento. O agente causal incitador da antracnose do feijoeiro, *Colletotrichum lindemuthianum*, apresenta grande diversidade e muitas raças já foram identificadas no Brasil e no mundo. Trabalhos recentes indicam que essa diversidade é resultado, em grande parte, de uma co-evolução patógeno-hospedeiro

(Pastor-Corrales et al., 1994; Pastor-Corrales, 1996; Alzate-Marin et al., 1999a). Portanto, espera-se que para cada região produtora ocorram raças associadas com as variedades plantadas.

Atualmente, o critério utilizado para a denominação de raças de *C. lindemuthianum* tem como referência o *sistema binário*, proposto por Habgood (1970) e aprovado no *Primer Taller de Antracnosis en América Latina* (Pastor-Corrales, 1992). Utilizando esse novo procedimento de identificação de raças, Rava et al. (1994) avaliaram 118 isolados provenientes de 18 estados do Brasil e identificaram 25 raças pertencentes aos grupos Alfa, Delta, Gama, Mexicano I, Mexicano II e Brasileiro I. O grupo Alfa apresentou a maior frequência de isolados (53,39%) e, dentro dele, os isolados compatíveis com o gene de resistência *Are* (raças 73, 89 e 585) representaram 68,25% do grupo e 36,44% do número total de isolados. As raças 65 e 87 apresentaram a maior distribuição geográfica.

Mais recentemente, Andrade et al. (1999), avaliando 91 isolados de oito estados do Brasil, coletados no período de 1992 a 1997, identificaram 19 raças. Apesar da amostragem reduzida dos isolados, foram identificados 9 raças que não haviam sido constatadas no levantamento anterior. Novamente a raça 73 foi a mais freqüente e em segundo lugar apareceu a raça 81, seguida da 65, 72 e 89.

Em Minas Gerais, as raças 65, 73, 81 e 89 são as observadas com maior frequência em condições de campo (Rava et al., 1994; Alzate-Marin e Sartorato, 2004). Cultivares plantadas no Estado, como Carioca, Pérola e Rudá, são suscetíveis a essas raças (Lanza et al., 1997).

Mecanismos de resistência a *C. lindemuthianum* têm sido identificados no feijoeiro, demonstrando que níveis de resistência genéticos extremamente altos estão sob o controle de um ou poucos genes de efeito principal (Pastor-Corrales et al., 1994a; Young et al., 1998).

Diversas linhagens de feijoeiro foram avaliadas para resistência a várias raças de *C. lindemuthianum* no CIAT. Entre elas, as linhagens TO, TU, AB 136 e G 2333, selecionadas entre as doze cultivares diferenciadoras internacionais para antracnose, são as mais resistentes (Pastor-Corrales, 1992). No Brasil, Rava et al. (1994), relataram que as linhagens AB136 e G2333 mostraram resistência a todos os isolados de *C. lindemuthianum* coletados em várias regiões produtoras de feijão. Também nesse trabalho, a linhagem TO apresentou resistência a 22 das 25 raças, sendo suplantada pelas

raças 339, 343 e 453. ‘Cornell 49-242’ apresentou resistência a 17 das 25 raças, possuindo reação de compatibilidade às raças 8, 72, 73, 75, 79, 89, 95 e 585.

Young e Kelly (1996a) propuseram uma nova nomenclatura para designar os alelos de resistência à *C. lindemuthianum*, usando o símbolo *Co* de *Colletotrichum*. Foram classificados, até o presente momento, os seguintes alelos: *Co-1 (A)*, encontrado na cultivar andina Michigan Dark Red Kidney; *Co-2 (Are)*, encontrado em diferentes cultivares mesoamericanas como a Cornell 49-242; *Co-3 (Mex. 1)*, encontrado na cultivar mesoamericana México 222; *Co-3<sup>2</sup>*, um alelo alternativo para o loco *Co-3*, encontrado na cultivar mesoamericana México 227; *Co-4 (Mex. 2)*, encontrado na cultivar diferenciadora TO (Fouilloux, 1976); *Co-4<sup>2</sup>*, um outro alelo do loco *Co-4*, encontrado na cultivar G2333 e SEL1308 (linhagem melhorada derivada da cultivar G2333) (Fouilloux, 1976; Young et al., 1998); *Co-4<sup>3</sup>* e *Co-5*, encontrado nas cultivares mesoamericanas PI 207.230 e G2333 (Alzate-Marin et al., 2002); *Co-6*, encontrado na cultivar diferenciadora mesoamericana AB136 (Schwartz et al., 1982); *Co-7*, encontrado na cultivar diferenciadora mesoamericana G2333 (Pastor-Corrales et al., 1994a); *Co-8*, encontrado na cultivar AB136 (Alzate-Marin et al., 2001c) e *Co-10*, encontrado na cultivar Ouro Negro (Alzate-Marin et al., 2003).

De acordo com Arruda (1998) a resistência conferida pela cultivar TO à raça 65 se deve a um único alelo dominante (*Co-4*). O mesmo foi observado em relação à resistência da cultivar AB136 às raças 64 e 89 (Alzate-Marin et al., 1997a,b); os autores relataram que para a raça 73, dois alelos, um dominante e um recessivo, controlam a resistência.

A respeito da resistência conferida pela cultivar G 2333, os resultados obtidos por Alzate-Marin et al. (2001b) demonstraram que dois genes independentes com alelos dominantes são responsáveis pela resistência às raças 73 e 89. Resultados semelhantes já haviam sido observados por Pastor-Corrales et al. (1994b), em relação à raça 521. Young et al. (1998) propuseram três alelos de resistência para a cultivar G2333, sendo o *Co-4<sup>2</sup>*, um outro alelo para o loco *Co-4 (Mex. 2)* da cultivar diferenciadora TO; o alelo *Co-5 (Mex. 3)*, encontrado nas cultivares TU e SEL1360; e o alelo *Co-7*, identificado por Pastor-Corrales et al. (1994a). É importante salientar que a linhagem G2333 é uma importante fonte de resistência tanto para as raças 73 e 89, que são encontradas com frequência em Minas Gerais, bem como para todas as raças relatadas no Brasil e no mundo (Pastor-Corrales et al., 1994a; Melotto e Kelly, 2001).

Praticamente todos os alelos de resistência a *C. lindemuthianum*, relatados anteriormente, possuem marcadores moleculares estreitamente associados a eles (Young e Kelly, 1997; Young et al., 1998; Silva, 2000; Alzate-Marin et al., 2001a,b).

### **3.3.2. Mancha angular**

A mancha angular, cujo agente causal é o fungo *Phaeoisariopsis griseola*, é de ocorrência generalizada em praticamente todas as regiões produtoras de feijão do Brasil, podendo ocasionar perdas na produtividade de grãos que variam de 7 a 70%, dependendo da cultivar e da época de cultivo (Sartorato e Rava, 1992).

A variabilidade patogênica de *P. griseola* tem sido estudada por vários autores, sugerindo grande variabilidade dos isolados deste patógeno em diferentes regiões; mais de 50 raças já foram identificadas na América Latina (Pastor-Corrales e Jara, 1995; Pastor-Corrales e Paula Júnior, 1996; Nietsche et al., 1999; Aparício, 1998; Sartorato, 2001; Nietsche et al., 2001; Sartorato e Alzate-Marin, 2004).

Em 1995, Pastor-Corrales e Jara efetuaram trabalhos de grande importância sobre a diversidade genética de *P. griseola* e sua co-evolução com o feijoeiro na América Latina. Os resultados obtidos com esses trabalhos confirmam a grande diversidade de *P. griseola* na América Latina e a separação dos fenótipos de virulência em dois grupos; o primeiro deles denominado de isolados Andinos, pelo fato de atacarem somente as cultivares de origem Andina, enquanto que o segundo grupo foi denominado de isolados Mesoamericanos por atacarem tanto cultivares Andinas como Mesoamericanas. Os resultados obtidos sugeriram ainda que os isolados andinos tiveram uma evolução paralela com variedades de origem Andina, de grãos grandes, enquanto que os isolados Mesoamericanos tiveram uma evolução concomitantemente com variedades de grão médio e pequeno, de origem Mesoamericana.

Pastor-Corrales e Paula Júnior (1996), avaliando 27 isolados de *P. griseola*, provenientes do Brasil, verificaram, além da grande variabilidade, que todos pertenciam ao acervo genético Mesoamericano. O mesmo foi observado por Sartorato (2001), quando avaliou uma coleção de 51 isolados provenientes de campos de produção dos estados de Santa Catarina, Paraná, Goiás, Minas Gerais e Paraíba. Neste estudo, os isolados foram agrupados em sete raças, todas pertencentes ao grupo Mesoamericano. Entre os patótipos identificados, o 63.31 foi que apresentou maior distribuição geográfica e o 63.63 (39,2% dos isolados) foi o mais virulento, suplantando a resistência

de todas as cultivares diferenciadoras. Isso foi também observado em relação à AND 277, G5686 e MAR2 tidas como boas fontes de resistência (Nietsche et al., 2000b).

Nietsche et al. (1997), estudando a variabilidade de 30 isolados de *P. griseola* provenientes de cinco regiões produtoras de feijão de Minas Gerais, identificaram 13 patótipos, o que demonstra expressiva variabilidade do fungo no Estado. Os principais patótipos encontrados foram, 31.21, 31.23, 63.23, 63.39 e 63.55, sendo que o 63.23 foi o mais freqüente, estando amplamente distribuído nas regiões estudadas. O fenótipo de virulência indicou que os patótipos estudados pertencem ao grupo Mesoamericano, o que foi confirmado quando os 30 isolados foram comparados com padrões Andinos e Mesoamericanos, utilizando-se marcadores RAPD. Em 2001, os mesmos autores, avaliando mais 30 isolados coletados no Estado, caracterizaram 16 patótipos, sendo que 10 não haviam ainda sido caracterizados. Os patótipos de maior predominância encontrados foram 63.31, 63.39 e 63.23 .

O trabalho publicado por Aparício (1998), sobre variabilidade genética de *P. griseola* no Brasil, confirma a grande variabilidade deste fungo já reportada por vários autores. O autor avaliou 66 isolados monospóricos provenientes de oito estados brasileiros (Minas Gerais, Santa Catarina, Paraná, Goiás, Espírito Santo, Rondônia, Pernambuco e Paraíba), sendo caracterizadas 30 raças; as mais freqüentes foram 15.39, 31.23, 63.23 e 63.31.

A maioria das cultivares plantadas no Brasil são, em maior ou menor grau, suscetível à mancha angular, entretanto fontes de resistência são frequentemente relatadas. As linhagens México 54, AND 277, Cornell 49-242, MAR 2, G5686, BAT 332, CAL 143, Antioquia 8 e México 235 têm se destacado como importantes fontes de resistência para uso nos programas de melhoramento do Brasil (Nietsche et al., 1998; Aparício, 1998; Sartorato, 2001; Oliveira et al., 2004).

Pelos estudos já realizados, a resistência do feijoeiro a *P. griseola* é controlada por um, dois ou três genes, tendo sido considerada dominante em alguns casos e recessiva em outros. Cardona-Alvarez (1962) estudando o cruzamento da cultivar Algarrobo e da linhagem 223, ambas suscetíveis, com a linhagem resistente 258, observou uma segregação de 3 plantas resistentes para 1 suscetível, indicando portanto resistência monogênica e dominante.

No Brasil, Santos Filho et al. (1976) constataram que a resistência era condicionada por um alelo recessivo a partir do cruzamento entre as cultivares Caraota 260 (resistente) e Venezuela 350 (susceptível). Resultado semelhante foi obtido por

Singh e Saini (1980), na Colômbia. Trabalhos têm demonstrado que a resistência das cultivares AND 277, MAR-2, Mexico 54, Cornell 49-242 e BAT 332 a *P. griseola*, é devida a um alelo dominante (Carvalho et al., 1998; Ferreira et al., 1999a; Nietsche et al., 2000a; Sartorato et al., 2000; Caixeta et al., 2003).

Os principais genes de resistência à *P. griseola*, até o momento, caracterizados, são derivados das cultivares AND 277 (*Phg-1*) (Carvalho et al., 1998); México 54 (*Phg-2*) (Sartorato et al., 1999); México 54 (*Phg-2*, *Phg-5* e *Phg-6*), Cornell 49-242 (*Phg-3*), MAR 2 (*Phg-4* e *Phg-5*<sup>2</sup>) e AND 277 (*Phg-2*<sup>2</sup>, *Phg-3*<sup>2</sup> e *Phg-4*<sup>2</sup>) (Caixeta et al., 2005).

### 3.3.3. Ferrugem

A ferrugem incitada pelo fungo *Uromyces appendiculatus* embora não seja uma doença de ocorrência generalizada no Brasil, em regiões e épocas de cultivo apropriadas ao desenvolvimento do fungo, pode ocasionar perdas significativas na produção, quando cultivares de feijoeiro suscetíveis são utilizadas pelos agricultores (Vieira, 1983). Temperaturas moderadas (17-22<sup>0</sup>C) e molhamento foliar durante períodos superiores a oito horas contínuas são condições que favorecem o progresso da doença (Silva, 1992). Assim, a partir de 1980, com o cultivo de feijão de inverno sob condições irrigadas, a ferrugem passou a ser uma preocupação a mais para os produtores.

*Uromyces appendiculatus* também apresenta ampla variabilidade patogênica e mais de 250 raças já foram identificadas no mundo (Stavelly e Pastor-Corrales, 1994). Mora et al. (1992) identificaram 53 raças fisiológicas em 80 isolados, oriundos de diferentes estados do Brasil, sendo que apenas quatro raças foram identificadas em mais de um Estado.

Embora se disponha de fontes de resistência a *U. appendiculatus*, o uso de resistência varietal é dificultado pela grande variabilidade do patógeno, o que reduz drasticamente a vida útil das variedades recomendadas (Vieira, 1983). No Brasil, algumas cultivares como Rico Pardo 896, Ouro Negro, Novo Jalo, Meia Noite, Ouro e Vermelho 2157 apresentaram resistência a campo (Vieira et al., 1992). Vale ressaltar que as cultivares Meia Noite e Ouro, colocadas entre as resistentes, mostraram-se altamente suscetíveis, segundo resultados obtidos por Faleiro et al. (1999).

De acordo com trabalhos desenvolvidos por Faleiro et al. (1999), a maioria das cultivares de feijão recomendadas para Minas Gerais, como Carioca, Pérola, Aporé e

Rudá, mostraram-se suscetíveis quando inoculadas com quatro raças de *U. appendiculatus*, predominantes nos municípios mineiros de Coimbra, Lavras, Lambarí e Patos de Minas. Entretanto, a cultivar Ouro Negro destacou-se, sendo praticamente imune às quatro raças. Os acessos utilizados no CIAT, como fontes de resistência à ferrugem, PI 151385, PI 151395, PI 151388 e PI 181395, também avaliados pelo autor, foram imunes a pelo menos uma das quatro raças testadas. O PI 181395 destacou-se como a melhor fonte de resistência à ferrugem, sendo imune a todas às quatro raças testadas.

Os alelos de resistência do feijoeiro à *U. appendiculatus* e as cultivares onde foram descritos segundo Basset (2004) são: *Ur-1* (B 1627); *Ur-2* (B 2090); *Ur-2<sup>2</sup>* (B 2055); *Ur-3* (Aurora, Equador 299, México 235, NEP2 e 51051); *Ur-4* (Early Gallatin, NEP-2); *Ur-3<sup>2</sup>* (PI 181996); *Ur-5* (México 309); *Ur-6* (Olate e Golden Gate Wax); *Ur-7* (GN 1140); *Ur-8* (U.S.#3); *Ur-9* (Pompadour Checa); *Ur-10* (Cape e Resisto) e *Ur-11* (PI 181996) (Kelly et al., 1995).

Linhagens de feijoeiro desenvolvidas pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), Beltsville e Maryland, liberadas nos últimos anos (Stavely et al., 1992, 1994 e 1997), apresentam diferentes alelos de resistência à ferrugem. Estas foram avaliadas, juntamente com a cultivar Ouro Negro, quanto à resistência a quatro raças de *U. appendiculatus*, identificadas por Faleiro et al. (1999) no estado de Minas Gerais (raças 45, 46, 49 e 52). Observou-se que os alelos de resistência, presentes nas linhagens norte-americanas são eficientes contra as quatro raças fisiológicas de *U. appendiculatus*. Esses resultados foram observados tanto em condições controladas quanto em condições de campo. A cultivar Ouro Negro foi também resistente às quatro raças, com um nível de resistência semelhante ao das melhores linhagens norte-americanas. Segundo Faleiro (2000), baseado em estudos preliminares de alelismo, a cultivar Ouro Negro apresenta um bloco gênico que confere resistência a várias raças de *U. appendiculatus*.

Estudos de herança têm mostrado o envolvimento de genes de efeito principal e genes de efeito secundário no controle genético da reação a *U. appendiculatus* (Faleiro, 1997). Entretanto, diferentes padrões de resistência específica a raças individuais ou patótipos têm sido identificados: um único alelo dominante (Stavely, 1984; Kolmer e Groth, 1984; Stavely e Pastor-Corrales, 1994), um único alelo recessivo (Zaiter, Coyne e Steadman, 1989), dois alelos dominantes complementares (Grafton et al., 1985), e dois alelos dominantes independentes (Grafton et al., 1985). Trabalhos realizados por Corrêa

(1999) e Faleiro (2000) indicaram que a resistência da cultivar Ouro Negro, às raças predominantes de *U. appendiculatus* no Estado de Minas Gerais, é conferida por um alelo dominante ou um bloco gênico dominante. Entretanto, os autores encontraram também evidências da existência de alelos de efeito menor envolvidos no controle genético de resistência da cultivar Ouro Negro.

### **3.4. Melhoramento visando resistência aos patógenos do feijoeiro**

Os programas de melhoramento do feijoeiro visando resistência aos patógenos têm explorado basicamente mecanismos de resistência de herança simples, ou seja, resistência vertical. A resistência genética de herança monogênica atrai os melhoristas porque é fácil de ser manipulada e pode ser rapidamente introgridida em materiais suscetíveis através de métodos simples, como o retrocruzamento. Entretanto, esse tipo de resistência pode ser mais facilmente suplantado, em virtude da grande variabilidade patogênica dos organismos causadores das doenças. Portanto é importante a atualização do conhecimento para, assim, mediante exploração da variabilidade genética existente na espécie, desenvolver novas cultivares resistentes. Esse procedimento, embora amplamente utilizado, faz com que as cultivares tenha um período de vida muito curto, dificultando assim o trabalho do melhorista.

O melhoramento visando resistência a patógenos pode ser acelerado usando seleção indireta (Miklas et al., 2006). Resistência a patógenos apresenta uma série de desafios diferentes daqueles envolvidos em outros caracteres agrônômicos. Uma das dificuldades no melhoramento para resistência a patógenos é estabelecer procedimentos adequados de avaliação. Muitas doenças, como as causadas por patógenos de solo, são difíceis de serem avaliadas, ocasionando erros de avaliação e, conseqüentemente, dificultando o melhoramento. A própria manutenção das raças de diferentes patógenos pode dificultar o processo de inoculação. Nessas situações, a seleção indireta pode ser extremamente útil.

O melhoramento visando à resistência durável a patógenos é um desafio para melhoristas e fitopatologistas. A piramidação de alelos de resistência tem sido sugerida como uma estratégia no melhoramento visando à resistência a patógenos que apresentam grande variabilidade (Nelson, 1978; Alzate-Marin et al., 2005). Essa estratégia constituiu em procedimento altamente eficiente no controle da ferrugem do

colmo do trigo no Canadá e Estado Unidos (Schafer e Roelfs, 1985). Aspectos semelhantes são observados no feijoeiro, com a linhagem G2333 utilizada como fonte de resistência à antracnose. Esta linhagem possui três alelos dominantes independentes, conferindo resistência a 380 isolados de *C. lindemuthianum* (Young e Kelly, 1996a).

Uma das grandes dificuldades para a piramidação de alelos de resistência a patógenos, utilizando os métodos convencionais de melhoramento, consiste na avaliação da presença dos alelos de resistência específicos, o que requer a realização de múltiplas inoculações em uma mesma população (Michelmore, 1995). Uma alternativa promissora consiste na seleção assistida pelos marcadores moleculares, o que permite analisar os indivíduos quanto à presença de um, dois ou mais alelos de resistência, sem a necessidade de inoculações sucessivas (Lawson et al., 1998; Kelly e Miklas, 1998, Costa, 2004; Arruda, 2005; Souza, 2005). Contudo, essa estratégia poderia ser mais bem explorada associada a um programa de melhoramento clássico, onde outros caracteres agronômicos de interesse pudessem ser também levados em consideração.

### **3.5. Marcadores moleculares no melhoramento do feijoeiro**

Com o aprimoramento das técnicas de marcação de DNA, vislumbra-se cada vez mais a incorporação de tais ferramentas nas diferentes etapas de um programa de melhoramento. Evidencia-se a utilização dos marcadores moleculares na organização de germoplasma (formação de coleção núcleo), na escolha de genitores em programas de cruzamentos, na identificação de grupos heteróticos, no auxílio a programas de retrocruzamentos, na marcação (etiquetagem) de genes específicos, no estabelecimento de filogenia, na construção de mapas genéticos saturados e em estudos de caracteres quantitativos (Santos, 1998; Milach, 2001; Borém, 2006).

Marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) ligados a alelos que condicionam resistência a patógenos em várias espécies de plantas têm sido identificados, o que permite a seleção de genótipos resistentes e possibilita a piramidação de alelos de resistência em cultivares suscetíveis (Michelmore et al., 1991; Carvalho, 1995; Lawson et al., 1998; Alzate-Marin, et al., 2001a). A seleção assistida por marcadores pode, também, ser utilizada durante o processo de autofecundação de linhagens e identificação de híbridos (Ferreira e Grattapaglia, 1998; Alzate-Marin et al., 1996; Melo, 2004).

Marcadores RAPD intimamente ligados a alelos de resistência a raças específicas de um patógeno têm se constituído efetivamente em metodologia viável para a seleção indireta visando resistência a doenças no feijoeiro (Haley et al., 1993; Haley et al., 1994; Johnson e Gepts, 1994; Johnson et al., 1995; Young e Kelly, 1996b; Kelly e Miklas, 1998; Castanheira et al., 1999; Yu et al., 2000; Alzate-Marin et al., 2001a; Miklas et al., 2006). Conforme relatado por vários autores, dezenas de marcadores RAPD ligados a alelos de resistência a patógenos do feijoeiro, envolvendo principalmente antracnose, mancha angular, ferrugem e mosaico comum, foram identificados (Kelly e Miklas, 1998; Alzate-Marin et al., 2001a; Miklas et al., 2006).

No Programa de Melhoramento do Feijoeiro do BIOAGRO/UFV foram identificados vários marcadores RAPD ligados aos genes de resistência à antracnose, ferrugem e mancha angular (Tabela 1).

Corrêa et al. (2000) identificaram os marcadores OPF10<sub>1050a</sub> e OPBA08<sub>560a</sub> ligados 6,9 e 6,0 cM de distância do gene de resistência à ferrugem, respectivamente, presentes na cultivar Ouro Negro. Também, na Ouro Negro, Faleiro et al. (2000) identificaram o marcador OPX11<sub>550a</sub> ligado ao mesmo gene de resistência à ferrugem (*Ur-ON*) a uma distância de 5,8 cM.

O grupo do BIOAGRO/UFV identificou os primeiros marcadores RAPD ligados a genes de resistência à mancha angular nas cultivares AND 277, México 54, MAR 2, Cornell 49-242 e BAT 332 (Carvalho et al., 1998; Sartorato et al., 1999; Ferreira et al., 1999b; Nietzsche et al., 2000a; Caixeta et al., 2003). Alzate-Marin et al. (2000) identificaram o marcador OPAZ20<sub>940a</sub> ligado a uma distância de 7,4 cM do gene de resistência *Co-6*, presente na cultivar AB 136. Arruda et al. (2000) identificaram na cultivar TO os marcadores OPY20<sub>830a</sub> e OPB03<sub>1800r</sub> ligados a distâncias de 0,0 e 3,8 cM do gene *Co-4*.

Vários desses marcadores foram convertidos em SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*). SCAR são fragmentos de DNA genômico localizados em um loco geneticamente definido, que são identificados por amplificação via PCR, utilizando-se um par de *primers* específicos (*Foward* e *Reverse*) (Ferreira e Grattapaglia, 1998; Caixeta et al., 2006). Segundo Paran e Michelmore (1993), por ser seqüência específica, os marcadores SCAR permitem uma maior reprodutibilidade dos dados entre diferentes laboratórios, apesar da redução do polimorfismo, em detrimento do RAPD. Na Tabela 2 são apresentados alguns marcadores SCAR desenvolvidos pelo grupo do BIOAGRO/UFV.

**TABELA 1** - Marcadores RAPD ligados a genes de resistência do feijoeiro à *C. lindemuthianum*, *U. appendiculatus* e *P. griseola*, identificados pelo Programa do BIOAGRO/UFV

Marcador <sup>1</sup>	Distância (cM)	Gene de resistência	Cultivar/Fonte	Referência
OPH13 <sub>490a</sub>	5,5	<i>Phg-1</i>	AND 277	Carvalho et al. (1998)
OPAZ04 <sub>560a</sub>	8,5	<i>Co-6</i>	AB 136	Alzate-Marin et al. (1999b)
OPAZ09 <sub>950r</sub>	20,4	<i>Co-6</i>	AB 136	Alzate-Marin et al. (1999b)
OPE04 <sub>500a</sub>	5,8	<i>Phg-?</i>	MAR 2	Ferreira et al. (1999b)
OPN02 <sub>890a</sub>	5,9	<i>Phg-2</i>	México 54	Sartorato et al. (1999)
OPAC14 <sub>2400a</sub>	6,6	<i>Phg-2</i>	México 54	Sartorato et al. (1999)
OPY20 <sub>830a</sub>	0,0	<i>Co-4</i>	TO	Arruda et al. (2000)
OPC08 <sub>900a</sub>	9,7	<i>Co-4</i>	TO	Arruda et al. (2000)
OPB03 <sub>1800r</sub>	3,8	<i>Co-4</i>	TO	Arruda et al. (2000)
OPAZ20 <sub>940a</sub>	7,8	<i>Co-6</i>	AB 136	Alzate-Marin et al. (2000)
OPF10 <sub>1050a</sub>	6,9	<i>Ur-ON e Co-10</i>	Ouro Negro	Corrêa et al. (2000)
OPBA08 <sub>560a</sub>	6,0	<i>Ur-ON</i>	Ouro Negro	Corrêa et al. (2000)
OPN02 <sub>890a</sub>	3,2	<i>Phg-2</i>	Cornell 49-242	Nietsche et al. (2000a)
OPE04 <sub>650a</sub>	12,5	<i>Phg-2</i>	Cornell 49-242	Nietsche et al. (2000a)
OPX11 <sub>550a</sub>	5,8	<i>Ur-ON</i>	Ouro Negro	Faleiro et al. (2000)
OPAA19 <sub>400a</sub>	10,0	<i>Phg-ON</i>	Ouro Negro	Corrêa et al. (2001)
OPM02 <sub>425a</sub>	5,6	<i>Phg-ON</i>	Ouro Negro	Corrêa et al. (2001)
OPAA07 <sub>950a</sub>	5,1	<i>Phg-?</i>	BAT 332	Caixeta et al. (2003)
OPAO12 <sub>950a</sub>	5,8	<i>Phg-?</i>	BAT 332	Caixeta et al. (2003)
OPBA16 <sub>669a</sub>	10,4	<i>Phg-ON</i>	Ouro Negro	Faleiro et al. (2003)

<sup>1</sup>a: acoplamento; r: repulsão

A utilidade de marcadores moleculares RAPD e SCAR em populações diferentes daquelas onde foram identificados vai depender, entre outros fatores, do grau de ligação entre o marcador e o gene de interesse e da similaridade genética entre os genitores utilizados nas diferentes populações. Normalmente, a identificação de marcadores moleculares e o desenvolvimento de variedades melhoradas têm envolvido diferentes populações e diferentes genitores, o que tem limitado bastante o impacto esperado do melhoramento assistido por marcadores (Tanksley e Nelson, 1996).

Yu et al. (2000) avaliaram a possibilidade de se utilizar, para seleção em outras populações, marcadores RAPD ligados à resistência ao crestamento-bacteriano comum em feijão, previamente mapeado na população PC50/XAN159. Os autores observaram que dois marcadores, previamente identificados em PC50/XAN159, foram polimórficos em populações envolvendo HR67, parental fonte de resistência ao crestamento-bacteriano comum derivado de XAN 159. Recentemente, Melo (2004) evidenciaram que os marcadores OPX11<sub>550a</sub> e SCARF10<sub>1050a</sub>, previamente identificados na população Ouro Negro/Rudá (Faleiro et al. 2003), também foram validados e eficientes na seleção

indireta quanto à resistência à patótipos de *C. lindemuthianum* e *U. appendiculatus* na população Ouro Negro/Pérola.

**TABELA 2** - Marcadores SCAR ligados a genes de resistência do feijoeiro à *C. lindemuthianum*, *U. appendiculatus* e *P. griseola*

Marcador*	Gene de resistência	Seqüência do <i>primer</i> (5' – 3')	Referência
SCARY20 <sub>830a</sub>	<i>Co-4</i>	AGCCGTGGAAGGTTGTCAT CCGTGGAAACAACACACAAT	Queiroz et al. (2004b)
SCARC08 <sub>910a</sub>	<i>Co-4</i>	AGAATGCCTTTAGCTGTTGG CAGAGAGGCTAGGCTTATCG	Queiroz et al. (2004b)
SCARAZ20 <sub>845a</sub>	<i>Co-6</i>	ACCCCTCATGCAGGTTTTTA CATAATCCATTCATGCTCACC	Queiroz et al. (2004b)
SCARAZ04 <sub>567a</sub>	<i>Co-6</i>	GGCTGTGCTGATTAATTCTGG TGCTCATTTTATAATGGAGAAAA	Queiroz et al. (2004b)
SCARAE19 <sub>890r</sub>	<i>Ur-11</i>	CAGTCCCTGACAACATAACACC CAGTCCCTAAAGTAGTTTGTCCCTA	Queiroz et al. (2004c)
SCARF10 <sub>1050a</sub>	<i>Co-10</i>	GGAAGCTTGGTGAGCAAGGA GGAAGCTTGGCTATGATGGT	Queiroz et al. (2004)
SCARBA08 <sub>560a</sub>	<i>Ur-ON</i>	CCACAGCCGACGGAGGAG GCCATGTTTTTTGTCCCC	Corrêa et al. (2000)
SCARBA16 <sub>560a</sub>	<i>Phg-ON</i>	TTCCACGTCTATTTTGCATCA CACGCATCACGCAGAACT	Queiroz et al. (2004a)
SCARH13 <sub>520a</sub>	<i>Phg-1</i>	GACGCCACACCCATTATGTT GCCACACAGATGGAGCTTTA	Queiroz et al. (2004a)
SCARN02 <sub>890a</sub>	<i>Phg-2</i>	ACCAGGGGCATTATGAACAG ACCAGGGGCAACATACTATG	Nietsche et al. (2000a)
SCARM02 <sub>460a</sub>	<i>Phg-ON</i>	CAACGCCTCATTAAATTGGA CGCCTCTAAACGGGAGAAAC	Queiroz et al. (2004a)
SCARAA19 <sub>650a</sub>	<i>Phg-ON</i>	TGAGGCGTGTCAATGGATATAA GAGGCGTGTGATAATTCTGG	Queiroz et al. (2004a)

\*a: acoplamento, r: repulsão

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A de F.B. **Predição do potencial genético de populações segregantes do feijoeiro utilizando genitores inter-raciais**. Tese (Doutorado) - Lavras: UFLA, 1997. 95p.

ABREU, A. de F.B.; RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; Selection potential for seed yield from intra- and inter-racial populations in common bean. **Euphytica**. 108: 121-127, 1999.

ABREU, A. de F.B.; RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos. Prediction of seed-yield potential of common bean populations. **Genetics and Molecular Biology**. 25: 323-327, 2002.

ALMEIDA, L.D'A. de; LEITÃO FILHO, H.F.; MIYASAKA, S. Características do feijão carioca, um novo cultivar. **Bragantia**. 30: XXXIII-XXXVIII, 1971.

ALZATE-MARIN, A.L.; ALMEIDA, K.S.; RAGAGNIN, V.A.; COSTA, M.R.; ARRUDA, K.M.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Identification of a recessive gene conferring resistance to anthracnose in common bean lines derived from differential cultivar AB 136. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. 44:117-118, 2001c.

ALZATE-MARIN, A.L.; ARRUDA, M.C.; CORREA, R.X.; NIETSCHKE, S.; CARVALHO, G. A.; FALEIRO, F.G.; SARTORATO, A.; FERREIRA, C.; BARROS, E. G.; MOREIRA M. A. Marcadores moleculares ligados a genes de resistência identificados no programa de melhoramento do feijoeiro do BIOAGRO/UFV. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1, 2001, Goiânia. **CD-Rom...**, Goiânia: SBMP, 2001a.

ALZATE-MARIN, A.L.; BAÍA, G.S.; MARTINS FILHO, S.; PAULA JÚNIOR; T.J.; SEDIYAMA, C.S.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Use of RAPD-PCR to identify true hybrid plants from crosses between closely related progenitors. **Brazilian Journal of Genetics**. 19: 621-623, 1996.

ALZATE-MARIN, A.L.; BAÍA, G.S.; PAULA JÚNIOR, T.J.; CARVALHO, G. A.; BARROS, E. G.; MOREIRA M. A. Inheritance of anthracnose resistance in common bean differential cultivar AB 136. **Plant Disease**. 81: 996-998, 1997a.

ALZATE-MARIN, A.L.; BARROS, E.G.; MOREIRA M.A. Co-evolution model of *Colletotrichum lindemuthianum* (Melanconiaceae, Melanconiales) races that occur in some Brazilian regions. **Genetics and Molecular Biology**. 22: 115-118, 1999a.

ALZATE-MARIN, A.L.; CERVIGNI, G.D.L.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**. 30: 333-342, 2005.

ALZATE-MARIN, A.L.; COSTA, M.R.; SARTORATO, A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Characterization of the anthracnose resistance gene present in Ouro Negro (Honduras 35) common bean cultivar. **Euphytica**. 133: 165-169, 2003.

ALZATE-MARIN, A.L.; MENARIM, H.; BAÍA, G.S; PAULA JÚNIOR, T.J.; SOUZA, K.A.; COSTA, M.R.; BARROS, E.G.; MOREIRA M.A. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean differential cultivar G2333 and identification of a new molecular marker linked to the Co-4<sup>2</sup> gene. **Journal of Phytopathology**. 149: 259-264, 2001b.

ALZATE-MARIN, A.L.; MENARIM, H.; CARVALHO, G.A.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Improved selection with newly identified RAPD markers linked to resistance gene to four pathotypes of *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Phytopathology**. 89: 281-285, 1999b.

ALZATE-MARIN, A.L.; MENARIM, H.; CHAGAS, J.M.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Identification of a RAPD marker linked to the Co-6 anthracnose resistant gene in common bean cultivar AB 136. **Genetics and Molecular Biology**. 23: 633-637, 2000.

ALZATE-MARIN, A.L.; MORAIS, M.G.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Inheritance of anthracnose resistance in common bean differential cultivar PI 207.262. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 45: 112-113, 2002.

ALZATE-MARIN, A.L.; PAULA JÚNIOR, T.J.; MENARIM, H.; QUEIROZ, F.N.T.; BARROS E.G.; MOREIRA M.A. 1997d. Use of RAPD markers to understand the dominant nature of anthracnose resistance genes present in common bean cultivar AB 136. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 40: 132-133, 1997b.

ALZATE-MARIN, A.L.; SARTORATO, A. Analysis of the pathogenic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* in Brazil. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 241-242, 2004.

ANDRADE, E.M.; COSTA, J.G.C.; RAVA, C.A. Variabilidade patogênica de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de algumas regiões brasileiras. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 6, 1999, Salvador. **Anais...** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. 1: 242-244. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 99).

APARICIO, B.H.E. **Caracterización de la diversidad molecular y la virulencia de aislamientos del hongo *Phaeoisariopsis griseola* de Brasil e Bolivia**. Cali (Colombia): Universidade del Valle, 1998. (Trabalho de grado).

ARRUDA, K.M.A. **Melhoramento de feijão do tipo carioca com ênfase na piramidação de genes de resistência à antracnose**. Tese (Mestrado). Viçosa: UFV, 2005. 70p.

ARRUDA, M.C.C. **Resistência do feijoeiro-comum à antracnose: herança, identificação de marcadores moleculares e introgressão do gene Co-4 no cultivar Rudá**. Tese (Mestrado). Viçosa: UFV, 1998. 97p.

ARRUDA, M.C.C.; ALZATE-MARIN, A.L.; CHAGAS, J.M.; MOREIRA, M.A. & BARROS, E.G. Identification of RAPD markers linked to the *Co-4* resistance gene to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Phytopathology**. 90: 758-761, 2000.

A REVOLUÇÃO DO CARIOQUINHA: Os trinta anos do Carioca. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. **Informação Apta**. 1: 3-5, 2000.

BAENZIGER, P.S.; PETERSON, C.J. **Genetic variation: its origin and use for breeding self-pollinated species**. In: STALKER, H.T.; MURPHY, J.P. (Ed.). Plant Breeding in the 1990's. Raleigh: North Carolina State University, 1991. p. 69-100.

BASSET, M.J. List of genes – *Phaseolus vulgaris* L. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. 47: 1-24, 2004.

BORÉM, A. Aplicação dos marcadores moleculares no melhoramento de plantas. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. (Ed.). **Marcadores moleculares**. 2006, p. 79-84.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997. Institui a Lei de Proteção de Cultivares, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 25 abr. 1997. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acessado em 12 de Junho de 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Culturas**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/ESTATISTICAS/CULTURA>>. Acessado em 22 de Maio de 2006.

CAIXETA, E.T.; BORÉM, A.; ALZATE-MARIN, A.L.; FAGUNDES, S.A.; SILVA, M.G.M.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Allelic relationships for genes that confer resistance to angular leaf spot in common bean. **Euphytica**. 145: 237-245, 2005.

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

CAIXETA, E.T.; OLIVEIRA, A.C.B.; BRITO, G.G.; SAKIYAMA, N.S. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. (eds.). **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG, 2006. p.85-106.

CARDONA-ALVAREZ, C. Herencia de la resistencia a la mancha angular en frijol. **Agronomía Tropical**. 18: 330-331, 1962.

CARNEIRO, J.E.S. **Alternativas para obtenção e escolha de populações segregantes no feijoeiro**. Tese (Doutorado) - Lavras: UFLA, 2002. 134p.

CARVALHO, G.A. **Marcadores RAPD ligados a genes de resistência ao cancro da haste da soja**. Tese (Mestrado). Viçosa: UFV, 1995. 51p.

CARVALHO, G.A.; PAULA JR., T.J.; ALZATE-MARIN, A.L.; NIESTCHE, S.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Herança da resistência da linhagem AND-277 de feijoeiro comum à raça 63-23 de *Phaeoisariopsis griseola* e identificação de marcador RAPD ligado ao gene de resistência. **Fitopatologia Brasileira**. 23: 482-485, 1998.

CASTANHEIRA, A.L.M.; SANTOS, J.B. dos; FERREIRA, D.F.; MELO, L.C. Identification of common bean alleles resistant to anthracnose using RAPD. **Genetics and Molecular Biology**. 22: 565-569, 1999.

CORRÊA, R.X. **Genes de Resistência a Doenças do Feijoeiro: Identificação de Marcadores Moleculares, Organização e Identificação de Análogos**. Tese (Doutorado). Viçosa: UFV, 1999. 116p.

CORRÊA, R.X.; COSTA, M.R.; GOOD GOD, P.I.; RAGAGNIN, V.A.; FALEIRO, F.G.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Sequence characterized amplified regions linked to rust resistance genes in the common bean. **Crop Science**. 40: 804-807, 2000.

CORRÊA, R.X.; GOOD GOD, P.I.; OLIVEIRA, M.L.P.; NIETSCHKE, S.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Herança da resistência à mancha-angular do feijoeiro e identificação de marcadores moleculares flanqueando o loco de resistência. **Fitopatologia Brasileira**. 26: 27-32, 2001.

COSTA, M.R. **Introgressão de genes de resistência à antracnose, ferrugem e mancha-angular no cultivar de feijão Diamante Negro**. Tese (Mestrado). Viçosa: UFV, 2004. 78p.

CRUZ, C.D. **Princípios de Genética Quantitativa**. Editora UFV. 2005. 394p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. Universidade Federal de Viçosa. Editora UFV (2ª Ed.). 2001. 390p.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa Arroz e Feijão (CNPaf). Disponível no site <http://www.cnpaf.embrapa.br>, **Feijão - Cultivares**. Acessado em Agosto de 2006.

FALEIRO, F.G. **Identificação de raças, diversidade genética de *Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus* e herança da resistência no feijoeiro**. Tese (Mestrado). Viçosa: UFV, 1997. 65p.

FALEIRO, F.G. **Melhoramento e mapeamento genético do feijoeiro-comum: análise de características quantitativas, morfológicas, moleculares e de resistência a doenças**. Tese (Doutorado). Viçosa: UFV, 2000. 158p.

FALEIRO, F.G.; RAGAGNIN, V.A.; SCHUSTER, I.; CORRÊA, R.X.; GOOD-GOD, P.I.; BROMMONSHENKEL, S.H.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Mapeamento de genes de resistência do feijoeiro à ferrugem, antracnose e mancha-angular usando marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**. 28: 59-66, 2003.

FALEIRO, F.G.; VINHADELLI, W.S.; RAGAGNIN, V.A.; CORRÊA, R.X.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. RAPD markers linked to a block of genes conferring rust resistance to the common bean. **Genetics and Molecular Biology**. 23: 399-402, 2000.

FALEIRO, F.G.; VINHADELLI, W.S.; RAGAGNIN, V.A.; PAULA Jr., T.J.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Resistência do feijoeiro-comum a quatro raças de *Uromyces appendiculatus*. **Revista Ceres**. 46: 11-18, 1999.

FARIA, L.C.; COSTA, J.G.C.; RAVA, C.A.; DEL PELOSO, M.J.; MELO, L.C.; CARNEIRO, G.E.S.; SOARES, D.M.; DÍAZ, J.L.C.; ABREU, A. de F.B.; FARIA, J.C.; SARTORATO, A.; SILVA, H.T.; BASSINELLO, P.Z.; ZIMMERMANN, F.J.P. 'BRS REQUINTE': Nova Cultivar de Feijoeiro Comum de Tipo de Grão Carioca com Retardamento do Escurecimento do Grão. **Comunicado Técnico**, 65: 1-4, 2003. Santo Antônio do Goiás, GO.

FEHR, W.R. **Principles of cultivar development**. New York: McGraw-Hill, Inc., v. 1, 1987. 536p.

FERREIRA, C.F.; BORÉM, A.; CARVALHO, G.A.; NIETSCHKE, S.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Herança da resistência do feijoeiro à mancha-angular (*Phaeoisariopsis griseola*). **Fitopatologia Brasileira**. 24: 391-393, 1999a.

FERREIRA, C.F.; BORÉM, A.; CARVALHO, G.A.; NIETSCHKE, S.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Identificação de marcador RAPD ligado ao gene de resistência à raça 63.39 da mancha-angular do feijoeiro. **Bragantia**. 58: 247-252, 1999b.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa/CENARGEN, 3ª ed., 1998. 220p.

FOUILLOUX, G. Bean anthracnose: new genes of resistance. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. 19: 36-37, 1976.

GRAFTON, K.F.; WEISER, G.C.; LITTLEFIELD, L.J.; STAVELY, J.R. Inheritance of resistance to two races of leaf rust in dry edible bean. **Crop Science**. 25: 537-539, 1985.

HABGOOD, H. Designation of physiological races of plant pathogens. **Nature**. 227: 1268-1269, 1970.

HALEY, S.D., AFANADOR, L.K.; KELLY, J.D. Selection for monogenic resistance traits with coupling and repulsion-phase RAPD markers. **Crop Science**. 34: 1061-1066, 1994.

HALEY, S.D., MIKLAS, P.N., STAVELY, J.R., BYRUM, J.; KELLY, J.D. Identification de RAPD markers linked to a major rust resistance gene block in common bean. **Theoretical and Applied Genetics**. 86: 505-512, 1993.

GIZLICE, Z.; CARTER, T.E.; BURTON, J.W. Genetic diversity in North American soybeans: I. Multivariate analysis of founding stock and relation to coefficient of parentage. **Crop Science**. 33: 614-619, 1993.

JINKS, J.L., POONI, H.S. Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. **Heredity**. 36: 253-266, 1976.

JOHNSON, E., MIKLAS, P.N., STAVELY, J.R.; MARTINEZ-CRUZADO, J.C. Coupling- and repulsion-phase RAPDs for marker-assisted selection of PI 181996 rust resistance in common bean. **Theoretical and Applied Genetics**. 90: 659-664, 1995.

JOHNSON, W.C.; GEPTS, P. Two new molecular markers linked to bc-3. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 37: 206-207, 1994.

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

KELLY, J. D.; STAVELY, J.R.; MIKLAS, P. N. Proposed symbols for rust resistance genes. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 39: 25-31, 1995.

KOLMER, J.A.; GROTH, J.V. Inheritance of a minute uredinium infection type of bean rust in breeding line 814. **Phytopathology**. 74: 205-207, 1984.

LANZA, M.A.; PAULA JR., T.J.; VINHADELI, W.S.; MORANDI, M.A.B.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Resistência à antracnose em cultivares de feijoeiro-comum recomendadas para Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**. 22: 560-562, 1997.

LAWSON, W.R.; GOULTER, K.C.; HENRY, R.J.; KONG, G.A.; KOCHMAN, J.K. Marker-assisted selection for two rust resistance genes in sunflower. **Molecular Breeding**. 4: 227-234, 1998.

MELO, C.L.P. **Caracterização fenotípica e molecular de linhagens de feijão do cruzamento Ouro Negro x Pérola**. Tese (Mestrado). Viçosa: UFV, 2004. 70p.

MELO, L.C.; FARIA, L.C.; RAVA, C.A.; DEL PELOSO, M.J.; COSTA, J.G.C.; DÍAZ, J.L.C.; FARIA, J.C.; SILVA, H.T.; SARTORATO, A.; BASSINELLO, P.Z.; ZIMMERMANN, F.J.P. BRS Horizonte: Nova Cultivar de Feijoeiro Comum com Grão do Tipo Comercial Carioca para as Regiões Sul e Centro-Oeste. **Comunicado Técnico**, 90: 1-2, 2004. Santo Antônio do Goiás, GO.

MELO, L.C.; SANTOS, J.B. dos; RAMALHO, M.A.P. Choice of parents to obtain common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars tolerant to low temperatures at the adult stage. **Brazilian Journal of Genetics**. 20: 283-292, 1997.

MELOTTO, M.; KELLY, J.D. Fine mapping of the *Co-4* locus of common bean reveals a resistance gene candidate, COK-4, that encodes for a protein kinase. **Theoretical and Applied Genetics**. 103: 508-517, 2001.

MICHELMORE, R., PARAN, I.; KESELLI, V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. **Proceedings of the National Academy Science USA**. 88: 9828-9832, 1991.

MIKLAS, P.N.; KELLY, J.D.; BEEBE, S.E.; BLAIR, M.W. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. **Euphytica**. 147: 105-131, 2006.

MILACH, S.C.K. Seleção assistida por marcadores moleculares em programas de melhoramento genético vegetal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1, 2001, Goiânia. **CD-Rom...**, Goiânia: SBMP, 2001.

MORA, N.O.A.; VIEIRA, C.; ZAMBOLIM, L. Variedades diferenciadoras de feijão para identificação de raças fisiológicas de *Uromyces phaseoli* var *typica* Arth. **Revista Ceres**. 39: 391-404, 1992.

MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. de; CARNEIRO, J.E. de S; FALEIRO, F.G.; FARIA, L.C.; CARNEIRO, G.E.S.; DEL PELOSO, M.J.; PAULA JÚNIOR, T.J.; ABREU, A. de F.B.; RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; MELO, L.C.; RAVA, C.A.; COSTA, J.G.C.; SARTORATO, A.; FARIA, J.C. de. BRSMG Pioneiro: Nova Cultivar de Feijoeiro Comum de Grãos Tipo Carioca com Alelos de Resistência à Antracnose e Ferrugem, Indicada para o Sul do Brasil. **Comunicado Técnico**, 113: 1-4, 2005. Santo Antônio do Goiás, GO.

NELSON, R.R. Genetics of horizontal resistance to plant disease. **Annual Review Phytopathology**. 16: 359-378, 1978.

NIETSCH, S.; BORÉM, A.; CARVALHO, G.A.; ROCHA, R.C.; PAULA Jr., T.J.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. RAPD and SCAR markers linked to a gene conferring resistance to angular leaf spot in common bean. **Phytopathology**. 148: 117-121, 2000a.

NIETSCH, S.; BORÉM, A.; ROCHA, R.C.; CAIXETA, E.T.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Fontes de resistência à mancha-angular do feijoeiro-comum no Brasil. **Revista Ceres**. 47: 567-572, 2000b.

NIETSCH, S.; BORÉM, A.; ROCHA, R.C.; CAIXETA, E.T.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Identificação de raças de *Phaeoisariopsis griseola* no estado de Minas Gerais. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 6, 1999, Salvador. **Anais...** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. v.1, p.198-200. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 99).

NIETSCH, S.; BORÉM, A.; CARVALHO, G.A.; PAULA JÚNIOR, T.J.; FERREIRA, C.F.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in the State of Minas Gerais, Brazil. **Euphytica**. 117: 77-84, 2001.

NIETSCH, S.; CARVALHO, G.A.; BORÉM, A.; PAULA JÚNIOR, T.J.; FERREIRA, C.F.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Variabilidade patogênica de *Phaeoisariopsis griseola* em Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**. 22: 289-290, 1997.

OLIVEIRA, E.J.; ALZATE-MARIN, A.L.; BORÉM, A. MELO, C.L.P.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Reação de cultivares de feijoeiro comum a quatro raças de *Phaeoisariopsis griseola*. **Fitopatologia Brasileira**. 29: 220-223, 2004.

OLIVEIRA, M.S.; CARNEIRO, J.E.S.; CARNEIRO, P.C.S.; GONÇALVES, F.M.A. Desempenho de populações segregantes de feijão do grupo comercial preto. In: 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas – Melhoramento e qualidade de vida. **CD-Room (T400)...** Porto Seguro, BA, 2003.

OLIVEIRA, L.B. de; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A. de F.B.; FERREIRA, D.F. Alternative procedures for parent choice in a breeding program for the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Genetics**. 19: 611-615, 1996.

OTUBO, S.T.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A. de F.B.; SANTOS, J.B. dos. Genetic control of low temperature tolerance in germination of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**. 89: 313-317, 1996.

PARAN, I.; MICHELMORE, R.W. Development of reliable PCR-based markers linkage to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical and Applied Genetics**. 85: 985-993, 1993.

PASTOR-CORRALES, M.A. Recomendaciones y acuerdos del primer taller de antracnosis en América Latina. In: PASTOR-CORRALES, M.A. (ed.). **La antracnosis del frijol común, *Phaseolus vulgaris*, en América Latina**. Cali: CIAT, 1992. p.240-250. (Doc. de Trabajo, 113).

PASTOR-CORRALES, M.A. Traditional and molecular confirmation of the coevolution of beans and pathogens in Latin América. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 39: 46-47, 1996.

PASTOR-CORRALES, M.A.; ERAZO, O.; ESTRADA, E.; SINGH, S.P. Inheritance of anthracnose resistance in common bean accession G2333. **Plant Disease**. 78: 959-962, 1994a.

PASTOR-CORRALES, M.A.; JARA, C.E. La evolución de *P. griseola* com el frijol comum en América Latina. **Fitopatología Colombiana**. 19: 15-23, 1995.

PASTOR-CORRALES, M.A.; OTOYA, M.M. ; MAYA, M.M. Diversidad de la virulencia de *Colletotrichum lindemuthianum* en Mesoamérica y la region Andina. **Fitopatología Colombiana**. 17: 31-38, 1994b.

PASTOR-CORRALES, M.A.; PAULA JR., T.J. 1996. Estudo da diversidade genética de *Phaeoiosariopsis griseola* no Brasil. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 5, 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA-CNPAP-APA, 1996. v.1, p.239-241. (Documentos, 69).

QUEIROZ, V.T.; SOUSA, C.S.; COSTA, M.R.; SANGLARD, D.A.; ARRUDA, K.M.A.; SOUZA, T.L.P.O; RAGAGNIN, V.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Development of SCAR markers linked to common bean angular leaf spot resistance genes. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 237-238, 2004a.

QUEIROZ, V.T.; SOUSA, C.S.; COSTA, M.R.; SANGLARD, D.A.; ARRUDA, K.M.A.; SOUZA, T.L.P.O; RAGAGNIN, V.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Development of SCAR markers linked to common bean anthracnose resistance genes *Co-4* and *Co-6*. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 249-250, 2004b.

QUEIROZ, V.T.; SOUSA, C.S.; SOUZA, T.L.P.O; SANGLARD, D.A.; RAGAGNIN, V.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. SCAR marker linked to common bean rust resistance gene *Ur-11*. . **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 271-272, 2004c.

RAGAGNIN, V.A. **Piramidação de genes de resistência à ferrugem, antracnose e mancha-angular em feijão do tipo carioca**. Tese (Doutorado) - Viçosa: UFV, 2004. 79p.

RAGAGNIN, V.A.; ALZATE-MARIN, A.L.; SOUZA, T.L.P.O.; ARRUDA, K.M.A.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Avaliação da resistência de isolinhas de feijoeiro a diferentes patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum*, *Uromyces appendiculatus* e *Phaeoisariopsis griseola*. **Fitopatologia Brasileira**. 28: 591-596, 2003.

RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A de F.B. **Cultivares**. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J. e BORÉM, A. (Eds.). Feijão, 2ª edição, Atualizada e Ampliada. Editora UFV. 2006. p. 415-436.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; ZIMMERMANN, M.J. de O. **Genética Quantitativa em Plantas Autógamas**: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 271p.

RAVA, C.; PURCHIO, A.; SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**. 19: 167-172, 1994.

SANTOS, J.B. dos. Marcadores Moleculares no Melhoramento de Plantas. In: AGUIAR, A.M.; ROSAL, C.J.S.; MENEZES, C.B.; RAPOSO, F. V.; CORTE, H.R. FUZATTO, S.R. (eds.). SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2, 1998, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA/GEN, 1998. 170p.

SANTOS, P.G. **Escolha de populações segregantes para o programa de seleção de arroz em Terras Altas**. Tese (Doutorado). Lavras, MG: UFLA, 2000. 106p.

SANTOS, P.G.; SOARES, A.A.; RAMALHO, M.A.P. Predição do potencial genético de populações segregantes de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 36: 659-670, 2001.

SANTOS FILHO, H.P.; FERAZ, S.; VIEIRA, C. Resistência à mancha angular (*Isariopsis griseioli* Sacc.) no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) **Revista Ceres**. 23: 226-230, 1976.

SARTORATO, A. Variabilidade de *Phaeoisariopsis griseola* no feijoeiro comum. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1, 2001, Goiânia. **Anais...**, Goiânia: SBMP, 2001.

SARTORATO, A.; ALZATE-MARIN, A.L. Analysis of the pathogenic variability of *Phaeoisariopsis griseola* in Brazil. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 235-236, 2004.

SARTORATO, A.; NIETSCHKE, S.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Inheritance of angular leaf spot resistance and RAPD markers linked to disease resistance gene in common beans. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 42: 21-22, 1999.

SARTORATO, A.; NIETSCHKE, S.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. RAPD and SCAR markers linked to resistance gene to angular leaf spot in common beans. **Fitopatologia Brasileira**. 25: 637-642, 2000.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Influência da cultivar e do número de inoculações na severidade de mancha angular (*Isariopsis griseola*) e nas perdas na produção do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). **Fitopatologia Brasileira**. 17: 247-251, 1992.

SCHAFFER, F.R.; ROELFS, A.P. Estimated relation between numbers of urediniospores of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* and rates of occurrence of virulence. **Phytopathology**, St. Paul. 75: 749-750, 1985.

SCHWARTZ, H.F.; PASTOR-CORRALES, M.A.; SINGH, S.P. New source of resistance to anthracnose and angular leaf spot of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**. 31: 741-754, 1982.

SILVA, M.V. **Identificação de marcador RAPD ligado ao alelo Co-7 de resistência do feijão ao agente causal da antracnose**. Lavras: UFLA, 2000, 78p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

SINGH, A.K.; SAINI, S.S. Inheritance of resistance to angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.) in french bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**. 29: 175-176, 1980.

SINGH, S.P.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D.G. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**. 45: 379-396, 1991.

SINGH, S.P.; URREA, C.A. Inter- and intraracial hybridization and selection for seed yield in early generations of common bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Euphytica**. 81: 131-137, 1995.

SNAPE, J.W. Predicting the frequencies of transgressive segregants for yield components in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**. 62: 127-134, 1982.

SOUZA, T.L.O.P. **Classificação de raças fisiológicas de *Uromyces appendiculatus* e piramidação de genes de resistência ao patógeno em feijão do tipo carioca**. Tese (Mestrado). Viçosa: UFV, 2005. 98p.

STAVELY, J.R. Genetics of resistance to *Uromyces Phaseoli* in a *Phaseolus vulgaris* line resistant to most races of the pathogen. **Phytopathology**. 74: 339-344, 1984.

STAVELY, J.R.; KELLY, J.D.; GRAFTON, K.F.; MULLINS, C.A.; STRAW, A.; McMILLAN, R.T.; BEAVER, J.S.; MIKLAS, P.N.; STEINKE, J.; STEADMAN, J.R.; COYNE, D.P.; LINDGREN, D.T.; SILBERNAGEL, M.J. Rust resistance bean germplasm releases 1994-1996. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 40: 120-121, 1997.

STAVELY, J.R.; KELLY, J.D.; GRAFTON, K.F.; STEINKE, J.; STEADMAN, J.R.; COYNE, D.P.; LINDGREN, D.T.; SILBERNAGEL, M.J. Recent rust resistance bean germplasm releases. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 37: 247-248, 1994.

STAVELY, J.R.; PASTOR-CORRALES, M.A. Royá. In: PASTOR-CORRALES, M.A.A.; SCHWARTZ, H.F. (eds.). **Problemas de producción del frijol en los trópicos**. 2.ed. Cali: CIAT, 1994. p.185-225.

STAVELY, J.R.; STEINKE, J.; McMILLAN, R.T.; GRAFTON, K.F.; STEADMAN, J.R.; KELLY, J.D.; COYNE, D.P.; LINDGREN, D.T.; SILBERNAGEL, M.J. Rust resistance bean germplasm releases. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 35: 228-229, 1992.

TANKSLEY, S.D.; NELSON, J.C. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTL's from unadapted germplasm into elite breeding lines. **Theoretical and Applied Genetics**. 92: 191-203, 1996.

TOLEDO, J.F.F de. **Biometrical studies of inbreed lines and their hybrids**. 1986. 139p. Thesis (Ph.D.) – University of Birmingham, Reino Unido. 1986.

TRILLER, C.; TOLEDO, J.F.F de. Using the F<sub>3</sub> generation for predicting the breeding potential of soybean crosses. **Revista Brasileira de Genética**. 19: 289-294, 1996.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. 2ª ed. Campinas: Fundação Cargill, p. 137-139. 1987.

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

VIEIRA, C.; BORÉM, A.; RAMALHO, M. A. P. **Melhoramento do Feijão**. In: Melhoramento de espécies cultivadas, BORÉM, A. (ed.), Viçosa: UFV, 1999. p. 273-350.

VIEIRA, C.; ARAÚJO, G.A.A.; CRUZ, C.D. Comportamento de cultivares de feijão no plantio de outono/inverno. In: VIEIRA, R.F. (ed.). **Projeto Feijão-Relatório 1988/92**. Viçosa: EPAMIG, 1992. p.71-76.

YOUNG, R.; KELLY, J.D. Characterization of the genetic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean differential cultivars. **Plant Disease**. 80: 650-654, 1996a.

YOUNG, R.; KELLY, J.D. RAPD Markers flanking the *Are* gene for anthracnose resistance in common bean. **Journal American Society Horticultural Science**. 121: 37-41, 1996b.

YOUNG, R.; KELLY, J.D. RAPD markers linked to three major anthracnose resistance genes in common bean. **Crop Science**. 37: 940-946, 1997.

YOUNG, R.; MELOTTO M.; NODARI R. O.; KELLY, J.D. Marker-assisted dissection of oligogenic anthracnose resistance in the common bean cultivar, 'G 2333'. **Theoretical and Applied Genetics**. 96: 87-94, 1998.

YU, K.; PARK, S.J.; POYSA, V. Marker-assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: efficacy and economics. **Plant Breeding**. 119: 411-415, 2000.

ZAITER, H.Z.; COYNE, D.P.; STEADMAN, J.R. Inheritance of resistance to a rust isolate in beans. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 32: 126-127, 1989.

## CAPÍTULO 1

### CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE POTENCIAIS GENITORES DE FEIJÃO DO TIPO CARIOCA

#### 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos 20 anos os melhoristas têm dedicado muitos esforços visando desenvolver cultivares de feijão resistente aos principais patógenos que acometem a cultura. Doenças foliares como a antracnose, a ferrugem e a mancha angular causadas, respectivamente, pelos fungos *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scribner, *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger var. *appendiculatus* e *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris estão entre as principais responsáveis por prejuízos à produtividade de grãos do feijoeiro.

Lanza et al. (1997) e Faleiro et al. (2001) avaliaram o comportamento de cultivares comerciais de feijoeiro quanto à resistência/suscetibilidade a esses três patógenos e concluíram que a maioria das cultivares comerciais são suscetíveis. Dentre elas, as cultivares Carioca, Pérola, Aporé e Rudá, todas de grãos do tipo carioca, algumas delas ainda extensivamente plantadas em Minas Gerais, mostraram-se suscetíveis à maioria dos patótipos desses organismos fitopatogênicos. Sartorato et al. (2004) avaliaram a reação de diversas cultivares de feijão do tipo carioca a 24 patótipos de *C. lindemuthianum*. Entre as 23 cultivares testadas, BRS Pontal, BRS Requite, BRS Magnífico e Pérola apresentaram reações que variaram de intermediárias a altamente suscetíveis.

Apesar da grande contribuição dada pelos diversos programas de melhoramento conduzidos no Brasil, até o presente momento, não se dispõem de cultivares de feijão de grãos do tipo carioca com ampla resistência à antracnose, mancha angular e ferrugem. Exemplo disso são os lançamentos recentes de cultivares do tipo carioca que apresentam resistência a alguns patógenos ou a patótipos deles, porém são altamente suscetíveis a outros, principalmente em condições de campo (Abreu et al., 2004; Del Peloso et al., 2004; Faria et al., 2004).

Além disso, o uso contínuo de uma cultivar pode levar à “quebra” da resistência, que normalmente se deve à grande variabilidade dos patógenos (Stavelly e Pastor-Corrales, 1994; Pastor-Corrales e Jara, 1995; Pastor-Corrales e Paula Júnior, 1996; Nietsche et al., 2001; Alzate-Marin e Sartorato, 2004; Sartorato e Alzate-Marin, 2004;). Sementes contaminadas, transportadas de outros locais, movimento do patógeno pelo vento e plantios em áreas contaminadas com patótipos virulentos ainda não caracterizados pelos pesquisadores, são mais algumas das causas de cultivares resistentes, em determinada região, apresentarem suscetibilidade em outra.

Outro problema encontrado é o fato de que cultivares com características agronômicas favoráveis, tais como alta produtividade e aspecto comercial dos grãos, normalmente são suscetíveis aos principais patógenos que incitam a cultura do feijoeiro. Além disso, existe uma dificuldade em associar em uma única linhagem, somente por métodos convencionais, ampla resistência a patógenos. Exemplo disso foi a obtenção da isolinha Rudá-R, piramidada para cinco genes de resistência à antracnose (*Co-4*, *Co-6* e *Co-10*), ferrugem (*Ur-ON*) e mancha angular (*Phg-1*) (Ragagnin, 2004). Essa isolinha é proveniente do programa de introgressão de genes de resistência no *background* da cultivar Rudá por meio de retrocruzamentos assistidos por marcadores moleculares, realizado pelo Programa de Melhoramento do Feijoeiro do BIOAGRO/UFV. Entretanto, a cultivar Rudá, apesar de apresentar porte ereto e bom potencial de produção, deixa a desejar quanto ao aspecto do grão tipo carioca (cor e tamanho).

Desde o lançamento da ‘Rudá’, os programas de melhoramento têm disponibilizado outras cultivares do grupo Carioca com grãos de melhor aceitação comercial. Contudo, essas cultivares não apresentam bons níveis de resistência aos principais patógenos do feijoeiro. Como exemplo pode-se citar o caso da cultivar Pérola, que é suscetível à maioria dos patótipos de *C. lindemuthianum* já avaliados. Assim, nos últimos anos, os melhoristas de feijão têm procurado incorporar resistência aos principais patógenos em linhagens e cultivares de feijão do tipo carioca, que já apresentam aspecto de grãos aceitáveis comercialmente. Nesse caso a isolinha Rudá-R constitui uma importante fonte de resistência, uma vez que, além de possuir vários genes de resistência piramidados, possibilita o uso de marcadores moleculares no processo de seleção.

Considerando a possibilidade de uso da seleção assistida por marcadores moleculares, uma etapa importante do processo é a caracterização fenotípica e molecular dos potenciais genitores a serem cruzados com a fonte de resistência. Dessa

forma, o presente trabalho teve como objetivo realizar a caracterização fenotípica e molecular de 31 linhagens elites de feijão do tipo carioca, quanto à reação à *C. lindemuthianum*, *U. appendiculatus* e *P. griseola* e quanto à presença dos marcadores ligados aos genes de resistência, respectivamente.

Com isso, pretende-se identificar genitores com amplo espectro de resistência aos patógenos mencionados acima, além de acessar o polimorfismo molecular desses potenciais pais com vistas à seleção assistida por marcadores moleculares visando resistência a doenças.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material genético

Nesse trabalho foram avaliadas 30 linhagens elites de feijão do tipo carioca, todas pertencentes ao *pool* gênico mesoamericano, provenientes de diversos programas de melhoramento do feijoeiro do país (Tabela 1), juntamente com a isolinha Rudá-R e as cultivares TO (*Co-4*), AB 136 (*Co-6*), AND 277 (*Phg-1*) e Ouro Negro (*Ur-ON* e *Co-10*), utilizadas como fontes de genes de resistência aos respectivos patógenos no Programa de Melhoramento do Feijoeiro do BIOAGRO/UFV.

**TABELA 1** - Linhagens utilizadas na caracterização fenotípica e molecular e suas origens geográficas

Linhagens	Procedências
LP-98-31	Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR
UTFB-0018	CEFET-Pato Branco
UTF-0029	CEFET-Pato Branco
Vi-4599C	Universidade Federal de Viçosa -UFV
GEN 12	Instituto Agronômico de Campinas - IAC
UTF-0013	CEFET-Pato Branco
Pérola	Embrapa Arroz e Feijão
LP 98-20	Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR
CNFC 9500	Embrapa Arroz e Feijão
VC 2	Universidade Federal de Viçosa -UFV
Carioca 1070	Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR
CNFC 8017	Embrapa Arroz e Feijão
VC 4	Universidade Federal de Viçosa -UFV
Vi 0699C	Universidade Federal de Viçosa -UFV
GEN 12-2	Instituto Agronômico de Campinas - IAC
UTF-0037	CEFET-Pato Branco
FT Bonito	FT – Pesquisa e sementes
Vi-4899C	Universidade Federal de Viçosa -UFV
VC 5	Universidade Federal de Viçosa -UFV
OPS-82	Universidade Federal de Lavras - UFLA
LH-11	Universidade Federal de Lavras - UFLA
UTF-0031	CEFET-Pato Branco
IAPAR-81	Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR
UTF-0019	CEFET-Pato Branco
LP 98-76	Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR
UTFB-0022	CEFET-Pato Branco
CNFC 9437	Embrapa Arroz e Feijão
Talismã	UFV/UFLA/EMBRAPA/EPAMIG
VC 3	Universidade Federal de Viçosa -UFV
UTF-0030	CEFET-Pato Branco
Rudá-R	Universidade Federal de Viçosa -UFV

Concomitantemente, foram coletadas folhas de nove plantas de cada uma das 30 linhagens/cultivares e da Rudá-R para posterior extração de DNA, conforme metodologia de Doyle e Doyle (1990).

## **2.2. Locais de condução dos experimentos**

As etapas relacionadas à caracterização fenotípica das linhagens (inoculações artificiais) foram realizadas em casa de vegetação e em câmaras de nevoeiro, pertencentes ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV), Viçosa-MG.

A parte referente à multiplicação do patógeno, preparo do inóculo e genotipagem das plantas foi realizada no laboratório de Genética Molecular de Plantas do BIOAGRO/UFV.

## **2.3. Caracterização fenotípica das linhagens elites**

### **2.3.1. Inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum***

A caracterização fenotípica da reação à antracnose foi realizada utilizando-se aproximadamente 12 plantas de cada uma das 31 linhagens elites, além das cultivares Rudá, TO, AB 136, Ouro Negro utilizadas como controles suscetível e resistente para cada patótipo de *C. lindemuthianum* testado. Foram utilizados os patótipos 65, 67, 73, 81, 83, 85, 87, 89, 95, 117, 453, 593 e 2047, sendo a maioria caracterizada por Rava et al. (1994). O patótipo 2047 (Costa Rica) foi caracterizado por Balardin et al. (1997). Esses patótipos, com exceção do 2047, são os mais frequentes em Minas Gerais e no Brasil, em condições de campo (Pio-Ribeiro e Chaves, 1975; Vieira, 1983; Alzate-Marin e Sartorato, 2004). O 2047 tem ocasionado elevadas perdas de produção nos Estados Unidos, sendo portanto importante obter fontes de resistência a esse patótipo. As culturas monospóricas originais dos patótipos utilizados foram cedidas pela Embrapa Arroz e Feijão.

O preparo do inóculo e a inoculação seguiram a metodologia adaptada de Pio-Ribeiro e Chaves (1975). Para a obtenção de inóculo de *C. lindemuthianum*, o fungo foi

cultivado durante dez dias a 23 °C em tubos de ensaio contendo vagens esterilizadas e parcialmente imersas em meio ágar-água.

As sementes foram semeadas diretamente em bandejas plásticas contendo uma mistura de solo e esterco curtido, na proporção de 4:1, adubada no momento do preparo com 5 kg do formulado NPK 4-14-8 por m<sup>3</sup> de substrato. As plantas foram mantidas em casa de vegetação até o momento da inoculação.

A inoculação foi feita dez dias após o plantio, utilizando-se uma suspensão contendo 1,2 x 10<sup>6</sup> conídios.mL<sup>-1</sup>, a qual foi aplicada em ambas as superfícies das folhas primárias, com o auxílio de um atomizador De Vilbiss n° 15 acionado por um compressor elétrico. Após a aspersão com o inóculo, as plantas foram incubadas por cinco dias em câmara de nevoeiro (20±1 °C e acima de 95% de umidade relativa), sob fotoperíodo de 12 h.

Após este período, foi realizada a avaliação dos sintomas de antracnose com base na escala de 1 a 9 descrita por Pastor-Corrales (1992): 1 - ausência de sintomas; 2 - até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis somente na face inferior das folhas; 3 - maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas; 4 - até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces das folhas; 5 - maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas; 6 - manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces das folhas, presença de algumas lesões no caule, ramos e pecíolos; 7 - manchas necróticas na maioria das nervuras e em grande parte do tecido do mesófilo adjacente que se rompe; presença de abundantes lesões no caule, ramos e pecíolos; 8 - manchas necróticas na quase totalidade das nervuras, ocasionando ruptura, desfolhamento e redução do crescimento das plantas, além de lesões abundantes no caule, ramos e pecíolo; e 9 - maioria das plantas mortas. As linhagens que apresentaram graus médios de reação de 1 a 3,5 e acima de 3,5 foram consideradas resistentes e suscetíveis, respectivamente.

### **2.3.2. Inoculação de *Uromyces appendiculatus***

Para avaliar a resistência/suscetibilidade das linhagens de feijoeiro à ferrugem foram semeadas 12 sementes de cada uma das 31 linhagens elites e das cultivares Ouro Negro (controle resistente) e Rudá (controle suscetível), para cada um dos patótipos de

*U. appendiculatus*. O preparo do solo, a adubação e a condução das plantas até o momento da inoculação foram semelhantes aos ensaios com antracnose.

Os patótipos 10 e 13 de *U. appendiculatus* utilizados foram os classificados e identificados por Faleiro et al. (1999). De acordo com esses autores, os dois patótipos mencionados acima estão entre os mais freqüentes no Estado de Minas Gerais, num total de 12 isolados avaliados. Recentemente, Souza (2005) realizou uma nova caracterização desses patótipos em 29-3 e 63-3, respectivamente, baseado no novo procedimento internacional sugerido por Steadman et al. (2002).

A inoculação foi realizada quando as folhas primárias apresentavam aproximadamente 2/3 do seu desenvolvimento completo, cerca de 10 dias após a semeadura. Os uredósporos, na concentração de  $2,0 \times 10^4$  esporos.mL<sup>-1</sup> (Davison & Vaughan, 1964), foram suspensos em água destilada contendo 0,05% de Tween 20 e aspergidos em ambas as superfícies foliares, com o auxílio de um atomizador De Vilbiss nº 15, acionado por um compressor elétrico (Carrijo et al., 1980). Após a pulverização e rápida secagem ao ar, as plantas foram transferidas para câmara de nevoeiro (20±1°C e umidade relativa >95%), onde permaneceram por 48 horas, sob fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, foram novamente transferidas para casa de vegetação (20±5°C), onde permaneceram por mais quinze dias, até serem avaliadas.

Na avaliação visual dos sintomas de ferrugem na fase adaxial das folhas primárias foram considerados seis graus de reação segundo a escala proposta por Stavely et al. (1983), como se segue: 1 - ausência de pústulas; 2 - manchas necróticas sem esporulação; 3 - pústulas esporulando com diâmetro < 300 µm; 4 - pústulas esporulando com diâmetro de 300 a 499 µm; 5 - pústulas esporulando com diâmetro de 500 a 800 µm e 6 - pústulas esporulando com diâmetro > 800 µm. As linhagens que apresentaram graus médios de 1 a 3,5 foram consideradas resistentes e as com grau 3,6 ou maior, suscetíveis.

### **2.3.3. Inoculação de *Phaeoisariopsis griseola***

A caracterização da resistência à mancha angular foi realizada utilizando-se 12 plantas de cada uma das 31 linhagens e das cultivares AND 277 (controle resistente) e Rudá (controle suscetível), para cada patótipo de *P. griseola*. As sementes foram semeadas em vasos plásticos de 3,5 L de capacidade, sendo utilizadas três sementes por

vaso. O preparo do solo, a adubação e a condução das plantas até o momento da inoculação foram semelhantes aos dos ensaios anteriores.

Para a avaliação da resistência à mancha angular, foram utilizados os patótipos 31.15, 31.23, 31.39, 63.19, 63.23, 63.31 e 63.55 classificados por Nietzsche et al. (2001). Segundo esses autores, os patótipos 31.23, 63.23, 63.31 e 63.55 de *P. griseola* são os mais frequentes no Estado de Minas Gerais. O inóculo de cada patótipo foi produzido em placas de Petri contendo meio à base de extrato de tomate e ágar. A inoculação foi realizada após o aparecimento da primeira folha trifoliolada, aproximadamente 15 dias após a emergência das plantas, em ambas as superfícies com uma suspensão do patógeno previamente preparada e ajustada para concentração de  $2 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup>. Os procedimentos de transferência para a câmara de nevoeiro e para a casa de vegetação foram idênticos aos realizados no ensaio com ferrugem.

A severidade da doença foi avaliada visualmente aos 21 dias após a inoculação, utilizando uma escala com nove graus de severidade descrita por Van Schoonhoven e Pastor-Corrales (1987), como se segue: 1 - plantas sem sintomas; 2 - presença de até 3% de lesões; 3 - até 5% de lesões não esporuladas; 4 - lesões esporuladas que cobrem aproximadamente 10% da área foliar; 5 - lesões esporuladas entre 2 e 3 mm, entre 10-15% da área foliar; 6 - numerosas lesões esporuladas maiores que 3 mm, entre 15-20% da área foliar; 7 - várias lesões esporuladas maiores que 3 mm, que cobrem entre 20-25% da área foliar; 8 - numerosas lesões esporuladas maiores que 3 mm, que cobrem entre 25-30% da área foliar; 9 - sintomas severos da doença, resultando em queda prematura de folhas e morte da planta. As linhagens que apresentaram graus médios de reação de 1 a 3,5 foram consideradas resistentes e as com grau 3,6 ou maior, suscetíveis.

#### **2.4. Caracterização molecular das linhagens elites**

Na caracterização molecular da linhagem Rudá-R e das 30 linhagens elites procedeu-se a coleta de nove folhas de cada uma delas para a extração do DNA e posterior amplificação com os marcadores moleculares ligados a genes de resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular, previamente identificados em diversas etapas do Programa de Melhoramento de Feijão do BIOAGRO/UFV (Alzate-Marin et al., 2005). O DNA foi amplificado com os marcadores SCARF10<sub>1050a</sub> (*Co-10*), SCARY20<sub>830a</sub> (*Co-4*), SCARAZ20<sub>940a</sub> (*Co-6*), SCARH13<sub>490a</sub> (*Phg-1*) e OPX11<sub>550a</sub> (*Ur-?* e *Co-10*) (Queiroz, 2004; Faleiro et al., 2000). As reações de amplificação foram

efetuadas em termociclador Perkin-Elmer, modelo 9600 (Williams et al., 1990). Os produtos de amplificação foram separados em gel de agarose 1,2%, contendo 0,2 µg/ml de brometo de etídeo, imerso em tampão SB (Brody e Kern, 2004). As bandas de DNA foram visualizadas sob luz ultravioleta e fotografadas utilizando o sistema de fotodocumentação Eagle Eye II.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Reação das linhagens elites aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular

O resultado da avaliação das linhagens quanto à reação aos patótipos de *C. lindemuthianum* está apresentado de forma resumida, na Tabela 2.

**TABELA 2** - Caracterização fenotípica de linhagens elites de feijão (*Phaseolus vulgaris*) quanto à reação a diferentes patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum*

Cultivares	Patótipos de <i>C. lindemuthianum</i>												
	65	67	73	81	83	85	87	89	95	117	453	593	2047
LP-98-31	9,0 <sup>1</sup>	1,0	2,3	1,3	1,5	8,0	9,0	1,0	1,7	1,7	1,0	2,4	9,0
UTFB-0018	2,2	1,0	1,0	1,5	1,0	9,0	4,2	1,0	1,0	1,0	2,7	1,0	9,0
UTF-0029	2,4	2,3	2,0	1,3	1,0	1,0	2,2	1,6	1,7	2,3	1,0	1,0	9,0
Vi-4599	9,0	5,0	6,6	4,6	4,1	9,0	9,0	2,8	3,6	6,4	4,3	1,0	8,0
GEN 12	1,0	1,7	1,0	1,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	9,0
UTF-0013	9,0	4,0	4,5	1,5	3,1	9,0	7,4	2,4	1,8	2,6	9,0	1,0	9,0
Pérola	9,0	7,7	4,0	9,0	7,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
LP 98-20	9,0	9,0	7,8	8,4	7,0	9,0	9,0	7,0	8,8	8,0	9,0	9,0	9,0
CNFC 9500	9,0	1,0	1,2	1,0	1,0	8,0	9,0	1,0	1,0	1,0	2,6	1,0	9,0
VC 2	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	2,3	1,0	1,6	1,0	1,0	9,0
Carioca 1070	9,0	4,2	4,0	9,0	8,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	6,0
CNFC 8017	2,3	1,0	1,0	1,6	1,0	9,0	9,0	1,0	1,7	1,0	9,0	1,2	9,0
VC 4	1,7	1,8	1,8	1,0	2,2	1,0	8,0	1,5	1,7	2,8	2,8	1,0	9,0
Vi 0699	8,3	1,0	1,4	1,0	1,0	8,6	8,0	1,0	1,0	1,5	1,0	1,0	9,0
GEN 12-2	1,0	1,0	1,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	2,2	1,0	1,0	9,0
UTF-0037	3,0	4,0	4,0	1,6	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,6	1,7	3,2	9,0
FT Bonito	4,0	1,0	1,0	1,0	1,0	9,0	1,9	1,0	2,0	1,0	1,0	1,0	9,0
Vi-4899	9,0	1,7	1,9	1,0	2,2	9,0	9,0	1,0	1,0	1,0	9,0	1,0	9,0
VC 5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	6,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	9,0
OPS-82	9,0	1,0	1,0	1,7	1,0	8,0	7,0	1,0	1,6	1,0	1,0	1,0	9,0
LH-11	1,2	1,0	1,0	1,4	1,2	8,0	1,0	1,0	1,2	1,0	9,0	1,0	5,6
UTF-0031	1,5	1,0	1,7	1,0	1,7	6,3	5,0	1,0	1,0	1,0	5,0	5,1	9,0
IAPAR-81	4,8	4,3	2,4	5,7	2,2	9,0	5,7	5,0	4,0	9,0	8,0	7,0	7,0
UTF-0019	6,5	8,2	6,7	6,1	7,2	9,0	9,0	7,4	2,4	7,2	9,0	9,0	9,0
LP 98-76	7,8	1,7	1,0	1,0	1,0	8,4	5,5	1,2	2,6	1,0	1,0	1,0	8,8
UTFB-0022	1,6	1,0	1,0	1,0	1,8	1,6	1,9	1,0	1,0	1,7	1,0	1,0	9,0
CNFC 9437	9,0	1,0	1,0	1,0	1,0	8,0	9,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	9,0
Talismã	2,0	1,0	1,0	1,0	2,0	9,0	4,0	1,0	1,0	1,0	9,0	1,0	9,0
VC 3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	2,1	1,7	1,0	1,0	1,0	1,0	9,0
UTF-0030	4,5	3,0	2,0	2,2	2,2	6,1	2,3	3,0	5,0	1,7	3,0	1,0	8,8
Rudá-R	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	8,8
TO*	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	9,0	5,0	8,0
AB 136*	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	9,0
Ouro Negro*	9,0	2,3	1,0	1,0	1,0	8,0	9,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-
Rudá	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	8,8	9,0	9,0	9,0	9,0

<sup>1</sup>Grau de severidade da doença (média de 10 a 12 plantas); cultivares com graus de severidade média igual ou superior a 3,5 foram consideradas suscetíveis. - cultivar não avaliada para o respectivo patótipo; \*fontes de genes de resistência.

As linhagens UTF-0029, GEN 12, VC 2, VC 4, GEN 12-2, VC 5, UTFB-0022, VC 3 e Rudá-R se destacaram das demais, sendo as únicas a apresentarem resistência a mais de 10 dos 13 patótipos de *C. lindemuthianum* testados. Isso evidencia que essas linhagens são fontes promissoras de resistência à antracnose. Além das linhagens citadas, outras apresentaram resistência a cinco, seis ou sete patótipos, portanto com bons níveis de resistência. Já as linhagens Vi-4599, Pérola, LP 98-20, Carioca 1070, IAPAR-81 e UTF-0019 mostraram suscetibilidade a pelo menos 11 dos 13 patótipos de *C. lindemuthianum* testados. Vale salientar que todas as linhagens avaliadas foram suscetíveis ao patótipo 2047, ainda não identificado no Brasil. A cultivar Talismã mostrou-se resistente aos patótipos 65, 67, 73, 81, 83, 89, 95 e 117, destacando-se, nesse aspecto, em relação à 'Pérola', que foi suscetível a todos os patótipos testados. Os patótipos 2047, 85, 87 e 65, apresentaram-se como os mais virulentos, ou seja, foram compatíveis com a maioria das linhagens testadas.

Na avaliação da reação das linhagens aos patótipos de *P. griseola* (Tabela 3), observou-se reação de incompatibilidade a quatro, cinco ou seis dos sete patótipos testados, nas linhagens UTFB-0018, UTF-0029, GEN 12, UTF-0013, LP 98-20, VC 2, GEN 12-2, UTF-0037, VC 5, OPS-82, UTFB-0022, Talismã, VC 3 e Rudá-R. A linhagem LP 98-20 comportou-se como a mais promissora, apresentando imunidade a cinco patótipos. Contudo, as linhagens Pérola, Carioca 1070, CNFC 8017, VC 4, Vi-0669, Vi-4899, LH-11 e LP 98-76 mostraram-se suscetíveis a todos os patótipos testados. Todas as linhagens avaliadas, foram suscetíveis a pelo menos um dos sete patótipos de *P. griseola* testados neste trabalho.

A maioria das linhagens avaliadas foi suscetível aos patótipos de *U. appendiculatus* utilizados nesse estudo (Tabela 3). Somente UTFB-0018, CNFC 8017, VC 4, VC 5 e Rudá-R foram imunes aos patótipos 29-3 e 63-3. Além dessas, as linhagens Vi-4599, Pérola, VC 2, Vi-0699 e Vi-4899 apresentaram bons níveis de resistência. Entretanto, 13 linhagens das 30 primeiras (Tabela 3), foram suscetíveis, com grau 6, aos dois patótipos avaliados. O patótipo 63-3 apresentou reação de compatibilidade (doença) em 21 das 30 linhagens elites iniciais da Tabela 3, enquanto que o patótipo 29-3 apresentou reação compatível com 15 delas.

**TABELA 3** - Caracterização fenotípica de linhagens elites de feijão (*Phaseolus vulgaris*) a diferentes patótipos de *Phaeoisariopsis griseola* e *Uromyces appendiculatus*

Cultivares	Patótipos de <i>P. griseola</i>							Patótipos de <i>U. appendiculatus</i>	
	31.15	31.23	31.39	63.19	63.23	63.31	63.55	29-3 <sup>2</sup>	63-3 <sup>2</sup>
LP-98-31	8,5 <sup>1</sup>	8,4	1,0	6,1	6,0	7,8	1,3	4,0 <sup>1</sup>	6,0
UTFB-0018	4,5	2,7	1,0	1,0	1,0	5,3	8,3	1,0	1,0
UTF-0029	2,6	3,0	1,0	1,6	1,0	5,6	8,7	6,0	6,0
Vi-4599	4,5	5,6	7,5	2,4	2,7	8,3	8,7	1,0	3,0
GEN 12	1,9	3,2	1,2	1,6	1,0	6,6	4,3	6,0	6,0
UTF-0013	1,2	1,4	1,4	1,0	1,1	5,7	6,9	6,0	6,0
Pérola	5,5	7,8	6,8	4,1	8,9	7,0	8,9	1,0	3,0
LP 98-20	1,0	1,0	4,7	1,0	1,0	1,0	9,0	3,0	5,0
CNFC 9500	8,5	9,0	3,1	7,5	5,5	8,1	7,5	4,6	6,0
VC 2	1,0	1,7	5,4	2,4	1,0	1,1	8,9	1,0	1,3
Carioca 1070	7,9	6,7	7,3	6,8	7,7	8,2	8,6	6,0	6,0
CNFC 8017	7,3	8,4	8,0	6,7	5,8	7,9	8,9	1,0	1,0
VC 4	7,3	8,6	6,1	6,9	7,7	7,9	9,0	1,0	1,0
Vi-0699	6,8	9,0	7,0	5,8	6,7	8,2	8,9	1,3	1,0
GEN 12-2	4,2	3,1	2,8	2,3	2,5	5,8	8,5	6,0	6,0
UTF-0037	2,7	2,1	1,0	1,0	2,6	5,9	6,5	6,0	6,0
FT Bonito	2,1	8,0	1,0	3,8	8,0	8,3	7,8	6,0	6,0
Vi-4899	5,0	7,9	4,6	5,9	8,6	7,7	8,3	2,0	2,0
VC 5	1,4	1,0	4,1	1,0	1,0	1,7	9,0	1,0	1,0
OPS-82	8,7	1,0	2,6	4,8	1,0	3,2	8,3	2,0	6,0
LH-11	7,9	8,2	8,9	4,9	3,6	7,9	9,0	6,0	6,0
UTF-0031	1,0	4,2	1,1	3,9	5,9	5,7	2,6	6,0	6,0
IAPAR-81	3,9	6,8	1,2	5,4	7,8	7,5	7,8	6,0	6,0
UTF-0019	1,2	4,2	2,1	4,6	7,3	7,8	1,3	6,0	6,0
LP 98-76	8,0	8,8	4,7	8,5	5,6	8,0	6,3	3,2	5,0
UTFB-0022	2,1	2,0	1,4	1,5	1,9	4,9	7,3	6,0	6,0
CNFC 9437	7,4	8,3	1,1	8,1	4,9	7,7	1,9	3,2	5,0
Talismã	1,5	2,3	1,3	5,1	1,7	5,7	8,4	1,0	4,0
VC 3	1,0	1,0	7,1	1,0	1,2	1,0	8,8	1,0	4,0
UTF-0030	1,6	8,7	1,6	4,4	4,5	7,3	8,6	6,0	6,0
Rudá-R	1,2	1,0	8,0	1,0	1,0	2,2	9,0	1,0	1,0
Ouro Negro*	6,4	7,5	1,2	8,7	2,0	7,6	2,0	1,2	2,0
Rudá**	9,0	8,8	8,5	9	9,0	9,0	9,0	5,6	6,0
AND 277 <sup>#</sup>	1,6	1,2	1,0	3,2	1,0	2,5	9,0	6,0	6,0

<sup>1</sup>Grau de severidade da doença (média de 10 a 12 plantas); cultivares com graus de severidade média igual ou superior 3,5 foram consideradas suscetíveis. <sup>2</sup>Patótipos caracterizados por Souza (2005). \*Controle resistente para *U. appendiculatus*; <sup>#</sup>Controle resistente de *P. griseola*; \*\*Controle suscetível.

### 3.2. Caracterização molecular das linhagens

Como pode ser observada na Tabela 4, a maioria das linhagens não apresentou os marcadores associados aos genes de resistência à antracnose, ferrugem e mancha angular.

**TABELA 4** - Caracterização molecular de linhagens elites de feijão quanto aos marcadores moleculares ligados a genes de resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular

Cultivar	Marcadores moleculares <sup>1/</sup>				
	SCARAZ20 (Co-6) <sup>2/</sup>	SCARF10 (Co-10)	SCARH13 (Phg-1)	SCARY20 (Co-4)	OPX11 (Ur-ON)
LP-98-31	1 <sup>3/</sup>	1	0	0	1
UTFB-0018	1	0	0	0	0
UTF-0029	1	0	1	0	0
Vi-4599	1	0	1	0	1
GEN 12	1	0	1	0	0
UTF-0013	0	0	1	0	0
Pérola	0	0	0	0	0
LP 98-20	0	1	0	0	0
CNFC 9500	1	0	0	0	1
VC 2	0	0	1	0	0
Carioca 1070	0	0	0	0	0
CNFC 8017	0	0	0	0	0
VC 4	0	0	0	0	0
Vi 0699	0	0	0	0	1
GEN 12-2	0	0	0	0	0
UTF-0037	0	0	0	0	0
FT Bonito	1	0	0	0	0
Vi-4899	1	1	0	0	1
VC 5	1	0	0	0	0
OPS-82	0	0	0	0	1
LH-11	0	0	0	0	0
UTF-0031	0	0	0	0	0
IAPAR-81	0	0	0	0	0
UTF-0019	0	0	0	0	1
LP 98-76	0	1	0	0	0
UTFB-0022	0	1	0	0	0
CNFC 9437	0	1	0	0	0
Talismã	0	0	0	0	0
VC 3	0	0	0	0	0
UTF-0030	0	1	0	0	0
Rudá-R	1	1	1	1	1

<sup>1/</sup>Dados obtidos a partir de nove plantas de cada linhagem, para cada marcador. <sup>2/</sup>alelos de resistência ligados aos respectivos marcadores; <sup>3/</sup>Valor 1 para plantas com presença da marca, valor 0 para plantas com ausência da marca.

Dez linhagens apresentaram o produto de amplificação do marcador SCARAZ20, ligado ao gene de resistência à antracnose (Co-6), oriundo da cultivar diferenciadora AB 136. Oito linhagens apresentaram os marcadores SCARF10 e

OPX11, ligados aos genes de resistência à ferrugem e antracnose (*Ur-ON* e *Co-10*) e ao gene de resistência à ferrugem (*Ur-ON*), respectivamente, provenientes da cultivar Ouro Negro. O marcador SCARH13 foi detectado em seis linhagens; este marcador está ligado ao gene de resistência à mancha angular (*Phg-1*), oriundo da ‘AND 277’. O marcador SCARY20, ligado ao gene *Co-4*, foi detectado somente na isolinha Rudá-R. As linhagens LP-98-31, UTF-0029, Vi-4599C, GEN 12, CNFC 9500 e Vi-4899C apresentaram pelo menos dois dos quatro marcadores utilizados nesse trabalho. Na isolinha Rudá-R, pode-se observar a presença das marcas de resistência para antracnose, ferrugem e mancha angular (Tabela 4), confirmando ser ela portadora de diferentes alelos de resistência aos patógenos avaliados neste trabalho. Esse resultado evidencia a importância da utilização da linhagem Rudá-R como genitora em programas de melhoramento do feijoeiro assistido por marcadores moleculares.

#### 4. DISCUSSÃO

Na avaliação da reação ao patógeno da antracnose, as cultivares TO e AB 136 mostraram-se resistentes a 10 e 12 patótipos de *C. lindemuthianum*, respectivamente (Tabela 2). Esse resultado foi semelhante ao obtido por Rava et al. (1994). Segundo esses autores, somente 3 patótipos, dentre 25 avaliados, induziram reação de compatibilidade com a cultivar TO. Essas cultivares têm sido utilizadas como principais fontes de resistência em diversos programas de melhoramento visando resistência a *C. lindemuthianum*, pois apresentam altos níveis de resistência frente a maioria dos patótipos desse patógeno até então caracterizados (Pastor-Corrales, 1992; Thomazella et al., 2000; Talamini et al., 2002).

De acordo com os resultados do presente estudo, as linhagens UTF-0029, GEN 12, VC 2, GEN 12-2, VC 5, UTFB-0022 e VC 3, além da Rudá-R, comportaram-se como resistentes a maioria dos patótipos de *C. lindemuthianum*. Isso evidencia a importância dessas linhagens como novas fontes de resistência ao patógeno a serem utilizadas como genitores doadores pelos programas de melhoramento, com a vantagem de possuírem características agronômicas desejáveis. Já a cultivar Pérola apresentou suscetibilidade a todos os patótipos de *C. lindemuthianum* testados. Apesar disso, essa cultivar ainda tem sido uma das mais cultivadas no Estado de Minas Gerais e no País, devido ao seu bom potencial de rendimento e excelentes qualidades tecnológicas dos grãos.

A cultivar Ouro Negro apresentou reação incompatível com oito dos 13 patótipos testados, indicando que é uma cultivar de amplo espectro de resistência à antracnose. Todavia, mostrou-se suscetível ao patótipo 65 conforme já relatado em outros trabalhos (Ragagnin et al., 2003; Faleiro et al., 2004); vale salientar que esse patótipo possui ampla distribuição no território nacional (Rava et al., 1994).

Em relação à avaliação das linhagens com o patógeno da mancha angular (Tabela 3), observou-se que ‘AND 277’ comportou-se como resistente a seis dos sete patótipos de *P. griseola* testados. Trabalhos anteriores já relataram que essa cultivar é uma excelente fonte de resistência à mancha angular (Carvalho et al., 1998; Nietsche et al., 2000). Além da ‘AND 277’, 13 linhagens avaliadas no presente estudo apresentaram bons níveis de resistência à *P. griseola*, com destaque para a ‘LP 98-20’ imune a cinco

patótipos. Por outro lado a cultivar Pérola comportou-se como suscetível a todos os patótipos avaliados no presente estudo, semelhante ao relatado por Faleiro et al. (2001).

Para as linhagens avaliadas, observou-se ampla variabilidade quanto à reação aos patótipos de *P. griseola* testados, resultado que pode ser explicado pela grande variabilidade patogênica apresentada pelo fungo (Pastor-Corrales e Jara, 1995; Nietsche et al., 2001). O patótipo 63.55 foi o mais virulento causando reação de compatibilidade na maioria das linhagens avaliadas. As linhagens LP-98-31, UTF-0031, UTF-0019 e CNFC 9437 foram as únicas que apresentaram resistência a esse patótipo.

Na avaliação da reação a ferrugem (Tabela 3), verificou-se que 24 linhagens foram suscetíveis a pelo menos um dos dois patótipos de *U. appendiculatus* em estudo. A isolinha Rudá-R e outras quatro linhagens (UTFB-0018, CNFC 8017, VC 4 e VC 5), apresentaram grau 1 de severidade, ou seja, foram imunes aos dois patótipos utilizados neste trabalho. Neste ensaio, a cultivar Pérola apresentou como resistente aos dois patótipos utilizados. Embora os resultados obtidos permitiram considerar que algumas das linhagens avaliadas são boas fontes de resistência à ferrugem para serem utilizadas em programas de melhoramento do Brasil, estudos adicionais devem ser realizados com o intuito de verificar a reação dessas linhagens a outros patótipos de *U. appendiculatus*.

Deve-se ressaltar também a resistência à ferrugem da cultivar Ouro Negro. Desde o seu lançamento a Ouro Negro tem se mostrado resistente e por isso vem sendo utilizada nos programas de melhoramento de feijão que utilizam hibridação, como importante doadora de genes de resistência à ferrugem, conferindo resistência a todos os patótipos de *U. appendiculatus* já caracterizados no Brasil (Faleiro et al., 2004). Além disso, ela apresenta resistência a importantes patótipos de *C. lindemuthianum* (Ragagnin et al., 2003), resultado observado também neste estudo (Tabela 2).

As linhagens Vi-0699, Vi-4599 e Vi-4899 apresentaram espectro de resistência à ferrugem bastante semelhante ao da cultivar Ouro Negro, com destaque para a Vi-0699. Esse resultado era esperado pelo fato dessas linhagens serem provenientes de retrocruzamentos assistido por marcadores moleculares que usou como genitores as cultivares Rudá (recorrente) e Ouro Negro (doador) (Faleiro et al., 2004). Além disso, as linhagens Vi-0699 e Vi-4899 também foram muito similares à ‘Ouro Negro’, quanto à reação aos patótipos de *C. lindemuthianum* testados no presente estudo (Tabela 2). Recentemente, a linhagem Vi-4899, considerada a de maior espectro de resistência entre as três citadas acima, foi avaliada em 16 ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU), conduzidos na região sul e indicada para plantio nas épocas da safra e safrinha nos

Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná com o nome fantasia BRSMG Pioneiro (Moreira et al., 2005).

As linhagens VC 2, VC 5 e VC 3, além da isolinha Rudá-R foram as que apresentaram maior espectro de resistência aos três patógenos avaliados, simultaneamente. Essas linhagens são importantes fontes de resistência que podem ser utilizadas nos diferentes programas de melhoramento, em diferentes esquemas de intercruzamentos e seleções, com o objetivo de obter novas cultivares com resistência múltipla aos patógenos.

No caso da cultivar Pérola, há uma necessidade urgente dos programas demandarem esforços para desenvolver linhagens resistentes oriundas de seu *background*, referente principalmente à resistência à antracnose e mancha angular, o que já está sendo priorizado por alguns pesquisadores (Melo et al., 2005; Sanglard et al., 2005).

Os resultados da caracterização molecular referentes aos marcadores ligados aos genes de resistência à antracnose, ferrugem e mancha angular evidenciaram a possibilidade de promover seleção indireta, sem necessidade de inoculações prévias, na transferência dos respectivos genes de resistência (*Co-4*, *Co-6* e *Co-10*; *Ur-ON*; e *Phg-1*) para as linhagens aqui avaliadas, por meio de cruzamentos dessas com a isolinha Rudá-R. A maioria das linhagens elites foram polimórficas com a ‘Rudá-R’, a todos os marcadores analisados neste trabalho. A isolinha Rudá-R apresentou todas as marcas ligadas aos genes de resistência analisadas no presente estudo, resultado que está de acordo com a caracterização fenotípica (Tabelas 2 e 3) e confirma os resultados obtidos por Ragagnin (2004).

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que a maioria das linhagens elites de grãos tipo carioca avaliadas não possui níveis satisfatórios de resistência múltipla à antracnose, ferrugem e mancha angular, evidenciando a necessidade de maior empenho dos programas de melhoramento do feijoeiro no sentido de desenvolver linhagens com amplo espectro de resistência, para serem testadas em ensaios regionais de Valor de Cultivo e Uso (VCU). Entretanto, a presença de linhagens resistentes aos patógenos avaliados possibilita aos melhoristas optarem por genótipos mais adaptados, na tentativa de desenvolver cultivares com resistência múltipla a essas doenças.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente estudo teve como objetivo realizar a caracterização fenotípica e molecular de 30 linhagens elites de feijão do tipo carioca, oriundas de diversos programas de melhoramento do país, quanto à reação à *C. lindemuthianum*, *U. appendiculatus* e *P. griseola* e aos marcadores ligados aos respectivos alelos de resistência. Para isto, foram realizadas inoculações artificiais com 13 patótipos de *C. lindemuthianum*, 7 patótipos de *P. griseola* e dois patótipos *U. appendiculatus* identificados no Brasil e no exterior. Na condução da caracterização molecular foram coletadas folhas de nove plantas de cada uma das 30 linhagens e da ‘Rudá-R’ para a extração de DNA. Foram utilizados cinco marcadores moleculares, previamente identificados, ligados a diferentes alelos de resistência à *C. lindemuthianum*, *P. griseola* e *U. appendiculatus*. Na avaliação da reação a *C. lindemuthianum*, as linhagens UTF-0029, GEN 12, VC 2, GEN 12-2, UTFB-0022, VC 3 e Rudá-R apresentaram resistência a 12 dos 13 patótipos de *C. lindemuthianum* testados, indicando que essas linhagens são promissoras fontes de resistência à antracnose. Entretanto, seis linhagens, entre elas a ‘Pérola’, foram suscetíveis a 11 dos 13 patótipos de *C. lindemuthianum*. Na avaliação da reação à mancha angular, 12 linhagens apresentaram resistência a 5 dos 7 patótipos de *P. griseola* inoculados. Na avaliação da reação à ferrugem, apenas as linhagens UTFB-0018, CNFC 8017, VC 4, VC 5 e ‘Rudá-R’ foram imunes aos patótipos 29-3 e 63-3 de *U. appendiculatus*. Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que a maioria das linhagens avaliadas não possui níveis satisfatórios de resistência à antracnose, ferrugem e mancha angular. Contudo, a presença do polimorfismo molecular das linhagens com a ‘Rudá-R’ indica a possibilidade de uso dos marcadores moleculares SCARF10<sub>1050a</sub>, SCARY20<sub>830a</sub>, SCARAZ20<sub>845a</sub>, SCARH13<sub>520a</sub> e OPX11<sub>550a</sub> em um programa de seleção assistida, visando resistência a patógenos no melhoramento genético do feijoeiro.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A. de F.B.; RAMALHO, M.A.P.; CARNEIRO, J.E.S.; GONÇALVES, F.M.A.; SANTOS, J.B.; DEL PELOSO, M.J.; FARIA, L.C.; CARNEIRO, G.E.S.; PEREIRA FILHO; I.A. 'BRSMG TALISMÃ': Common bean cultivars with carioca grain type. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 319-320, 2004.
- ALZATE-MARIN, A.L.; CERVIGNI, G.D.L.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**. 30: 333-342, 2005.
- ALZATE-MARIN, A.L.; SARTORATO, A. Analysis of the pathogenic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* in Brazil. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 241-242, 2004.
- BALARDIN, R.S.; JAROSZ, A.; KELLY, J.D. Virulence and molecular diversity in *Colletotrichum lindemuthianum* from South, Central and North America. **Phytopathology**. 87: 1184-1191, 1997.
- BRODY, J.R.; KERN, S.E. Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis. **BioTechniques**. 36: 214-216, 2004.
- CARRIJO, I.V.; CHAVES, G.M.; PEREIRA, A.A. Reação de vinte e cinco variedades de *Phaseolus vulgaris* a trinta e nove raças fisiológicas de *Uromyces phaseoli* var, *typica* Arth., em condições de casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**. 5: 245-255, 1980.
- CARVALHO, G.A.; PAULA JÚNIOR, T.J.; ALZATE-MARIN, A.L.; NIETSCHKE, S.; BARROS, E.G.; & MOREIRA, M.A. Herança da resistência da linhagem AND 277 de feijoeiro-comum à raça 63.23 de *Phaeoisariopsis griseola* e identificação de marcador RAPD ligado ao gene de resistência. **Fitopatologia Brasileira**. 23:482-485, 1998.
- DAVISON, A.D.; VAUGHAN, E.K. Effect of uredospore concentration on determination of races of *Uromyces phaseoli* var. *phaseoli*. **Phytopathology**. 54: 336-338, 1964.
- DEL PELOSO, M.J.; MELO, L.C.; FARIA, J.C.; COSTA, J.G.C.; RAVA, C.A.; CARNEIRO, G.E.S.; SOARES, D.M.; DÍAZ, J.L.C.; ABREU, A.de F.B.; FARIA, J.C.; SARTORATO, A.; SILVA, H.T.; BASSINELLO, P.Z.; ZIMMERMANN, F.J.P. 'BRS PONTAL': New common bean cultivar with carioca grain type. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 323-324, 2004.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**. 12: 13-15, 1990.
- FALEIRO, F.G.; NIETSCHKE, S.; RAGAGNIN, V.A.; BORÉM, A.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Resistência de cultivares de feijoeiro-comum à ferrugem e à mancha-angular em condições de casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**. 26: 86-89, 2001.

FALEIRO, F.G.; RAGAGNIN, V.A.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Use of molecular markers to accelerate the breeding of common bean lines resistant to rust and anthracnose. **Euphytica**. 138: 213-218, 2004.

FALEIRO, F.G.; VINHADELLI, W.S.; RAGAGNIN, V.A.; CORRÊA, R.X.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. RAPD markers linked to a block of genes conferring rust resistance to the common bean. **Genetics and Molecular Biology**. 23: 399-402, 2000.

FALEIRO, F.G.; VINHADELLI, W.S.; RAGAGNIN, V.A.; ZAMBOLIM, L.; PAULA JÚNIOR, T.J.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Identificação de raças fisiológicas de *Uromyces appendiculatus* no estado de Minas Gerais, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**. 24: 166-169, 1999.

FARIA, L.C.; COSTA, J.G.C.; RAVA, C.A.; DEL PELOSO, M.J.; MELO, L.C.; CARNEIRO, G.E.S.; SOARES, D.M.; DÍAZ, J.L.C.; ABREU, A.de F.B.; FARIA, J.C.; SARTORATO, A.; SILVA, H.T.; BASSINELLO, P.Z.; ZIMMERMANN, F.J.P. 'BRS REQUINTE': New common bean carioca cultivar with delayed grain darkness. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 315-316, 2004.

LANZA, M.A.; PAULA JÚNIOR, T.J.; VINHADELI, W.S.; MORANDI, M.A.B.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Resistência à antracnose em cultivares de feijoeiro-comum recomendadas para Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**. 22: 560-562, 1997.

MELO, C.L.P.; CARNEIRO, J.E.S.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A.; CARNEIRO, P.C.S.; SILVA, L.C.; TEIXEIRA, A.L. Performance of resistant "carioca-type" bean lines from the cross Pérola x Ouro Negro. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 48: 180-181, 2005.

MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G.; CARNEIRO, J.E.S.; FALEIRO, F.G.; FARIA, L.C.; CARNEIRO, G.E.S.; DEL PELOSO, M.J.; PAULA JÚNIOR, T.J.; ABREU, A.F.B.; RAMALHO, M.A.P.; MELO, L.C.; SANTOS, J.B.; RAVA, C.A.; COSTA, J.G.C.; SARTORATO, A.; FARIA, J.C. BRSMG Pioneiro: Nova Cultivar de Feijoeiro Comum de Grãos Tipo Carioca com Alelos de Resistência à Antracnose e Ferrugem, Indicada para o Sul do Brasil. **Comunicado Técnico 113**. Santo Antônio do Goiás, GO. p. 1-6, ISSN 1678-961X, 2005.

NIETSCHKE, S.; BORÉM, A.; ROCHA, R.C.; CAIXETA, E.T.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Fontes de resistência à mancha-angular do feijoeiro-comum no Brasil. **Revista Ceres**. 47: 567-572, 2000.

NIETSCHKE, S.; BORÉM, A.; CARVALHO, G.A.; PAULA JÚNIOR, T.J.; FERREIRA, C.F.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in the State of Minas Gerais, Brazil. **Euphytica**. 117: 77-84, 2001.

PASTOR-CORRALES, M.A. Recomendaciones y acuerdos del primer taller de antracnosis en América Latina. In: PASTOR-CORRALES, M.A. (ed.). **La antracnosis del frijol común. Phaseolus vulgaris. en América Latina**. Cali: CIAT. 1992. p.240-250. (Doc. de Trabajo. 113).

PASTOR-CORRALES, M.A.; JARA, C.E. La evolución de *P. griseola* com el frijol comum en América Latina. **Fitopatologia Colombiana**. 19: 15-23, 1995.

PASTOR-CORRALES, M.A.; PAULA JÚNIOR, T.J. Estudo da diversidade genética de *Phaeoisariopsis griseola* no Brasil. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO. 5. 1996. Goiânia. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA-CNPAF. 1996. p.239-241. (Documentos. 69).

PIO-RIBEIRO, G.; CHAVES, G.M. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. que ocorrem em alguns municípios de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro. **Experientiae**. 19: 95-118, 1975.

QUEIROZ, V.T. de. **Obtenção de primers microssatélites e desenvolvimento, validação e mapeamento de marcadores SCAR em feijoeiro-comum**. Tese (Doutorado). Viçosa: UFV, 2004. 155p.

RAGAGNIN, V.A. **Piramidação de genes de resistência à ferrugem, antracnose e mancha-angular em feijão do tipo carioca**. Tese (Doutorado). Viçosa: UFV, 2004. 79p.

RAGAGNIN, V.A.; ALZATE-MARIN, A.L.; SOUZA, T.L.P.O.; ARRUDA, K.M.A.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Avaliação da resistência de isolinhas de feijoeiro a diferentes patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum*, *Uromyces appendiculatus* e *Phaeoisariopsis griseola*. **Fitopatologia Brasileira**. 28: 591-596, 2003.

RAVA, C.A.; PURCHIO, A.; SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**. 19: 167-172, 1994.

SANGLARD, D.A.; SOUZA, T.L.P.O.; SOUSA, C.S.; RAGAGNIN, V.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Molecular marker assisted backcrossing for developing lines with cv. Perola background, resistant to rust, anthracnose and angular leaf spot. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 48: 84-85, 2004.

SARTORATO, A.; ALZATE-MARIN, A.L. Analysis of the pathogenic variability of *Phaeoisariopsis griseola* in Brazil. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 235-236, 2004.

SARTORATO, A.; DEL PELOSO, M.J.; RAVA, C.A.; COSTA, J.G.C.; FARIA, L.C.; MELO, L.C. Bean reactions to 24 pathotypes of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 247-248, 2004.

SOUZA, T.L.P.O. **Classificação de raças fisiológicas de *Uromyces appendiculatus* e piramidação de genes de resistência ao patógeno em feijão do tipo carioca**. Tese (Mestrado). Viçosa: UFV, 2005. 98p.

STAVELY, J.R.; FREYTAG, G.F.; STEADMAN, J.R.; SCHWARTZ, H.F. The Bean Rust Workshop. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 26: iv-vi, 1983.

STAVELY, J.R.; PASTOR-CORRALES, M.A. Royá. In: PASTOR-CORRALES, M.A.A.; SCHWARTZ, H.F. (eds.). **Problemas de producción del frijol en los trópicos**. 2.ed. Cali: CIAT. 1994. p.185-225.

STEADMAN, J.R.; PASTOR-CORRALES, M.A.; BEAVER, J.S. An overview of the 3<sup>rd</sup> bean rust and 2<sup>nd</sup> bean common bacterial blight international workshops, march 4-8, 2002, Pietermaritzburg, South Africa. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. 45:120-125, 2002.

TALAMINI, V.; SOUZA, E.A.; POZZA, E.A.; FERNANDEZ, F.R.; ISHIKAWA, F.H. Identificação de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* de regiões produtoras de feijão-comum em Minas Gerais. In: VII Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão. 2002. **Anais...** Viçosa: MG. 2002. p. 187-189.

THOMAZELLA, C.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDA, J.B.; VIDIGAL FILHO, P.S.; RIMOLDI, F. Identification of *Colletotrichum lindemuthianum* races in *Phaseolus vulgaris* L. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 43:82-83, 2000.

VAN SCHOONHOVEN, A.; PASTOR-CORRALES, M.A. (comps.). **Standard system for evaluation of bean germplasm**. (CIAT) Cali. Colômbia. 1987.

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

WILLIAMS, J.G.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, L.A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are use useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**. 18: 6531-6535, 1990.

## CAPÍTULO 2

### PREDIÇÃO DO POTENCIAL GENÉTICO DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO DO TIPO CARIOCA

#### 1. INTRODUÇÃO

No melhoramento de plantas autógamas, quando se utiliza hibridação, uma decisão importante, da qual depende o sucesso de todo o trabalho de seleção é a escolha das populações segregantes capazes de produzir progênes com combinações genéticas favoráveis. Neste caso, além do desempenho médio, a variabilidade existente é de suma importância, porque a população segregante obtida pode expressar alta média e variância genética pequena, que ocorre quando os genitores cruzados apresentam constituições genéticas semelhantes para o caráter em apreço (Ramalho et al., 1993).

A escolha cuidadosa das populações pode levar a uma sensível economia de custos e tempo, pois permite que o programa explore somente aquelas com maior potencial para seleção. Nesse sentido, algumas metodologias têm sido indicadas (Singh and Urrea, 1995; Oliveira et al., 1996; Santos et al., 2001; Carneiro, 2002). Uma delas é a apresentada por Jinks e Pooni (1976), que possibilita predizer o potencial de uma dada população em gerar linhagens superiores a um determinado padrão na geração  $F_{\infty}$ , utilizando, para isso, estimativas de média e variância nas gerações iniciais. Dessa forma, essa metodologia torna possível o descarte de populações indesejáveis, logo no início do programa.

A metodologia de Jinks e Pooni (1976) baseia-se no fato de que, para características quantitativas controladas por no mínimo seis genes, os valores médios fenotípicos das linhagens (na geração  $F_{\infty}$ ) extraídas sem seleção de um cruzamento entre duas linhagens homozigóticas, seguem a uma distribuição normal. Assim, usando as propriedades de uma distribuição normal é possível estimar a probabilidade de ocorrência de linhagens com valor médio fenotípico que supere um dado padrão. Para a sua aplicação, considera-se que a média da geração  $F_2$  ou  $F_3$  é igual à média da

população na geração  $F_{\infty}$ . Vale ressaltar que esta pressuposição é válida na ausência de efeitos de dominância na determinação do caráter.

Um dos trabalhos pioneiros demonstrando a eficiência da metodologia de Jinks e Pooni (1976), foi o experimento realizado por Triller e Toledo (1996), com a cultura da soja. Os resultados evidenciaram que a predição do potencial genético de cruzamentos para a extração de linhas puras transgressivas usando a média e a variância dos pais e da geração  $F_3$  é de alta eficiência, principalmente para características com herdabilidade de média a alta. No caso de características como produtividade de grãos, com herdabilidade normalmente moderada a baixa, essa metodologia pode ter boas possibilidades de sucesso. Além disso, os autores recomendam, na presença da interação entre genótipos e ambientes, a utilização de mais de uma população de referência e a avaliação em mais de um ambiente.

Outros trabalhos em espécies como o fumo (Toledo, 1986), trigo (Snape, 1982) e arroz (Santos et al., 2001) têm confirmado a eficiência dessa metodologia. No caso do feijoeiro, vários estudos têm também evidenciado a importância desse método na seleção de populações promissoras com vistas à extração de linhagens superiores (Otubo et al., 1996; Oliveira et al., 1996; Melo et al., 1997; Abreu et al., 2002). Contudo, na maioria dos trabalhos foram realizados cruzamentos dialélicos inter-intraraciais ou entre diferentes grupos comerciais envolvendo, em certos casos, muitos genitores na obtenção dos cruzamentos. Pouco se tem explorado populações oriundas de cruzamentos biparentais dentro do mesmo conjunto gênico e/ou mesmo grupo comercial, ou seja, cruzamentos ditos direcionados (Carneiro, 2002; Oliveira et al., 2003) para o estudo da eficiência da metodologia proposta por Jinks e Pooni (1976).

Nesse contexto, o presente trabalho teve o objetivo avaliar o comportamento de 29 populações segregantes de feijoeiro do tipo carioca oriundas de híbridos simples e prever o potencial dessas populações com vista à identificação das mais promissoras para extração de linhagens superiores, no que se refere à produtividade de grãos, por meio da metodologia de Jinks e Pooni (1976).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material Genético

Foram utilizados, como genitores, 29 linhagens elites de feijão tipo carioca (Tabela 1), portadoras de fenótipos de interesse e a isolinha Rudá-R.

As 29 linhagens elites foram cruzadas com a isolinha Rudá-R, obtendo-se assim 29 híbridos simples (HS). Esta isolinha é portadora de alelos específicos de resistência aos patógenos causadores da antracnose (*Co-4*, *Co-6*, *Co-10*), mancha angular (*Phg-1*) e ferrugem (*Ur-ON*) (Ragagnin, 2004).

Os cruzamentos foram realizados utilizando o método sem emasculação (Buishand, 1956). As sementes F<sub>1</sub> foram multiplicadas, visando obter as sementes F<sub>2</sub>.

**TABELA 1** - Genitores utilizados na obtenção das populações segregantes

Genitores				
LP-98-31(1) <sup>1</sup>	Pérola (7)	VC 4 (13)	VC 5 (19)	LP-98-76 (25)
UTFB-0018 (2)	LP-98-20 (8)	Vi 0699C (14)	OPS-82 (20)	UTFB-0022 (26)
UTF-0029 (3)	CNFC 9500 (9)	GEN 12-2 (15)	LH-11 (21)	CNFC 9437 (27)
Vi-4599C (4)	VC 2 (10)	UTF-0037 (16)	UTF-0031 (22)	Talismã (28)
GEN 12 (5)	Carioca 1070 (11)	FT Bonito (17)	IAPAR-81 (23)	UTF-0030 (29)
UTF-0013 (6)	CNFC 8017 (12)	Vi-4899C (18)	UTF-0019 (24)	Rudá-R (30)

<sup>1</sup>Valores entre parênteses referem-se ao número do genitor.

### 2.2. Avaliação das populações segregantes

As 29 populações segregantes foram avançadas em “bulk” e avaliadas as gerações F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>, nas safras da seca de 2004 e de 2005, utilizando o delineamento em blocos completamente aleatorizados, com três repetições, com parcelas de quatro linhas de quatro metros de comprimento, espaçadas de 0,5m numa densidade de, aproximadamente, 15 sementes por metro. Como testemunhas foram utilizados os genitores Pérola, Talismã e Rudá-R.

Os experimentos foram conduzidos na Estação Experimental de Coimbra – Coimbra/MG (690m de altitude, 20°45’ S de latitude e 42°51’ W de longitude) pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os experimentos foram instalados utilizando-se o plantio convencional e o suprimento de água, nos períodos de deficiência hídrica, foi mantido por irrigações suplementares. No plantio, foi empregado o equivalente a 350 kg ha<sup>-1</sup> do fertilizante formulado 8-28-16

de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O e, aos 25 dias após a emergência das plantas, 150 kg ha<sup>-1</sup> de sulfato de amônio, em cobertura. Outras práticas culturais, como o controle de plantas daninhas, foram realizadas de acordo com o recomendado para a cultura. O controle de doenças não foi realizado em nenhum dos experimentos e o de pragas antes que as populações atinjam níveis de dano econômico.

### 2.3. Análise genético-estatística - avaliação das populações F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>

Os dados de produtividade de grãos foram, inicialmente, submetidos à análise de variância por experimento, considerando todos os efeitos como fixos, exceto o erro médio, conforme o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + b_j + e_{ij}, \text{ em que}$$

$Y_{ij}$  é a observação referente ao tratamento  $i$  dentro do bloco  $j$ ;

$\mu$  é a média geral do experimento;

$t_i$  é o efeito do tratamento  $i$  ( $i = 1, 2, \dots, 32$ ), pressupondo  $\sum_{i=1}^n t_i = 0$ ;

$b_j$  é o efeito do bloco  $j$  ( $j = 1, 2$  e  $3$ );

$e_{ij}$  é o erro experimental associado à observação  $Y_{ij}$ , assumindo  $e_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma_e^2)$ .

Posteriormente, foi realizada a análise de variância conjunta das duas safras, conforme Ramalho et al. (2005). Inicialmente foi aplicado o teste F máximo de Hartley, verificando a homogeneidade da variância residual, indicando, assim, a possibilidade de realização da referida análise sem o ajuste de graus de liberdade. Todos os efeitos foram considerados como fixos, exceto o erro médio, conforme o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + a_k + (ta)_{ik} + b/a_{j(k)} + e_{ijk}, \text{ em que}$$

$Y_{ijk}$  é a observação referente ao tratamento  $i$  dentro do bloco  $j$ , no ano  $k$ ;

$\mu$  é a média geral;

$t_i$  é o efeito do tratamento  $i$  ( $i = 1, 2, \dots, 32$ );

$a_k$  é o efeito do  $k$ -ésimo ano ( $k = 1, 2$ );

$(ta)_{ik}$  é o efeito da interação do  $i$ -ésimo tratamento com o  $k$ -ésimo ano;

$b/a_{j(k)}$  é o efeito do  $j$ -ésimo bloco dentro do  $k$ -ésimo ano ( $j = 1, 2, 3$ );

$e_{ijk}$  é o erro aleatório associado à observação  $Y_{ijk}$ .

Foram tomados também dados de aspecto comercial dos grãos na safra da seca de 2005. Para avaliar o aspecto do grão na geração F<sub>3</sub>, utilizou-se uma escala de notas de 1 a 5 (Marques Jr. et al., 1997). De acordo com essa escala, quanto menor a nota melhor o aspecto do grão carioca, ou seja, cor creme claro do tegumento com estrias marrons claras. Realizou-se, assim, uma análise de variância individual para o referido caráter utilizando o mesmo modelo estatístico empregado para a produtividade de grãos.

Foi realizado o teste de Dunnett (Vieira, 1999) para comparar as médias de produtividade de grãos e aspecto comercial dos grãos. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do Programa GENES (Cruz, 2006).

As estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos foram obtidas na geração F<sub>3</sub>, por meio dos dados de produção de grãos por planta, utilizando-se uma das linhas centrais da parcela. Inicialmente, foi estimada a variância fenotípica ( $\sigma_{P_i}^2$ ) de cada parcela e, posteriormente, a média das variâncias das parcelas que receberam os mesmos tratamentos nas diferentes repetições, tanto para as populações quanto para as testemunhas.

No caso das testemunhas, a estimativa da variância fenotípica corresponde à variância ambiental ( $\sigma_E^2$ ). Esta foi obtida com base na média das variâncias fenotípicas ( $\sigma_{P_i}^2$ ) das testemunhas (Pérola, Talismã e Rudá-R). Entretanto no caso das populações segregantes, a variância fenotípica contém, além da variância ambiental, a variância genotípica. Dessa forma, foram estimadas a variância genética ( $\hat{\sigma}_{G_i}^2$ ) e a herdabilidade no sentido amplo ( $h_{a_i}^2$ ), para cada população, pelas seguintes expressões:

$$\hat{\sigma}_{G_i}^2 = \hat{\sigma}_{P_i}^2 - \hat{\sigma}_E^2$$

$$h_{a_i}^2 = \frac{\hat{\sigma}_{G_i}^2}{\hat{\sigma}_{P_i}^2}$$

#### 2.4. Predição do potencial genético das populações segregantes

A probabilidade de cada população segregante originar linhagens que superem a produtividade da cultivar Talismã em 20% (PSP), foi obtida conforme metodologia de Jinks e Pooni (1976). Essa probabilidade corresponde à área à direita de um determinado valor de  $\mathbf{x}$  na abscissa da distribuição normal, calculada utilizando-se as propriedades de uma distribuição normal padronizada, estimando a variável  $\mathbf{Z}$  pela

expressão  $Z = (x - m) / s$ , em que  $\bar{x}$  é a média da linhagem padrão  $(\bar{L})$  que, no presente trabalho, foi considerada a média da cultivar Talismã acrescida de 20%;  $m$  é a média das linhagens na geração  $F_{\infty}$  que, em um modelo sem dominância, e no presente caso, corresponde à média da geração  $F_3$ , ou seja,  $m = \bar{F}_{ni}$ ; e  $s$  é o desvio-padrão fenotípico entre as linhagens ( $s = \sqrt{\hat{\sigma}_{P_L}^2}$ ).

A variância genética entre as linhagens ( $\sigma_{G_L}^2$ ) corresponde a duas vezes a variância genética aditiva ( $\sigma_A^2$ ) presente na geração  $F_2$ . Considerando um modelo sem dominância, a variância fenotípica da geração  $F_3$  ( $\sigma_{P_3}^2$ ) contém  $1,5 \hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_E^2$ . Portanto,  $\hat{\sigma}_A^2 = 0,666(\hat{\sigma}_{P_3}^2 - \hat{\sigma}_E^2)$ . Considerando que a variância ambiental entre as linhagens seja semelhante à variância ambiental da geração  $F_3$ , tem-se que  $s = \sqrt{\hat{\sigma}_{P_L}^2} = \sqrt{2\hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_E^2} = \sqrt{1,332 \hat{\sigma}_{P_3}^2 - 0,332 \hat{\sigma}_E^2}$ . Neste caso,  $Z_i = \left( \bar{L} - \bar{F}_{3i} \right) / \sqrt{1,332 \hat{\sigma}_{P_{3i}}^2 - 0,332 \hat{\sigma}_E^2}$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Avaliação das populações segregantes (gerações F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>)

Os resumos das análises de variância da produtividade de grãos das populações segregantes nas gerações F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>, nas safras da seca de 2004 e de 2005, respectivamente, e do aspecto de grãos (AG), na seca de 2005, estão apresentados na Tabela 2. De modo geral, na avaliação das populações segregantes, observou-se boa precisão experimental, avaliada pelo coeficiente de variação (CV%), com valores de 10,2% para aspecto dos grãos, e de 9,3% e 7,6% para as safras da seca de 2004 e seca de 2005, respectivamente, para produtividade de grãos. Esses valores estão abaixo dos normalmente observados em experimentos dessa natureza com a cultura do feijoeiro.

**TABELA 2** - Resumos das análises de variância do aspecto de grãos (AG), safra da seca de 2005, da produtividade de grãos (kg ha<sup>-1</sup>), safras da seca de 2004 e de 2005, referentes aos experimentos de avaliação das populações segregantes, gerações F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>. Coimbra-MG

Fonte de Variação	GL	AG	Quadrado Médio	
			Produtividade de grãos (kg ha <sup>-1</sup> )	
			seca 2004 (F <sub>2</sub> )	seca 2005 (F <sub>3</sub> )
Tratamentos	31	0,50**	263.256,28**	117.739,97**
Populações (P)	28	0,40**	276.901,92**	103.825,64*
Testemunhas (T)	2	2,12**	189.145,44**	143.803,11*
P vs T	1	0,09 <sup>ns</sup>	29.400,01 <sup>ns</sup>	455.214,99**
Resíduo	62	0,05	58.600,09	53.480,03
CV (%)		10,20	9,30	7,57
Média Geral		2,31	2603,85	3056,21
Média Populações		2,30	2609,48	3078,36
Média Testemunhas		2,40	2549,44	2842,11

<sup>ns</sup>, \*\* e \* Não significativo e significativo pelo teste F, a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente

Independente da geração (F<sub>2</sub> ou F<sub>3</sub>) observou-se efeito significativo para as fontes de variação populações e testemunhas, tanto para aspecto de grãos como para produtividade (Tabela 2). A significância para populações evidencia variabilidade entre as populações, ou seja, que os pais utilizados nos cruzamentos para a obtenção destas populações segregantes apresentam variabilidade para produtividade e aspecto de grãos.

Considerando a análise conjunta dos dois anos (Tabela 3) observou-se efeito significativo para todas as fontes de variação, exceto para a interação testemunhas x

anos e populações vs testemunhas x anos. O efeito significativo da interação populações x anos, indica a necessidade de avaliar as populações segregantes em diferentes épocas e locais, possibilitando assim identificar, com maior precisão, aquelas com comportamento mais consistente.

**TABELA 3** - Resumo da análise de variância conjunta da produtividade de grãos (kg ha<sup>-1</sup>) referente aos experimentos de avaliação das populações segregantes de feijão, nas safras da seca de 2004 e de 2005. Coimbra-MG

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio
Tratamentos	31	277.175,09**
Populações (P)	28	280.691,18**
Testemunhas (T)	2	187.540,39*
P vs T	1	357.993,83*
Anos (A)	1	9.821.966,02**
Tratamentos x A	31	103.821,16**
P x A	28	100.036,37*
T x A	2	145.408,17 <sup>ns</sup>
P vs T x A	1	126.621,17 <sup>ns</sup>
Resíduo	124	56.040,06
CV (%)		8,36
Média Geral		2830,03
Média Populações		2843,92
Média Testemunhas		2695,77

<sup>ns</sup>, \*\* e \* Não significativo e significativo pelo teste F, a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente.

O desempenho médio das populações segregantes e das testemunhas, avaliadas nas safras da seca de 2004 e 2005, são apresentados na Tabela 4. Nas duas safras a cultivar Talismã foi a mais produtiva, sobressaindo-se na seca de 2005 (3.039 kg ha<sup>-1</sup>).

Na safra da seca de 2004 entre as populações segregantes mais produtivas estiveram HS 6/30, HS 20/30, HS 16/30, HS 12/30, HS 2/30 e HS 3/30. Dentre essas, o HS 6/30 (3.224 kg ha<sup>-1</sup>) merece destaque por ser superior às testemunhas ‘Pérola’ e ‘Rudá-R’ e igual à ‘Talismã’. Além disso, no teste de médias para aspecto dos grãos essa população equiparou-se com as cultivares Talismã e Pérola. Para a safra da seca de 2005, 10 populações (Tabela 4) foram estatisticamente iguais às testemunhas ‘Talismã’ e ‘Rudá-R’. As populações HS 6/30, HS 20/30, HS 16/30 e HS 12/30 de bom desempenho nesta safra, também sobressaíram na safra anterior.

**TABELA 4** - Médias de produtividade de grãos (kg ha<sup>-1</sup>) e aspecto de grãos (AG) referentes às populações segregantes e às testemunhas. Coimbra, MG

Populações	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )			
	seca 2004	seca 2005	Média	AG
HS 6/30	3224,3 a <sup>(1)</sup>	3313,3 a c	3268,8 a	2,1 ab
HS 20/30	3075,3 ab	3409,0 a c	3242,2 a	2,5 b
HS 16/30	3057,5 ab	3286,3 a c	3171,9 ab	2,2 ab
HS 12/30	2922,0 ab	3251,3 a c	3086,7 abc	2,8 c
HS 8/30	2737,0 abc	3297,0 a c	3017,0 abc	2,3 ab
HS 5/30	2822,0 abc	3187,7 a c	3004,8 abc	2,7
HS 11/30	2739,3 abc	3230,3 a c	2984,8 abc	2,8 c
HS 21/30	2772,7 abc	3121,7 abc	2947,2 abc	2,1 ab
HS 2/30	2941,7 ab	2950,0 abc	2945,8 abc	2,3 ab
HS 3/30	2935,0 ab	2909,3 abc	2922,1 abc	2,5 b
HS 29/30	2637,0 abc	3151,7 abc	2894,3 abc	2,2 ab
HS 4/30	2742,0 abc	3033,7 abc	2887,8 abc	2,8 c
HS 19/30	2577,0 abc	3192,7 a c	2884,8 abc	2,2 ab
HS 10/30	2673,7 abc	3087,0 abc	2880,3 abc	1,8 ab
HS 27/30	2625,3 abc	3133,3 abc	2879,3 abc	2,1 ab
HS 18/30	2556,0 abc	3195,0 a c	2875,5 abc	2,7
HS 14/30	2671,0 abc	2949,7 abc	2810,3 abc	2,5 b
HS 7/30	2458,3 abc	3159,7 abc	2809,0 abc	2,3 ab
HS 28/30	2397,0 abc	3204,0 a c	2800,5 abc	2,5 b
HS 9/30	2592,7 abc	2992,7 abc	2792,7 abc	2,3 ab
HS 25/30	2507,7 abc	2985,3 abc	2746,5 abc	2,6 b
HS 1/30	2404,3 abc	3080,3 abc	2742,3 abc	2,0 ab
HS 26/30	2517,7 abc	2728,3 abc	2623,0 abc	2,0 ab
HS 22/30	2181,3 abc	3054,7 abc	2618,0 abc	2,1 ab
HS 15/30	2075,0 bc	3145,0 abc	2610,0 abc	1,2
HS 23/30	2399,3 bc	2819,7 abc	2609,5 abc	2,1 ab
HS 24/30	2150,0 bc	3031,0 abc	2590,5 abc	2,7
HS 13/30	2294,3 abc	2738,3 abc	2516,3 abc	2,3 ab
HS 17/30	1988,0 c	2634,3 abc	2311,2 bc	1,8 ab
<b>Média das populações</b>	<b>2609,5</b>	<b>3078,4</b>	<b>2843,9</b>	<b>2,3</b>
Talismã	2758,7 a	3039,0 a	2898,8 a	1,8 a
Pérola	2618,6 b	2606,3 b	2612,5 b	2,0 b
Rudá-R	2271,0 c	2881,0 c	2576,0 c	3,4 c
<b>Média das testemunhas</b>	<b>2549,4</b>	<b>2842,1</b>	<b>2695,8</b>	<b>2,4</b>

<sup>(1)</sup>Médias seguidas pelas letras a, b, e/ou c, na coluna, não diferem das testemunhas Talismã, Pérola e/ou Rudá-R, respectivamente, pelo teste de Dunnett a 1% de probabilidade.

Observa-se que a produtividade média das populações foi maior na safra da “seca” de 2005, 3.078,4 kg ha<sup>-1</sup>, com amplitude de variação de 774,7 kg ha<sup>-1</sup> (3.409-2.634,3 kg ha<sup>-1</sup>). Na média geral, as populações HS 6/30 (3.268,8 kg.ha<sup>-1</sup>), HS 20/30 (3.242,2 kg ha<sup>-1</sup>), e HS 16/30 (3.171,9 kg ha<sup>-1</sup>) foram as que apresentaram os melhores desempenhos. Em contrapartida, a população HS 17/30 (2.311,2 kg ha<sup>-1</sup>) foi a de pior desempenho médio.

O aspecto de grãos apresentou uma amplitude de variação de 2,2, com a maior nota obtida na isolinha Rudá-R (3,4) e a menor na população HS 15/30 (1,2). Esta última, de acordo com o observado, foi a que apresentou o melhor aspecto comercial dos grãos carioca. No geral, dezessete populações equipararam-se, quanto ao aspecto dos grãos, às cultivares Talismã e Pérola. Já as populações HS 4/30, HS 11/30 e HS 12/30 foram semelhantes à isolinha Rudá-R, ou seja, apresentaram grãos tipo carioca fora do padrão comercial.

### **3.2. Seleção de populações segregantes baseado no procedimento de Jinks e Pooni (1976)**

Para a predição do potencial produtivo das populações segregantes, foi feita uma avaliação da produtividade por planta dentro de cada população, na geração F<sub>3</sub>, de acordo com a metodologia proposta por Jinks e Pooni (1976).

A cultivar Talismã foi utilizada como padrão para a predição do potencial das populações segregantes avaliadas neste trabalho, pois foi a que apresentou a maior média de produtividade (g/planta), além do desempenho superior nas duas safras em relação às demais testemunhas utilizadas neste estudo. Para isso, considerando que se deseja obter linhagens com produtividade superior à Talismã, a produtividade da cultivar padrão foi acrescida de 20% ( $\bar{L} = 15,19$  gramas/planta).

Na Tabela 5, encontram-se as estimativas da média em gramas.planta<sup>-1</sup> da geração F<sub>3</sub> das populações avaliadas, as variâncias fenotípica, genética, herdabilidades no sentido amplo e dos valores de Z seguidos das suas respectivas porcentagens (PSP), que indicam a probabilidade de extrair linhagens superiores a cultivar Talismã em uma determinada população.

**TABELA 5** - Média de produção de grãos por planta (g/planta), variâncias fenotípica ( $\sigma_{Pi}^2$ ), genética ( $\sigma_{Gi}^2$ ), herdabilidade ( $h^2$ ), valor de Z e suas respectivas probabilidades (PSP), para cada população F<sub>3</sub>. Coimbra, MG

Populações	Produção (g/planta)	$\sigma_{Pi}^2$	$\sigma_{Gi}^2$	$h^2$	Zi	PSP (%)
HS 20/30	14,20	99,30	38,43	0,39	0,09	46,41
HS 6/30	13,81	90,49	29,62	0,33	0,14	44,43
HS 11/30	13,46	105,41	44,54	0,42	0,16	43,64
HS 8/30	13,74	76,32	15,45	0,20	0,16	43,64
HS 12/30	13,55	85,74	24,87	0,29	0,17	43,25
HS 16/30	13,69	68,64	7,77	0,11	0,18	42,86
HS 27/30	13,06	92,84	31,97	0,34	0,21	41,68
HS 29/30	13,13	88,65	27,78	0,31	0,21	41,68
HS 15/30	13,10	82,32	21,45	0,26	0,22	41,29
HS 5/30	13,28	74,16	13,29	0,18	0,22	41,29
HS 19/30	13,30	72,11	11,24	0,16	0,22	41,29
HS 21/30	13,01	74,41	13,54	0,18	0,25	40,13
HS 2/30	12,29	103,75	42,88	0,41	0,27	39,36
HS 9/30	12,47	90,53	29,66	0,33	0,27	39,36
HS 7/30	13,17	58,00	-2,87	-	0,27	39,36
HS 25/30	12,44	86,89	26,02	0,30	0,28	38,97
HS 18/30	13,31	48,06	-12,81	-	0,28	38,97
HS 24/30	12,63	71,98	11,11	0,15	0,29	38,59
HS 1/30	12,83	65,98	5,11	0,08	0,29	38,59
HS 28/30	13,35	44,58	-16,29	-	0,29	38,59
HS 10/30	12,86	59,19	-1,68	-	0,30	38,21
HS 14/30	12,29	75,97	15,10	0,20	0,32	37,45
HS 26/30	11,37	111,03	50,16	0,45	0,34	36,69
HS 22/30	12,73	55,16	-5,71	-	0,34	36,69
HS 13/30	11,41	89,43	28,56	0,32	0,38	35,19
HS 23/30	11,75	71,60	10,73	0,15	0,40	34,46
HS 4/30	12,64	44,34	-16,53	-	0,41	34,09
HS 3/30	12,12	48,99	-11,88	-	0,46	32,27
HS 17/30	10,98	45,59	-15,28	-	0,66	25,46
Talismã <sup>(1)</sup>	12,66	58,75				
Pérola <sup>(1)</sup>	10,86	65,05				
Rudá-R <sup>(1)</sup>	12,00	58,81				
Média Testemunhas	11,84	60,87				

<sup>(1)</sup>Testemunhas; - Impossibilidade de obter  $h^2$ , em razão da variância genética negativa.

A variância ambiental (60,87), utilizada neste trabalho para o cálculo dos valores de Zi de cada população, equivale à média das variâncias fenotípicas das três testemunhas. Em relação às médias de produção de grãos por planta, verifica-se que não

houve grande variação entre as populações HS 20/30 (14,20 g/planta) e HS 17/30 (10,98 g/planta). A correlação encontrada entre a média geral da população (Tabela 4) e a média por planta de cada população foi de 0,80\*, indicando que, de modo geral, as plantas amostradas aleatoriamente dentro das populações refletiram a média geral da população. A variância genética e a média por planta de cada população apresentaram uma baixa correlação (0,042), indicando baixa associação entre a variância e a média de produção de grãos por planta. Esse resultado demonstra certa complicação em associar médias altas com variâncias genéticas altas, dificultando a seleção que busca conciliar ambas estimativas, no presente trabalho. Isso pode ser observado no HS 26/30 que apesar de apresentar a maior variância genotípica, e, por conseguinte, a maior estimativa de herdabilidade, possui a segunda menor média por planta.

As duas populações segregantes mais promissoras, de acordo com as estimativas de PSP foram a HS 20/30 (46,41%) e a HS 6/30 (44,43%), ambas entre as de maior produtividade citadas anteriormente. Essas populações apresentaram estimativas de variâncias genotípicas e de herdabilidades elevadas em comparação às demais populações segregantes. Por outro lado, as populações menos promissoras foram HS 17/30 (25,46%) e HS 3/30 (32,27%) (Tabela 5). Tais resultados podem ser corroborados pelas correlações negativas e significativas encontradas entre a média geral da população e o valor de Z ( $r = -0,74^*$ ), e entre a média por planta da população e o valor de Z ( $r = -0,87^*$ ). A variância genética também apresentou correlação negativa e significativa com o valor de Z ( $r = -0,49^*$ ), porém com magnitude menos expressiva que as anteriores. Cabe ressaltar que valores menores de Z correspondem a valores altos de probabilidade (PSP).

Ainda na Tabela 5, observa-se que algumas populações apresentaram valores de variância genotípica negativos, sem significado biológico. Esse resultado pode ser explicado pela estimativa da variância ambiental (60,87) não representar a real variação das referidas populações avaliadas nesse estudo. Assim, essa variância pode estar superestimada ocasionando variâncias genotípicas negativas.

De acordo com a metodologia de Jinks e Pooni (1976) foi possível, no presente trabalho, identificar doze populações segregantes (HS 20/30, HS 6/30, HS 11/30, HS 8/30, HS 12/30, HS 16/30, HS 27/30, HS 29/30, HS 15/30, HS 5/30, HS 19/30 e HS 21/30) que conciliam altas médias e suficiente variabilidade genética para obter sucesso na extração de linhagens superiores a cultivar Talismã.

#### 4. DISCUSSÃO

De acordo com Souza et al. (2000) vários fatores podem afetar a precisão experimental na cultura do feijoeiro. No presente trabalho, os valores de CV, em porcentagem, indicaram boa precisão dos experimentos realizados, pois estão abaixo dos reportados para a cultura do feijoeiro em experimentos dessa natureza (Marques Júnior, 1997).

Os programas de melhoramento do feijoeiro, praticamente em todo o país, visam basicamente à obtenção de linhagens com grãos do tipo carioca, isto é, creme com estrias marrons. Isso pode ser justificado pelo fato de cultivares do tipo carioca serem as mais cultivadas no Brasil (A revolução..., 2000). A obtenção de populações segregantes somente com esse tipo de grão poderia restringir a variabilidade genética, interferindo, desse modo, nos resultados obtidos e nas decisões a serem tomadas.

Entretanto, observou-se nos dois experimentos (seca de 2004 e seca de 2005), que houve diferença significativa entre as populações segregantes avaliadas (Tabelas 2 e 3), o que evidencia presença de variabilidade para produtividade de grãos, dentre outros caracteres, apesar das populações possuírem tipos de grãos semelhantes. Isso reforça a idéia de que os vários programas de melhoramento do feijoeiro do tipo carioca, embora tenham todos praticamente os mesmo objetivos, utilizam diferentes estratégias de melhoramento e certamente diferentes genitores nas hibridações. Além disso, demonstra que linhagens elites e cultivares comerciais advindos de diversos programas de melhoramento do Brasil, disponíveis nos ensaios de valor de cultivo e uso são importantes fontes de germoplasma a serem exploradas.

Esse resultado, de certa forma, não está de acordo com o apregoado por Singh e Urrea (1995), de que a variabilidade genética, para produtividade de grãos, é limitada quando o cruzamento é realizado dentro do mesmo conjunto gênico, porém, corrobora os obtidos por outros autores (Carneiro, 2002; Oliveira et al., 2003).

O desempenho médio das populações segregantes ( $F_2$  e  $F_3$ ) foi sempre superior às testemunhas avaliadas no presente estudo (Tabela 4), indicando boa complementaridade gênica entre os genitores cruzados com a Rudá-R.

A metodologia proposta por Jinks e Pooni (1976), tem se mostrado uma boa alternativa na predição de populações segregantes em gerações precoces em diferentes

espécies de plantas autógamas (Toledo, 1986; Otubo et al., 1996; Melo et al., 1997; Santos et al., 2001; Abreu et al., 2002; Oliveira, 2003).

Vale ressaltar que o método de Jinks e Pooni (1976), para se fazer predição, pressupõe ausência dos efeitos de dominância. Diversos trabalhos têm demonstrado que para a característica produtividade de grãos em feijoeiro há predominância da interação alélica aditiva no seu controle (Santos et al., 1985; Nienhuis e Singh, 1988; Ramalho et al, 1988; Abreu et al., 1990; Takeda et al., 1991; Carneiro, 2002). Contudo, a escolha de populações segregantes promissoras com base na média e na variância genética, em termos práticos, é um tanto dificultada, devido ao fato de que populações com médias elevadas podem apresentar variâncias baixas, ou ainda que populações com variâncias elevadas possam apresentar médias baixas.

De acordo com as estimativas obtidas no presente trabalho, doze foram as populações com maior probabilidade para extração de linhagens superiores a cultivar Talismã (Tabela 5). De modo geral, esse resultado foi coerente com os desempenhos das populações (Tabela 4). Logo, pode-se concluir, até certo ponto, que a produtividade média foi um bom indicador do potencial das populações segregantes para a extração de linhagens superiores. A maioria dessas populações possui grãos tipo carioca equivalente, estatisticamente, às cultivares Talismã e Pérola (Tabela 4).

Oito populações obtiveram estimativas negativas de variância genética (Tabela 5) e, conseqüentemente, as herdabilidades associadas. Aliado aos possíveis erros normalmente associados a essas estimativas, esses resultados são indicativos de que nessas populações os genitores envolvidos nas hibridações são geneticamente próximos no que se refere ao caráter produtividade de grãos.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente estudo teve como objetivo avaliar o comportamento de populações segregantes de feijoeiro do tipo carioca oriundas de híbridos simples e prever o potencial dessas populações com vista à identificação das mais promissoras para extração de linhagens superiores. Foram utilizadas, como genitores, 29 linhagens elites de feijão tipo carioca e a isolinha Rudá-R, fonte de resistência a patógenos. Foram realizados dois experimentos na seca de 2004 e seca de 2005, para avaliar as gerações  $F_2$  e  $F_3$ , respectivamente. O delineamento foi de blocos completamente aleatorizados, com três repetições, e parcelas constituídas por quatro fileiras de 4m, espaçadas de 0,5m. Foram tomados dados de produtividade de grãos nas duas safras e aspecto comercial dos grãos na seca de 2005. Os experimentos foram conduzidos na Estação Experimental de Coimbra - Coimbra/MG, pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). As estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos foram obtidas, na geração  $F_3$ , por meio dos dados de produção de grãos por planta. A probabilidade de cada população segregante originar linhagens que superem a produtividade da cultivar Talismã em 20%, foi obtida conforme metodologia de Jinks e Pooni (1976). A vantagem dessa metodologia é que ela permite prever o potencial de um dado cruzamento nas gerações iniciais utilizando as estimativas de média e de variância. Os resultados obtidos em relação à probabilidade de extrair linhagens superiores a cultivar Talismã possibilitaram identificar doze populações segregantes como as mais promissoras. Dessas populações, nove (HS 20/30, HS 6/30, HS 8/30, HS 16/30, HS 19/30, HS 29/30, HS 15/30, HS 27/30, HS 21/30) apresentaram bom aspecto comercial dos grãos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A. de F.B.; RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos. Prediction of seed-yield potential of common bean populations. **Genetics and Molecular Biology**. 25: 323-327, 2002.
- ABREU, A. de F.B.; RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; PEREIRA FILHO, I.A. Effects genotype x environment interaction on estimations of genetic and phenotypic parameters of common beans. **Revista Brasileira de Genética**. 13: 75-82, 1990.
- A REVOLUÇÃO DO CARIOQUINHA: Os trinta anos do Carioca. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. **Informação Apta**. 1: 3-5, 2000.
- BUISHAND, T.J. The crossing of beans (*Phaseolus* spp.). **Euphytica**. 5:41-50, 1956.
- CARNEIRO, J.E.S. **Alternativas para obtenção e escolha de populações segregantes no feijoeiro**. 2002. 134p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. 2002.
- CRUZ, C.D. **GENES Vol I- Estatística Experimental e Matrizes**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 285p.
- JINKS, J.L.; POONI, H.S. Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. **Heredity**. 36: 253-266, 1976.
- MARQUES JÚNIOR, O.G. **Eficiência de experimentos com a cultura do feijão**. 1997. 80p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. 1997.
- MARQUES JÚNIOR, O.G.; RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; SANTOS, J.B. dos. Viabilidade do emprego de notas na avaliação de alguns caracteres do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**. 44: 411-420, 1997.
- MELO, L.C.; SANTOS, J.B. dos; RAMALHO, M.A.P. Choice of parents to obtain common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars tolerant to low temperatures at the adult stage. **Brazilian Journal of Genetics**. 20: 283-292, 1997.
- NIENHUIS, J.; SINGH, S.P. Genetics of seed yield and its components in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) of Middle-American origins. I. General combining ability. **Plant Breeding**. 101: 143-154, 1988.
- OLIVEIRA, L.B. de; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A. de F.B.; FERREIRA, D.F. Alternative procedures for parent choice in a breeding program for the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Genetics**. 19: 611-615, 1996.
- OLIVEIRA, M.S. **Predição do potencial genético de populações segregantes de feijão comum oriundas de híbridos simples e duplos**. 2003. 75p. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 2003.

OLIVEIRA, M.S.; CARNEIRO, J.E.S.; CARNEIRO, P.C.S.; GONÇALVEZ, F.M.A. Desempenho de populações segregantes de feijão do grupo comercial preto. In: 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas – Melhoramento e qualidade de vida. **CD-Room (T400)**... Porto Seguro, BA, 2003.

OTUBO, S.T.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A. de F.B.; SANTOS, J.B. dos. Genetic control of low temperature tolerance in germination of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**. 89: 313-317, 1996.

RAGAGNIN, V.A. **Piramidação de genes de resistência à ferrugem, antracnose e mancha-angular em feijão do tipo carioca**. Viçosa. MG: UFV. 2004. 79p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 2004.

RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; OLIVEIRA, A.C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Lavras: UFLA, 2005 (2ª edição); 300p.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; PEREIRA FILHO, I.A. Choice of parents for dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) breeding. I. Interactions of mean components by generation and by location. **Revista Brasileira de Genética**. 11: 391-400, 1988.

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

SANTOS, J.B. dos; VENCOVSKY, R.; RAMALHO, M.A.P. Controle genético da produção de grãos e seus componentes primários em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 20: 1203-1211, 1985.

SANTOS, P.G.; SOARES, A.A.; RAMALHO, M.A.P. Predição do potencial genético de populações segregantes de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 36: 659-670, 2001.

SINGH, S.P.; URREA, C.A. Inter- and intraracial hybridization and selection for seed yield in early generations of common bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Euphytica**. 81: 131-137, 1995.

SNAPPE, J.W. Predicting the frequencies of transgressive segregants for yield components in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**. 62: 127-134, 1982.

TAKEDA, C.; SANTOS, J.B. dos; RAMALHO, M.A.P. Choice of parental lines for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) breeding. II. Reaction of cultivars and of their segregant populations to variations in different environments. **Revista Brasileira de Genética**. 14: 455-465, 1991.

TOLEDO, J.F.F de. **Biometrical studies of inbreed lines and their hybrids**. 1986. 139p. Thesis (Ph.D.) – University of Birmingham, Reino Unido. 1986.

TRILLER, C.; TOLEDO, J.F.F de. Using the F<sub>3</sub> generation for predicting the breeding potential of soybean crosses. **Revista Brasileira de Genética**. 19: 289-294, 1996.

VIEIRA, S. **Estatística experimental**. 2ª Ed. São Paulo: Atlas, 1999. 192p.

## CAPÍTULO 3

### SELEÇÃO INDIRETA POR MEIO DE MARCADORES ESPECÍFICOS DE ALELOS DE RESISTÊNCIA A PATÓGENOS EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJOEIRO

#### 1. INTRODUÇÃO

O Brasil, apesar de maior produtor e consumidor de feijão da espécie *Phaseolus vulgaris* L., ainda apresenta uma das menores médias de produtividade de grãos, cerca de 808 kg ha<sup>-1</sup> (Brasil, 2006). Um dos fatores responsáveis por essa baixa produtividade é a ocorrência de várias doenças que acometem a cultura do feijoeiro. Dentre essas, a antracnose, a ferrugem e a mancha angular incitadas respectivamente pelos fungos *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scribner, *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris e *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger var. *appendiculatus* merecem maior atenção, pelos danos causados e pela alta variabilidade patogênica dos fungos (Paula Júnior e Zambolim, 2006).

No contexto de uma agricultura sustentável, a obtenção de cultivares resistentes a diferentes patógenos, culminando no uso efetivo dessas pelos agricultores, tem sido um dos principais objetivos da maioria dos programas de melhoramento do feijoeiro do país. Isto porque a utilização de cultivares resistentes proporciona considerável redução no uso de agrotóxicos nas lavouras e, conseqüentemente, redução nos custos de produção e menor agressão ao meio ambiente.

No entanto, a variabilidade dos patógenos citados anteriormente (Stavely e Pastor-Corrales, 1994; Pastor-Corrales e Jara, 1995; Nietsche et al., 2001; Alzate-Marin e Sartorato, 2004; Sartorato e Alzate-Marin, 2004) têm dificultado a obtenção de cultivares com resistência duradoura. Além disso, a grande dificuldade é associar em uma única cultivar, pelos métodos convencionais, alelos de resistência a múltiplos patótipos de diferentes patógenos.

Uma alternativa promissora e que já vem sendo utilizada em alguns programas de melhoramento, consiste na seleção assistida por marcadores moleculares de DNA (Kelly e Miklas, 1998; Yu et al., 2000; Alzate-Marin et al., 2005). Nesse sentido,

marcadores moleculares RAPD e SCAR associados a diferentes alelos de resistência a patógenos do feijoeiro foram identificados pelo programa de melhoramento desenvolvido no BIOAGRO/UFV (Faleiro et al., 2000b; Faleiro et al., 2003; Alzate-Marin et al., 2005). Assim, genes de resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular provenientes de diferentes fontes, foram introgridos na cultivar Rudá. Uma segunda etapa deste trabalho foi a piramidação destes genes no *background* Rudá (Ragagnin, 2004). Nesta fase foram piramidados cinco genes advindos das cultivares TO (fonte do gene *Co-4*), AB 136 (fonte do gene *Co-6*), Ouro Negro (fonte dos genes *Co-10* e *Ur-ON*) e AND 277 (fonte do gene *Phg-1*), resultando na isolinha Rudá-R (Alzate-Marin et al., 2005).

Apesar da ‘Rudá’ apresentar uma série de características agronômicas favoráveis, uma de suas limitações como cultivar é o aspecto comercial dos grãos. Por isso, a etapa seguinte e que vem sendo perseguida pelo programa do BIOAGRO/UFV, é a transferência dessa pirâmide para cultivares e linhagens com bom aspecto de grãos. Resultados de polimorfismo molecular entre potenciais genitores de feijão do tipo carioca e Rudá-R, apresentados no capítulo 1, evidenciam a possibilidade de seleção indireta por meio de marcadores moleculares em muitos desses cruzamentos.

Quando se trabalha com a introgressão de vários genes de resistência simultaneamente, o monitoramento desses por meio de marcadores moleculares é de fundamental importância, pois a identificação dos genes pode ser limitada com o uso de técnicas tradicionais de inoculação e avaliação (Kelly e Miklas, 1998). Em alguns casos a detecção da presença de certas combinações de genes torna-se praticamente impossível.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi praticar seleção indireta por meio de marcadores moleculares RAPD e SCAR, em cinco populações segregantes de feijão do tipo carioca, visando resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material genético

Com base nos resultados da caracterização fenotípica e molecular de potenciais genitores de feijão do tipo carioca, apresentados no capítulo 1, e da avaliação do potencial genético das populações oriundas do cruzamento desses genitores com a isolinha Rudá-R, foram selecionadas cinco populações segregantes (OPS-82 x Rudá-R, UTF-0013 x Rudá-R, Carioca 1070 x Rudá-R, GEN 12-2 x Rudá-R, CNFC 9437 x Rudá-R) com potencial para extração de linhagens superiores em termos de aspecto de grãos, produtividade e resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular. Vale salientar que a ‘Carioca 107’, além do tipo de grão carioca, apresenta ciclo mais curto, por volta de 75 dias da emergência à maturação de colheita.

### 2.2. Genotipagem de plantas F<sub>4</sub> visando resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular

Seiscentas sementes F<sub>4</sub> de cada população foram semeadas em campo e na fase V4 (terceira folha trifoliolada) foram etiquetadas 150 plantas F<sub>4</sub> de cada uma das cinco populações para coleta de folhas e posterior genotipagem.

A extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo de Doyle e Doyle (1990). As amostras de DNA obtidas foram amplificadas pela técnica de RAPD (Williams et al., 1990) e de SCAR (Corrêa et al., 2000), para selecionar com base na presença de marcadores moleculares ligados aos alelos específicos de resistência. Os *primers* foram adquiridos da “Operon Technologies” (Alameda, CA, EUA). O monitoramento dos genes de resistência aos patógenos, foi realizado no laboratório de Genética Molecular de Plantas do BIOAGRO/UFV.

As reações de amplificação com marcadores *RAPD* foram feitas em um volume total de 25 µl, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 2,8 mM, 100 µM de cada um dos desoxinucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 µM do *primer*, uma unidade da enzima *Taq* polimerase e, aproximadamente, 25 ng de DNA. As amplificações foram efetuadas em termociclador Perkin-Elmer Cetus, modelo 9600, programado para 40 ciclos, cada um constituído da seguinte seqüência: 15 s a 94°C, 30 s

a 35°C e 1 min a 72°C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de 7 min a 72°C e, finalmente, a temperatura foi reduzida a 4°C.

Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µl do corante tipo IV (0,25% de azul-de-bromofenol e 60% de glicerol). Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), contendo brometo de etídio (0,5 g/ml) e submersas em tampão SB (Brody e Kern, 2004). Finalmente, a separação eletroforética foi realizada durante um período de três a quatro horas, a 120 volts, aproximadamente. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta, no sistema de fotodocumentação Eagle Eye II (Stratagene, La Jolla, CA, EUA).

As reações de amplificação com marcadores SCAR foram feitas em mistura de reação de 15 µL contendo as mesmas concentrações de reagentes utilizadas nos ensaios de *RAPD*, exceto para o *primer*, que foi substituído por cinco picomoles de cada *primer* específico (*Foward* e *Reverse*) mais longos, com 16 a 24 nucleotídeos. O termociclador foi programado para um passo inicial de 94°C por 3 min; 35 ciclos de 94°C por 15 s, 65°C por 1 min e 30 s, 72°C por 1 min e 30 s; e um passo de extensão final de 72°C por 7 min, com redução da temperatura a 4°C. Os marcadores moleculares utilizados no presente trabalho são apresentados na Tabela 1.

**TABELA 1** - Marcadores moleculares ligados a alelos de resistência do feijoeiro comum à antracnose, ferrugem e mancha angular, identificados pelo BIOAGRO/UFV.

Marcador*	Distância (cM)	Gene	Fonte de Resistência	Referência
SCARAZ20 <sub>940a</sub>	7,1	<i>Co-6</i>	AB 136	Queiroz et al. (2004b)
SCARY20 <sub>830a</sub>	1,2	<i>Co-4</i>	TO	Queiroz et al. (2004b)
SCARF10 <sub>1.050a</sub>	6,9	<i>Co-10</i>	Ouro Negro	Faleiro et al. (2000a)
OPX11 <sub>550a</sub>	5,8	<i>Ur-ON</i>	Ouro Negro	Faleiro et al. (2000b)
SCARH13 <sub>520a</sub>	5,5	<i>Phg-1</i>	AND 277	Queiroz et al. (2004a)

\*a: acoplamento.

### 3. RESULTADOS

Os resultados da caracterização molecular e fenotípica dos seis genitores, são apresentados, conforme capítulo 1, de forma resumida na Tabela 2. Observa-se que a linhagem UTF-0013 não apresentou as marcas SCARY20<sub>830a</sub> e OPX11<sub>550a</sub>. Na caracterização fenotípica dessa linhagem foi detectada suscetibilidade ao patótipo 65 de *C. lindemuthianum* e aos patótipos 29-3 e 63-3 de *U. appendiculatus* (Tabela 2). Esta linhagem apresentou apenas a banda correspondente ao marcador SCARH13<sub>520a</sub>. A linhagem Carioca 1070 apresentou suscetibilidade a todos os patótipos de *C. lindemuthianum*, *P. griseola* e *U. appendiculatus* avaliados.

A linhagem GEN 12-2 não apresentou nenhuma marca. Entretanto, obteve reação de compatibilidade apenas com os patótipos de *U. appendiculatus*, possibilitando o monitoramento do gene *Ur-ON* associado ao marcador OPX11<sub>550a</sub>. Dessa forma, a principal limitação dessa linhagem é quanto à suscetibilidade à ferrugem. Já a linhagem OPS-82, apesar de apresentar suscetibilidade à *U. appendiculatus* não permite o monitoramento do gene *Ur-ON*, pelo fato dela possuir a marca referente ao marcador OPX11<sub>550a</sub>, que está associado a esse gene (Tabela 2). Neste caso, pode-se utilizar o SCARY20<sub>830a</sub> para monitorar o gene *Co-4* que confere resistência ao patótipo 65 de *C. lindemuthianum*. A ‘CNFC 9437’ apresentou somente a marca SCARF10<sub>1.050a</sub>, indicando a possibilidade de realizar seleção assistida com os outros marcadores moleculares. Esta linhagem apresentou suscetibilidade aos patótipos 65, 63.23 e 63-3 de *C. lindemuthianum*, *P. griseola* e *U. appendiculatus*, respectivamente (Tabela 2).

De 150 plantas F<sub>4</sub> da população OPS-82 x Rudá-R, monitoradas com o marcador SCARY20<sub>830a</sub>, 63 apresentaram a banda de acordo com o genitor doador Rudá-R, indicando uma possível introgressão do gene *Co-4*. Na população GEN 12-2 x Rudá-R, das 147 plantas genotipadas, 95 apresentaram a banda correspondente ao marcador OPX11<sub>550a</sub> ligado ao gene *Ur-ON*.

Cento e trinta plantas F<sub>4</sub> da população Carioca 1070 x Rudá-R foram monitoradas com o marcador SCARY20<sub>830a</sub> e posteriormente, as plantas que apresentaram essa marca foram amplificadas com o marcador SCARAZ20<sub>940a</sub>. Setenta plantas apresentaram a banda correspondente ao SCARY20<sub>830a</sub>. Destas, 29 plantas mostraram a banda ligada ao gene *Co-6*. Assim, foram selecionadas 29 plantas com

presença desses dois marcadores, simultaneamente, ligados aos genes *Co-4* e *Co-6*, respectivamente.

Cento e trinta e quatro indivíduos F<sub>4</sub> da população CNFC 9437 x Rudá-R foram genotipados com o marcador SCARH13<sub>520a</sub> ligado ao gene *Phg-1* que confere resistência ao patótipo 63.23 de *P. griseola*. Dessas, 91 apresentaram o marcador SCARH13<sub>520a</sub>. Essas 91 plantas foram amplificadas com o marcador SCARY20<sub>830a</sub> das quais foram detectadas 13 plantas apresentando ambos os marcadores, associados aos genes *Phg-1* e *Co-4*.

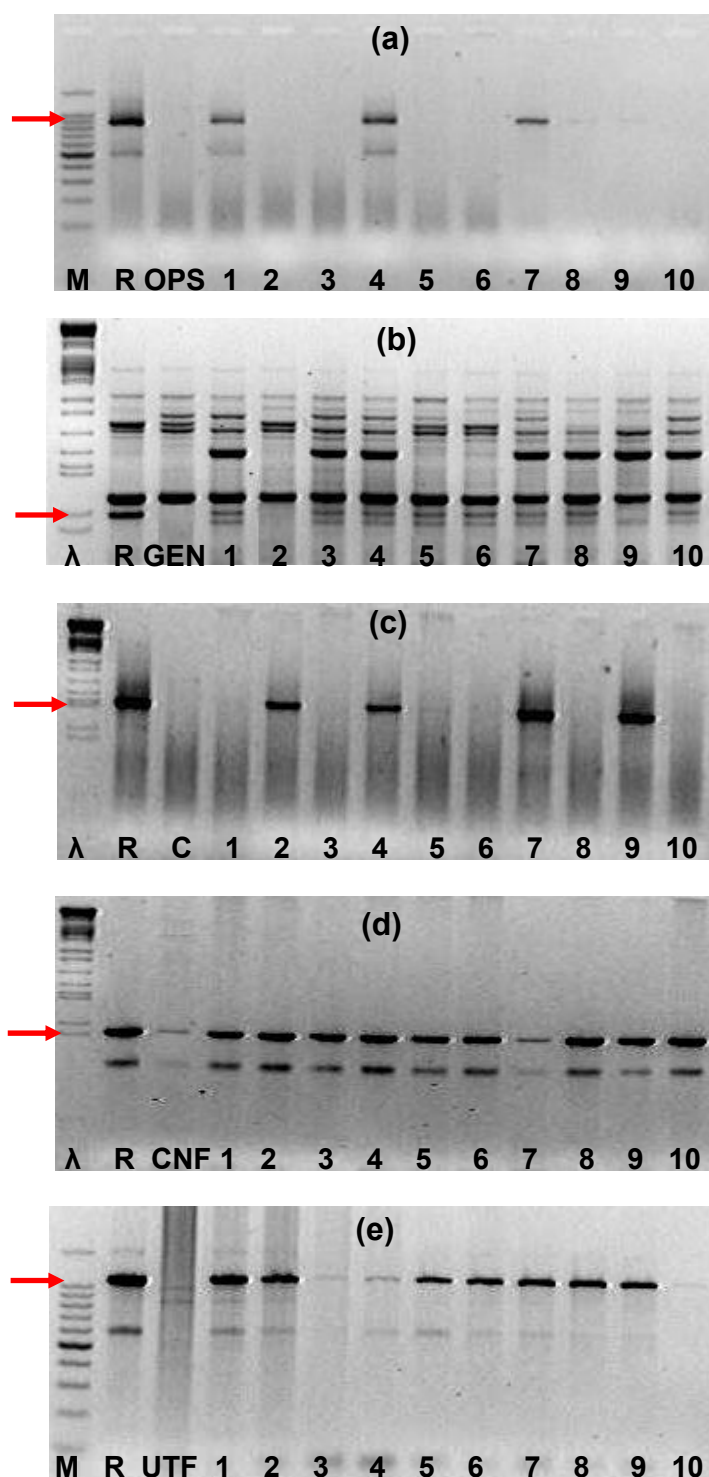
Cento e trinta e cinco plantas F<sub>4</sub> da população UTF-0013 x Rudá-R foram monitoradas com o marcador SCARF10<sub>1.050a</sub>. Dessas, 61 plantas apresentaram a marca correspondente. Essas 61 plantas foram amplificadas com o OPX11<sub>550a</sub>, obtendo-se 46 plantas com ambas as marcas. Destas, 14 apresentaram a marca referente ao marcador SCARY20<sub>830a</sub> permitindo então, a identificação de plantas com as três marcas, as quais estão associadas aos genes *Co-10*, *Ur-ON* e *Co-4*, respectivamente.

A Figura 1 ilustra os produtos de amplificação dos marcadores utilizados nas diferentes populações segregantes. Pode-se observar que em todos os casos os genitores avaliados foram polimórficos em relação à 'Rudá-R', tornando possível a seleção de plantas F<sub>4</sub> com a presença do marcador específico.

**TABELA 2** - Caracterização molecular e fenotípica dos seis genitores utilizados na obtenção das populações segregantes, quanto aos genes de resistência à *C. lindemuthianum*, *U. appendiculatus* e *P. griseola*.

Linhagem	Marcadores moleculares (alelos ligados)					Reação aos patógenos		
	SCARAZ20 (Co-6) <sup>1/</sup>	SCARF10 (Co-10)	SCARH13 (Phg-1)	SCARY20 (Co-4)	OPX11 (Ur-ON)	<i>C. lindemuthianum</i>	<i>P. griseola</i>	<i>U. appendiculatus</i> <sup>2/</sup>
UTF-0013	-*	-	+	-	-	(65 e 73) S <sup>3/</sup>	(63.23) R <sup>3/</sup>	(29-3 e 63-3) S <sup>3/</sup>
Carioca 1070	-	-	-	-	-	(65, 73, 81 e 89) S	(63.23) S	(29-3 e 63-3) S
GEN 12-2	-	-	-	-	-	(65, 73, 81 e 89) R	(63.23) R	(29-3 e 63-3) S
OPS-82	-	-	-	-	+	(65) S	(63.23) R	(63-3) S
CNFC 9437	-	+	-	-	-	(65) S	(63.23) S	(63-3) S
Rudá-R	+	+	+	+	+	(65, 73, 81 e 89) R	(63.23) R	(29-3 e 63-3) R

<sup>1/</sup>Entre parênteses é apresentado o alelo marcado; <sup>2/</sup>Patótipos classificados de acordo com Souza (2005); <sup>3/</sup>S: Suscetível aos respectivos patótipos e R: Reação de incompatibilidade aos patótipos testados; \*(+): presença da marca e (-): ausência da marca.



**FIGURA 1** - Análise eletroforética dos produtos amplificados com quatro pares de *primers* SCAR e um RAPD (Y20<sub>830a</sub>, OPX11<sub>550a</sub>, AZ20<sub>940a</sub>, H13<sub>520a</sub> e F10<sub>1050a</sub>, na sequência – a, b, c, d, e), separados em gel de agarose 1,2%. A coluna 1 contém DNA de marcadores de peso molecular de 100 bp DNA *ladder* (M), e de fago lambda ( $\lambda$ ) digerido com *EcoRI*, *BamHI* e *HindIII*. Os genitores Rudá-R, OPS-82 (a), GEN 12-2 (b), Carioca 1070 (c), CNFC 9437 (d) e UTF-0013 (e) estão representados pelas colunas R, OPS, GEN, C, CNF e UTF, respectivamente. Colunas 1 a 10 correspondem a diferentes plantas F<sub>4</sub> das cinco populações estudadas. As setas indicam as bandas polimórficas ligadas aos alelos *Co-4* (a), *Ur-ON* (b), *Co-6* (c), *Phg-1* (d) e *Co-10* (e), respectivamente.

#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados referentes à reação de incompatibilidade da ‘Rudá-R’ com os patótipos dos diferentes patógenos avaliados neste estudo, estão de acordo com os observados por Ragagnin (2004) e realçam a importância dessa linhagem como fonte de resistência em programas de melhoramento do feijoeiro visando resistência a patógenos. Já os resultados obtidos, relacionados à seleção indireta por meio de marcadores RAPD e SCAR, com a possível introgressão de genes de resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular, evidenciam o uso prático de marcadores moleculares de DNA no melhoramento de plantas propriamente dito, associado a um programa de melhoramento convencional (Pereira e Pereira, 2006; Guimarães et al., 2006).

Na população UTF-0013 x Rudá-R, das plantas que apresentaram o marcador SCARF10, 75% também foram amplificadas com o OPX11. De acordo com Ferrier-Cana et al. (2003) os genes R, na sua maioria, estão dispostos no genoma em *clusters*. Neste caso específico, Faleiro et al. (2003) e Miklas et al. (2006) relatam a co-localização dos genes *Co-10* e *Ur-ON* no mesmo grupo de ligação. Assim, na população GEN 12-2 x Rudá-R, a qual foi monitorada apenas com o marcador OPX11, há uma alta probabilidade da maioria das plantas também apresentarem a banda correspondente ao marcador SCARF10. Já na população CNFC 9437 x Rudá-R, somente 15% das plantas que apresentaram o marcador SCARH13, foram amplificadas com o marcador SCARY20, evidenciando uma maior dificuldade de selecionar plantas com ambas as marcas. Isto pode ser explicado pelo fato dos genes que estão ligados a esses marcadores (*Phg-1* e *Co-4*) localizarem em grupos de ligação distintos (Faleiro et al., 2003; Miklas et al., 2006).

Nesse trabalho optou-se pelo uso da seleção assistida na geração F<sub>4</sub>, já que nas primeiras gerações procedeu-se a avaliação das populações com vistas à identificação das mais promissoras. Esta estratégia está de acordo com o apregoado por Liu et al. (2004). Esses autores, utilizando simulação de diferentes estratégias de seleção, concluíram que combinando a seleção assistida por marcadores moleculares nas gerações segregantes iniciais (F<sub>2</sub> a F<sub>4</sub>) e seleção fenotípica nas gerações mais avançadas (F<sub>5</sub> em diante), quando a sua eficiência aumenta a cada geração de autofecundação, pode-se obter maior eficiência nos programas de melhoramento.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

A seleção assistida por marcadores moleculares de DNA já é uma realidade em programas de melhoramento de várias espécies vegetais, principalmente no âmbito da resistência a patógenos. Assim, o objetivo desse estudo foi identificar plantas F<sub>4</sub> de feijão do tipo carioca, resistentes aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular, por meio do uso de marcadores moleculares estreitamente ligados a alelos de resistência aos referidos patógenos. Com base na caracterização fenotípica e molecular de uma série de genitores e na avaliação das respectivas populações segregantes (trabalho preliminar), foram selecionadas cinco populações promissoras, as quais foram submetidas à seleção indireta por meio de marcadores RAPD e SCAR. Aproximadamente 150 plantas F<sub>4</sub> de cada população foram genotipadas e identificadas aquelas portadoras das marcas moleculares correspondentes aos genes de resistência de interesse. Foram identificadas plantas F<sub>4</sub> das cinco diferentes populações segregantes com a presença dos marcadores SCARY20<sub>830a</sub>, OPX11<sub>550a</sub>, SCARAZ20<sub>940a</sub>, SCARH13<sub>520a</sub> e/ou SCARF10<sub>1050a</sub>, evidenciando uma possível introgressão dos alelos *Co-4*, *Ur-ON*, *Co-6*, *Phg-1* e/ou *Co-10*, respectivamente. Em algumas populações foi possível utilizar mais de um marcador, possibilitando a seleção de plantas portadoras de duas ou três marcas, possivelmente com maior espectro de resistência. Enfim, os resultados obtidos foram animadores e evidencia o uso prático de marcadores moleculares como ferramenta auxiliar no processo de seleção de linhagens superiores em um programa de melhoramento convencional.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZATE-MARIN, A.L.; CERVIGNI, G.D.L.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**. 30: 333-342, 2005.

ALZATE-MARIN, A.L.; SARTORATO, A. Analysis of the pathogenic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* in Brazil. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 241-242, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Culturas**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/ESTATISTICAS/CULTURAS>. Acessado em 22 de maio de 2006.

BRODY, J.R.; KERN, S.E. Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis. **BioTechniques**. 36: 214-216, 2004.

CORRÊA, R.X.; COSTA, M.R.; GOODGOD, P.I.; RAGAGNIN, V.A.; FALEIRO, F.G.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Sequence characterized amplified regions linked to rust resistance genes in the common bean. **Crop Science**. 40:804-807, 2000.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**. 12: 13-15, 1990.

FALEIRO, F.G.; RAGAGNIN, V.A.; CORRÊA, R.X.; VINHADELLI, W.S.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Ligação gênica da resistência à ferrugem e à antracnose na variedade de feijão Ouro Negro. **Revista Ceres**. 47: 375-382, 2000a.

FALEIRO, F.G.; RAGAGNIN, V.A.; SCHUSTER, I.; CORRÊA, R.X.; GOOD-GOD, P.I.; BROMMONSHENKEL, S.H.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Mapeamento de genes de resistência do feijoeiro à ferrugem, antracnose e mancha-angular usando marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**. 28: 59-66, 2003.

FALEIRO, F.G.; VINHADELLI, W.S.; RAGAGNIN, V.A.; CORRÊA, R.X.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. RAPD markers linked to a block of genes conferring rust resistance to the common bean. **Genetics and Molecular Biology**. 23: 399-402, 2000b.

FERRIER-CANA, E.; GEFFROY, V.; MACADRE, C.; CREUSOT, F.; IMBERT-BOLLORE, P.; SEVIGNAC, M.; LANGIN, T. Characterization of expressed NBS-LRR resistance gene candidates from common bean. **Theoretical and Applied Genetics**. 106: 251-261, 2003.

GUIMARÃES, C.T.; SCHUSTER, I.; MAGALHÃES, J.V.; SOUZA JÚNIOR, C.L. Marcadores moleculares no melhoramento de plantas. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. (eds.). **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG, 2006. p.85-106.

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

LIU, P.; ZHU, J.; LU, Y. Marker assisted selection in segregating generations of self-fertilizing crops. **Theoretical and Applied Genetics**. 109: 370-376, 2004.

MIKLAS, P.N.; KELLY, J.D.; BEEBE, S.E.; BLAIR, M.W. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. **Euphytica**. 147: 105-131, 2006.

NIETSCHKE, S.; BORÉM, A.; CARVALHO, G.A.; PAULA JÚNIOR, T.J.; FERREIRA, C.F.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in the State of Minas Gerais, Brazil. **Euphytica**. 117: 77-84, 2001.

PASTOR-CORRALES, M.A.; JARA, C.E. La evolución de *P. griseola* com el frijol comum en América Latina. **Fitopatología Colombiana**. 19: 15-23, 1995.

PAULA JÚNIOR, T.J.; ZAMBOLIM, L. **Doenças**. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BORÉM, A. (Eds.) Feijão 2ª Ed., Atualizada e Ampliada. Viçosa. Editora UFV. 2006. p. 359-414.

PEREIRA, M.G.; PEREIRA, T.N.S. Marcadores moleculares no pré-melhoramento de plantas. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. (eds.). **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG, 2006. p.85-106.

QUEIROZ, V.T.; SOUSA, C.S.; COSTA, M.R.; SANGLAD, D.A.; ARRUDA, K.M.A.; SOUZA, T.L.P.O.; RAGAGNIN, V.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Development of SCAR markers linked to common bean angular leaf spot resistance genes. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. 47: 237-238, 2004a.

QUEIROZ, V.T.; SOUSA, C.S.; COSTA, M.R.; SANGLAD, D.A.; ARRUDA, K.M.A.; SOUZA, T.L.P.O.; RAGAGNIN, V.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Development of SCAR markers linked to common bean anthracnose resistance genes *Co-4* and *Co-6*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. 47: 249-250, 2004b.

RAGAGNIN, V.A. **Piramidação de genes de resistência à ferrugem, antracnose e mancha-angular em feijão do tipo carioca**. Tese (Doutorado) - Viçosa: UFV, 2004. 79p.

SARTORATO, A.; ALZATE-MARIN, A.L. Analysis of the pathogenic variability of *Phaeoisariopsis griseola* in Brazil. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. 47: 235-236, 2004.

STAVELY, J.R.; PASTOR-CORRALES, M.A. In: PASTOR-CORRALES, M.A.; SCHWARTS, H.F. (eds.). **Problemas de producción del frijol en los trópicos**. 2.ed. Cali: CIAT. 1994. p.185-225.

WILLIAMS, J.G.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, L.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are use useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**. 18: 6531-6535, 1990.

YU, K.; PARK, S.J.; POYSA, V. Marker-assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: efficacy and economics. **Plant Breeding**. 119: 411-415, 2000.

## CAPÍTULO 4

### POTENCIAL DA METODOLOGIA DE JINKS e POONI COMO PROCEDIMENTO DE ESCOLHA DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJOEIRO

#### 1. INTRODUÇÃO

As seleções nos programas de melhoramento de espécies autógamas normalmente são realizadas em populações endogâmicas, obtidas por meio de hibridações artificiais seguidas por alguns ciclos de autofecundação. Muitas populações são obtidas e avançadas pelos programas de melhoramento, porém, nem todas possuem potencial para que linhagens com desempenho superior sejam selecionadas e liberadas como novas cultivares. O conhecimento prévio do comportamento das populações pode aumentar a eficiência dos programas de melhoramento, evitando que populações pouco promissoras sejam conduzidas até fases avançadas do processo de aumento da endogamia (Barroso e Hoffmann, 2003). Nesse contexto, para que esse esquema de predição e seleção tenha sucesso é importante que os melhoristas façam uma escolha mais criteriosa das populações segregantes.

Considerando que atualmente a maioria dos programas de melhoramento utiliza, principalmente, genitores com médias similares e elevadas, isso implica na obtenção de populações também similares em relação à média. Neste caso a variância genética assume o papel de principal parâmetro para diferenciar as populações. Assim sendo, os métodos preditivos devem buscar identificar populações com maior variância genética (Barroso e Hoffmann, 2003).

Baenziger e Peterson (1991) classificam os métodos de escolha de genitores e/ou populações segregantes, visando o melhoramento de um caráter quantitativo, como é o caso da produtividade de grãos, em duas categorias. A primeira envolve os procedimentos que utilizam somente as informações dos pais, como o seu desempenho *per se*, o coeficiente de parentesco e a análise multivariada visando estimar a divergência genética. A segunda utiliza informações sobre o comportamento das progênes oriundas de um determinado cruzamento, tais como os cruzamentos

dialélicos, a estimativa de  $m + a$  e a metodologia de Jinks e Pooni (1976). Com o surgimento dos marcadores moleculares, novas metodologias de predição foram propostas. Elas geralmente se baseiam em estimativas da distância genética obtidas a partir das diferenças existentes no DNA dos genótipos candidatos a genitores.

Dentre as metodologias de escolha dos genitores e/ou populações segregantes em função do desempenho de suas progênes, os cruzamentos dialélicos têm sido um dos mais empregados em várias espécies, principalmente nas alógamas pela facilidade de cruzamentos naturais. Apesar dos cruzamentos dialélicos serem uma ferramenta muito útil para predizer o potencial de populações em um programa de melhoramento por hibridação, apresenta como principal limitação o trabalho necessário na realização das hibridações artificiais, principalmente quando está envolvido um grande número de genitores e se trabalha com espécies em que os híbridos artificiais são difíceis de serem obtidos. Além do mais, não permitem obter informações sobre média e variabilidade dentro das populações segregantes, simultaneamente, quando predomina o efeito aditivo dos genes.

Uma alternativa que pode ser empregada na escolha de populações segregantes é a estimativa de  $m+a$  (Vencovsky, 1987). Neste caso, uma população com maior estimativa de  $m+a$  possui, em relação à outra, maior frequência de locos com os alelos favoráveis em homozigose. Por outro lado, a estimativa de  $m+a$  também não informa sobre a variabilidade das populações segregantes, embora permita identificar aquelas com maior frequência de alelos favoráveis. Além disso, para a sua aplicação é necessário avaliar as populações segregantes em duas gerações, simultaneamente, podendo ser  $F_1$  e  $F_2$  ou  $F_2$  e  $F_3$ . Essa estimativa foi utilizada em alguns trabalhos na avaliação do potencial de populações de feijoeiro visando à extração de linhagens (Singh e Urrea, 1995; Oliveira et al., 1996; Abreu et al., 2002; Carneiro, 2002).

Finalmente, outra alternativa que tem ganhado importância, principalmente no melhoramento de plantas autógamas, é o método de Jinks e Pooni (1976). Esse método tem a vantagem de predizer o potencial de um dado cruzamento nas gerações iniciais estimando parâmetros genéticos de média e variância, o qual permite a análise detalhada da estrutura e potencial genético do material avaliado. Dessa forma, possibilita o descarte de populações segregantes pouco promissoras logo no início do programa, com sensível redução de tempo e recurso. Para o seu emprego basta tomar dados de produção por planta dentro de populações segregantes nas primeiras gerações de

autofecundação ( $F_2$  ou  $F_3$ ). O ideal é realizar a seleção de linhagens endogâmicas em populações que apresentam médias e variâncias genéticas altas (Cox et al., 1985).

Para a sua aplicação considera-se que a média da geração  $F_2$  ou  $F_3$  é igual à média da população na geração  $F_\infty$ . Vale ressaltar que esta pressuposição é válida quando não se observa a ocorrência de efeitos de dominância na determinação do caráter em apreço, mesmo porque com o aumento da homozigose os efeitos de dominância são dissipados, restando somente os efeitos aditivos e epistáticos nas populações endogâmicas.

Vários trabalhos em espécies autógamas têm evidenciado a importância desse método na seleção de populações promissoras com vistas à extração de linhagens superiores (Triller, 1994; Otubo et al.; 1996; Melo et al., 1997; Santos et al., 2001; Abreu et al., 2002; Oliveira et al., 2003).

Considerando sua facilidade de aplicação em um programa de melhoramento, auxiliando na escolha mais criteriosa de populações segregantes promissoras, esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da metodologia de Jinks e Pooni (1976), como procedimento de escolha de populações segregantes no melhoramento genético do feijoeiro.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Material genético**

Nesse estudo foram avaliadas 212 famílias  $F_{3:5}$  provenientes de quatro populações selecionadas entre 29 previamente avaliadas (Capítulo 2) quanto ao potencial genético, conforme metodologia de Jinks e Pooni (1976). Com o objetivo de avaliar esse procedimento de escolha de populações segregantes, foram utilizadas as duas melhores e as duas piores populações, ou seja, as populações com maiores e menores estimativas, respectivamente, de probabilidade em gerar linhagens superiores ao padrão Talismã.

Desse modo, foram selecionadas as duas populações mais promissoras, OPS-82 x Rudá-R e UTF-0013 x Rudá-R, e as duas menos promissoras FT Bonito x Rudá-R e UTF-0029 x Rudá-R.

### **2.2. Local de condução do experimento**

Foi instalado um experimento, na seca de 2006, o qual foi conduzido na Estação Experimental de Coimbra – Coimbra/MG (690m de altitude, 20°45' S de latitude e 42°51' W de longitude) pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Este experimento foi instalado em sistema de plantio convencional e os períodos de deficiência hídrica foram sanados por irrigações suplementares. No plantio, foi empregado o equivalente a 350 kg ha<sup>-1</sup> do fertilizante formulado 8-28-16 de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O e, aos 25 dias após a emergência das plantas, 100 kg ha<sup>-1</sup> de sulfato de amônia, em cobertura. Os demais tratos culturais foram os normalmente empregados na cultura. O controle de doenças não foi realizado e o de pragas somente quando as populações das mesmas atingiram níveis de controle.

### **2.3. Avaliação das famílias $F_{3:5}$**

Na geração  $F_3$  foram colhidas 212 plantas das quatro populações segregantes, citadas no item 2.1, as quais foram semeadas em linhas separadas para multiplicação e obtenção das famílias  $F_{3:5}$ . Assim, foram extraídas 53 famílias  $F_{3:5}$  de cada população,

que juntamente com os cinco genitores e oito testemunhas, todas de grãos tipo carioca, totalizando 225 tratamentos, foram avaliadas em um delineamento disposto em látice triplo 15 x 15. As parcelas foram constituídas de duas fileiras de dois metros de comprimento, espaçadas de 0,5m numa densidade de 15 sementes por metro.

Os dados de produtividade de grãos foram submetidos à análise de variância, conforme o seguinte modelo estatístico, considerando todas as variáveis aleatórias, exceto a média:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + r_j + b_{k(j)} + e_{ijk};$$

em que:

$Y_{ijk}$ : é a observação referente à família  $i$ , no bloco  $k$ , dentro da repetição  $j$ ;

$\mu$ : é a média geral do experimento;

$t_i$ : é o efeito do tratamento  $i$  ( $i = 1, 2, \dots, 225$ );

$r_j$ : é o efeito da repetição  $j$  ( $j = 1, 2, 3$ );

$b_{k(j)}$ : é o efeito do bloco  $k$  dentro da repetição  $j$  ( $k = 1, 2, \dots, 15$ );

$e_{ijk}$ : é o erro efetivo associado à observação  $Y_{ijk}$ , assumindo  $e_{ijk} \sim \text{NID}(0, \sigma_e^2)$ .

O modelo da ANOVA com as fontes de variação, quadrados médios, e as respectivas esperanças dos quadrados médios está apresentado na Tabela 1.

A partir das esperanças dos quadrados médios, foram obtidas as estimativas dos componentes de variância e alguns parâmetros genéticos e fenotípicos, tais como:

i) variância fenotípica entre as médias de todas as famílias ( $\hat{\sigma}_F^2$ )

$$\hat{\sigma}_F^2 = \frac{QMF}{r};$$

ii) variâncias fenotípicas entre as médias das famílias de cada população  $i$  ( $\hat{\sigma}_{F_i}^2$ )

$$\hat{\sigma}_{F_1}^2 = \frac{QMFP_1}{r};$$

$$\hat{\sigma}_{F_2}^2 = \frac{QMFP_2}{r};$$

$$\hat{\sigma}_{F_3}^2 = \frac{QMFP_3}{r};$$

$$\hat{\sigma}_{F_4}^2 = \frac{QMFP_4}{r};$$

iii) variância genética entre todas as famílias ( $\hat{\sigma}_G^2$ )

$$\hat{\sigma}_G^2 = \frac{QMF - QME}{r}$$

**TABELA 1** - Esquema da análise de variância individual com os graus de liberdade (GL) e as respectivas esperanças dos quadrados médios - E(QM)

Fontes de variação	GL	QM	E(QM)
Tratamentos (T)	224	QMT	$\sigma_e^2 + r\sigma_T^2$
Famílias (F)	211	QMF	$\sigma_e^2 + r\sigma_G^2$
OPS-82xRudá-R (FP1)	52	QMFP <sub>1</sub>	$\sigma_e^2 + r\sigma_{G1}^2$
UTF-0013xRudá-R (FP2)	52	QMFP <sub>2</sub>	$\sigma_e^2 + r\sigma_{G2}^2$
UTF-0029xRudá-R (FP3)	52	QMFP <sub>3</sub>	$\sigma_e^2 + r\sigma_{G3}^2$
FT BonitoxRudá-R (FP4)	52	QMFP <sub>4</sub>	$\sigma_e^2 + r\sigma_{G4}^2$
Entre populações (P)	3	-	-
FPM <sup>1/</sup>	105	QMFPM	$\sigma_e^2 + r\sigma_{GFPM}^2$
FPP <sup>1/</sup>	105	QMFPF	$\sigma_e^2 + r\sigma_{GFPP}^2$
FPM vs. FPP	1	-	-
Testemunhas(Te)	12	-	-
F vs Te	1	-	-
Erro efetivo	406	QME	$\sigma_e^2$

<sup>1/</sup>FPM: Famílias provenientes das duas melhores populações (OPS82xRudá-R e UTF-0013xRudá-R); FPP: Famílias oriundas das duas piores populações (FT-BonitoxRudá-R e UTF-0029xRudá-R) de acordo com a metodologia proposta por Jinks e Pooni (1976).

iv) variância genética entre famílias de cada população  $i$  ( $\hat{\sigma}_{Gi}^2$ )

$$\hat{\sigma}_{G1}^2 = \frac{QMFP_1 - QME}{r}$$

$$\hat{\sigma}_{G2}^2 = \frac{QMFP_2 - QME}{r}$$

$$\hat{\sigma}_{G3}^2 = \frac{QMFP_3 - QME}{r}$$

$$\hat{\sigma}_{G4}^2 = \frac{QMFP_4 - QME}{r}$$

$$\hat{\sigma}_{GFPM}^2 = \frac{QMFPM - QME}{r}$$

$$\hat{\sigma}_{GFPP}^2 = \frac{QMFPP - QME}{r}$$

Foram estimados os limites inferior e superior dos intervalos de confiança (IC), associados às estimativas das variâncias genéticas entre famílias, de acordo com as expressões apresentadas por Barbin (1993) e Ramalho et al. (2005):

$$IC_{1-\alpha} = P \left[ \frac{Vp \hat{\sigma}_{Gi}^2}{\chi_{\alpha/2}^2} < \sigma_{Gi}^2 < \frac{Vp \hat{\sigma}_{Gi}^2}{\chi_{(1-\alpha)/2}^2} \right]$$

em que:

$\alpha$ : é o nível de significância (0,05);

$\hat{\sigma}_{Gi}^2$ : já definido anteriormente;

Vp: número de graus de liberdade associados ao componente da variância genética, obtido segundo Satterthwaite (1946):

$$Vp = \frac{(QMF_i - QME)^2}{\frac{(QMF_i)^2}{gl_1} + \frac{(QME)^2}{gl_2}}$$

em que:

QMF<sub>i</sub>: quadrado médio de cada tipo de famílias especificadas na Tabela 1;

QME: quadrado médio do erro;

gl<sub>1</sub> e gl<sub>2</sub>: graus de liberdade associados aos quadrados médios respectivos;

$\chi_{\alpha/2}^2$  e  $\chi_{(1-\alpha)/2}^2$ : valores da distribuição teórica de  $\chi^2$  (qui-quadrado), tabelados, para Vp graus de liberdade.

Também foram estimadas as herdabilidades no sentido amplo, na média das famílias, de acordo com a expressão citada por Ramalho et al. (1993):

$$h_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_{Gi}^2}{\hat{\sigma}_{Fi}^2} \times 100$$

em que:

$h_a^2$ : é a herdabilidade estimada em porcentagem relativa às respectivas famílias i;

$\hat{\sigma}_{Gi}^2$  e  $\hat{\sigma}_{Fi}^2$ : já definidos anteriormente

Os limites inferior (LI) e superior (LS) das estimativas de  $h_a^2$ , foram obtidos pelas expressões apresentadas por Knapp et al. (1985), ao nível de probabilidade  $1-\alpha = 0,95$ :

$$LI = \left\{ 1 - \left[ \left( \frac{QMF_i}{QME} \right) F_{(1-\alpha)/2; gl2; gl1} \right]^{-1} \right\}$$

$$LS = \left\{ 1 - \left[ \left( \frac{QMF_i}{QME} \right) F_{\alpha/2; gl2; gl1} \right]^{-1} \right\}$$

em que:

F: valor tabelado a  $(1-\alpha)/2$  e  $\alpha/2$ ;

QMF<sub>i</sub> e QME: já definidos anteriormente;

gl1 e gl2: graus de liberdade de QMF<sub>i</sub> e QME, respectivamente.

Finalmente, foi estimado o ganho esperado com a seleção das dez melhores famílias de cada população, conforme expressão apresentada por Cruz e Regazzi (2001):

$$GS (\%) = DS \times h^2$$

Em que:

DS: diferencial de seleção, ou seja, a diferença entre a média das famílias selecionadas e a média geral de todas as famílias;

$h^2$ : herdabilidade do caráter, obtida conforme já apresentado anteriormente.

A análise de variância foi realizada utilizando-se os programas MSTAT-C (1991) e GENES (Cruz, 2006). Foi realizado também um teste de médias comparando os contrastes entre as famílias FP1, FP2, FP3, FP4, FPM e FPP, de acordo com o teste de Scheffé (Pimentel-Gomes, 2000), com auxílio do programa GENES (Cruz, 2006).

### 3. RESULTADOS

Utilizando famílias derivadas de plantas F<sub>3</sub> foi avaliada a geração F<sub>5</sub>, ou seja, famílias F<sub>3;5</sub>, na safra da seca de 2006. O resumo da análise de variância, para produtividade de grãos, é apresentado na Tabela 2. A eficiência do látice comparada ao delineamento de blocos ao acaso foi baixa (7,82%), evidenciando boa uniformidade da área experimental utilizada, especialmente no que se refere à fertilidade de solo.

**TABELA 2** - Resumo da análise de variância da produtividade de grãos (kg ha<sup>-1</sup>) referente ao experimento de avaliação de famílias F<sub>3;5</sub> oriundas de quatro populações segregantes. Coimbra, MG, seca/2006

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio
Tratamentos (Ajustados)	224	471.172,94**
Famílias (F)	211	477.764,70**
FP1 (OPS82xRudá-R)	52	333.419,40**
FP2 (UTF0013xRudá-R)	52	342.932,70**
FP3 (FT-BonitoxRudá-R)	52	248.893,20**
FP4 (UTF0029xRudá-R)	52	322.176,90**
Entre populações	3	11.980.801,26**
FPM <sup>1/</sup>	105	474.235,54**
FPP <sup>1/</sup>	105	305.082,06**
FPM vs FPP	1	18.980.009,68**
Testemunhas (T)	12	387.321,65**
F vs T	1	86.520,45 <sup>ns</sup>
Erro efetivo	406	120.667,03
CV (%)		14,36
Média geral		2420
Média testemunhas		2374
Média famílias		2423
Eficiência do látice		107,82

<sup>ns</sup> e \*\*Não significativo e significativo, respectivamente, a 1% de probabilidade, pelo teste F; <sup>1/</sup>FPM – Famílias das duas populações mais promissoras para gerar linhagens superiores (OPS82 x Rudá-R e UTF0013 x Rudá-R) e FPP – Famílias das duas populações menos promissoras (FT-Bonito x Rudá-R e UTF0029 x Rudá-R).

Observou-se diferenças significativas ( $P \leq 0,01$ ) para todas as fontes de variação, inclusive para os desdobramentos, exceto para o contraste famílias versus testemunhas (Tabela 2). Diferenças significativas entre famílias de cada população e entre populações evidenciam a existência de variabilidade dessas populações e de suas respectivas famílias, quanto à produtividade de grãos.

A produtividade média obtida no experimento foi de 2.420 kg ha<sup>-1</sup>. Essa foi equivalente à produtividade de todas as famílias, a qual não apresentou diferença significativa com a média das testemunhas. A produtividade média das famílias da população mais promissora, FP1, foi superior às produtividades das famílias das populações FP2, FP3 e FP4.

O contraste FPM versus FPP, altamente significativo, evidencia que as famílias derivadas das melhores populações (FP1 e FP2), no conjunto, foram superiores em relação às famílias provenientes das populações menos promissoras (FP3 e FP4) (Tabela 2).

De acordo com o teste de médias (Tabela 3), as famílias da população FP1 apresentaram desempenho médio superior ao das outras populações. Já as famílias FP2 foram estatisticamente iguais, em rendimento de grãos, às famílias FP4. Esse resultado indica que, em termos de produtividade média, as famílias FP4 provenientes de uma população pouca promissora para extração de linhagens, é igual às famílias FP2 oriundas de uma população promissora para extração de linhagens. Entretanto, as famílias FP1, realmente foram superiores às famílias FP3 e FP4, resultado coerente com o obtido de acordo com a metodologia de Jinks e Pooni, na avaliação das populações F<sub>3</sub> (Capítulo 2).

Vale salientar que o contraste entre as famílias FPM e as FPP (Tabela 3) foi significativo pelo teste de Scheffé, evidenciando a superioridade do desempenho médio das famílias FPM, comparado ao desempenho das famílias FPP.

**TABELA 3** - Teste de média entre as famílias F<sub>3:5</sub>, provenientes das populações OPS-82xRudá-R (FP1), UTF0013xRudá-R (FP2), FT-BonitoxRudá-R (FP3) e UTF0029xRudá-R (FP4); limite inferior (LI), limite superior (LS) e amplitude de variação (AV) da produtividade de grãos das mesmas famílias F<sub>3:5</sub>, avaliadas em Coimbra-MG, seca de 2006

Contrastes (C <sub>i</sub> ) <sup>1</sup>	Valor de C <sub>i</sub>	Famílias	Média (kg ha <sup>-1</sup> )	LI	LS	AV
FP1 - FP2	428,9**	FP1	2810	2049	3661	1612 (57) <sup>2</sup>
FP1 - FP3	645,7**	FP2	2381	1639	3306	1668 (70)
FP1 - FP4	474,2**	FP3	2164	1613	2816	1203 (56)
FP2 - FP3	216,8**	FP4	2336	1678	3231	1553 (66)
FP2 - FP4	45,8 <sup>ns</sup>	FPM	2595	1639	3661	2022 (78)
FP3 - FP4	-171,5**	FPP	2250	1613	3231	1618 (72)
FPM - FPP	345,5**	-	-	-	-	-

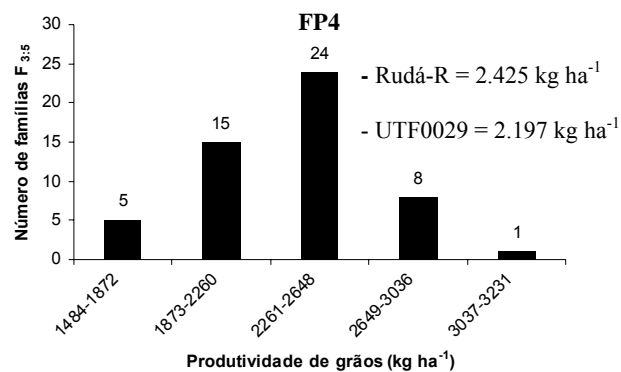
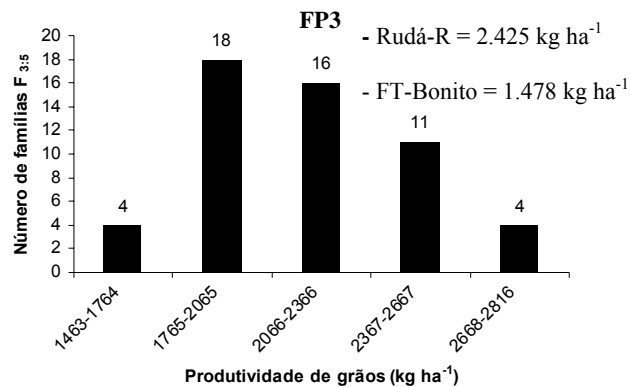
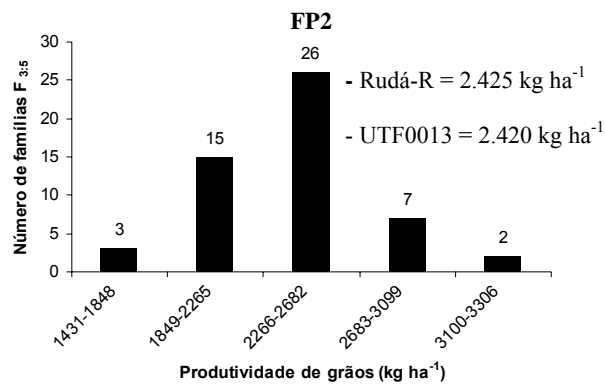
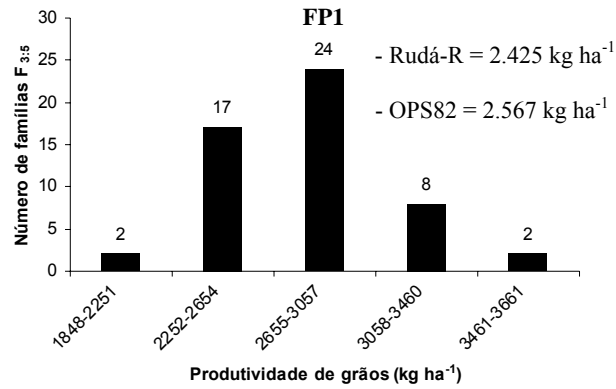
<sup>1</sup>Todos os possíveis contrastes entre as médias das famílias FP1, FP2, FP3 e FP4, além do contraste entre FPM e FPP; <sup>ns</sup> e \*\*Não significativo e significativo, respectivamente, pelo teste de Scheffé (P≤0,01); <sup>2</sup>Porcentagem em relação à média da respectiva família.

Os resultados observados na Tabela 3 mostram que a amplitude de variação das famílias FP1 foi pouco inferior à das famílias FP2 e FP4, o que a princípio indica que a variabilidade das famílias FP1 é menor que dessas outras duas. Apesar disso, percebe-se que dentro de FP1 existem famílias com médias superiores tanto no limite inferior (menor média), quanto no limite superior (maior média). Além disso, verificou-se que a variabilidade genética, de acordo com a amplitude de variação, das famílias oriundas das duas populações mais promissoras (FPM) foi superior em relação à variabilidade das famílias provenientes das duas populações menos promissoras (FPP) (Tabela 3).

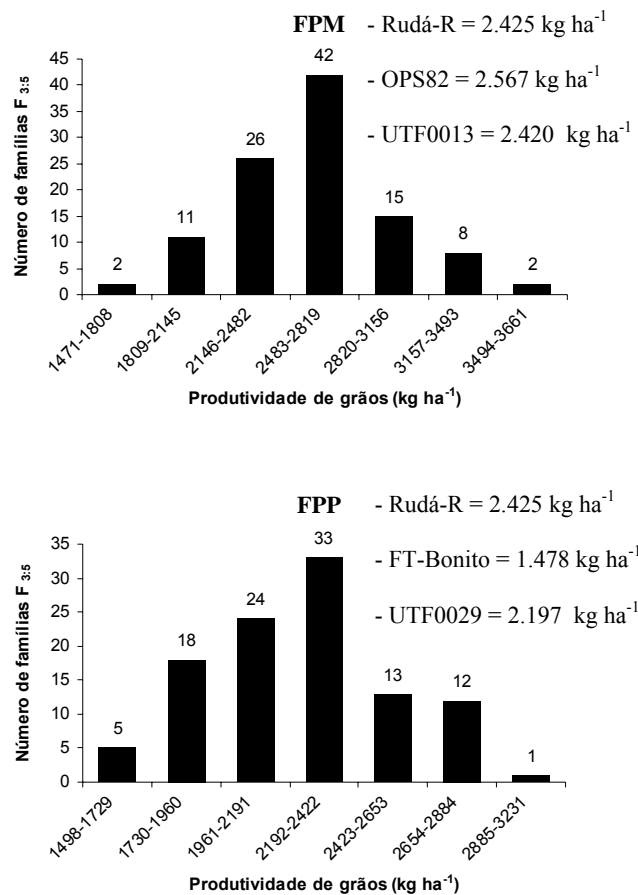
Nas Figuras 1 e 2 estão apresentadas as distribuições de frequência das famílias  $F_{3:5}$  oriundas das quatro diferentes populações. Essas Figuras, também, ilustram a existência de variabilidade entre as famílias  $F_{3:5}$  avaliadas quanto à produtividade de grãos ( $\text{kg ha}^{-1}$ ). Para todas as populações avaliadas essa característica apresentou distribuição próxima à normal, evidenciando a natureza quantitativa deste caráter. Conforme pode-se observar, existem famílias com desempenho médio ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) superior aos pais, resultado que indica a possibilidade de obter ganhos genéticos com a seleção das melhores famílias.

Na Tabela 4 estão apresentadas as estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos referentes às quatro populações avaliadas. Verifica-se que, as magnitudes das estimativas das variâncias fenotípicas e genotípicas médias ( $\hat{\sigma}_{G_i}^2$ ) e herdabilidade ( $h_a^2$ ) das famílias FP1 e FP2 foram superiores às das famílias FP3 e FP4, sendo que as famílias FP2 foram ligeiramente superiores às FP1. As famílias FPM apresentaram essas estimativas bem superiores às famílias FPP (Tabela 4).

Como relatado anteriormente as famílias FP2, de acordo com o teste de média de Scheffé, foram iguais, em termos de média de produtividade de grãos, às famílias FP4 (Tabela 3). Ao analisar a variância genética das famílias FP2, em termos de magnitude, observa-se uma maior estimativa em relação às famílias FP4. Entretanto, de acordo com os intervalos de confiança associados às estimativas de variância genética, as populações FP1, FP2 e FP4 apresentaram variabilidade genética estatisticamente iguais. Este mesmo resultado pode ser observado para os limites inferior e superior das herdabilidades estimadas.



**FIGURA 1** - Distribuição de freqüência da produtividade de grãos (kg ha<sup>-1</sup>) de famílias F<sub>3:5</sub> oriundas das populações OPS82xRudá-R (FP1), UTF-0013xRudá-R (FP2), FT-BonitoxRudá-R (FP3) e UTF-0029xRudá-R (FP4). Coimbra, MG, seca/2006.



**FIGURA 2** - Distribuição de freqüência da produtividade de grãos (kg ha<sup>-1</sup>) de famílias F<sub>3.5</sub> oriundas das duas populações mais promissoras (FPM) e das duas populações menos promissoras (FPP). Coimbra, MG, seca/2006.

Os resultados de média e variância genética dos grupos de famílias (FPM e FPP) evidenciam que as famílias FPM foram superiores às famílias FPP. As estimativas de herdabilidade também indicam as famílias FPM como superiores. Além disso, as famílias FP3 oriundas da população FT-Bonito x Rudá-R, considerada a menos promissora, realmente foram as que apresentaram as menores média e variância genética (Tabelas 3 e 4). Todos esses resultados são coerentes, até certo ponto, com os relatados no Capítulo 2, referente à escolha de populações promissoras em gerar linhagens de melhor desempenho.

**TABELA 4** - Estimativas de variância fenotípica média ( $\hat{\sigma}_{F_i}^2$ ), variância genética ( $\hat{\sigma}_{G_i}^2$ ) e herdabilidade ( $h_a^2$ ) relativas à produtividade de grãos (kg ha<sup>-1</sup>) das famílias F<sub>3:5</sub>, provenientes das populações OPS-82xRudá-R (FP1), UTF0013xRudá-R (FP2), FT-BonitoxRudá-R (FP3) e UTF0029xRudá-R (FP4)

Populações	$\hat{\sigma}_{F_i}^2$ x 1000	$\hat{\sigma}_{G_i}^2$ x1000	$h_a^2$
Famílias	159,3	119,0 (95,8-152,8) <sup>1</sup>	74,7 (69,2-79,3)
FP1	111,1	70,9 (45,6-128,4)	63,8 (50,4-75,0)
FP2	114,3	74,1 (48,1-132,5)	64,8 (52,9-76,3)
FP3	82,9	42,7 (24,8-94,2)	51,5 (33,5-66,5)
FP4	107,4	67,2 (42,8-123,8)	62,6 (48,7-74,2)
FPM	158,1	117,8 (87,3-169,2)	74,5 (67,4-80,6)
FPP	101,7	61,5 (43,2-95,6)	60,5 (49,2-69,8)

<sup>1</sup>Valores entre parênteses referem-se ao intervalo de confiança (P≤0,05); <sup>2</sup>Dados obtidos no Capítulo 2; - Dados não obtidos.

No auxílio da avaliação do potencial das diferentes populações para geração de linhagens superiores, também foi estimado o ganho esperado com a seleção das dez famílias mais produtivas, baseado na avaliação das famílias F<sub>3:5</sub>, em Coimbra-MG (Tabela 5). As famílias FP1 e FP2 apresentaram os maiores ganhos, em rendimento de grãos (kg ha<sup>-1</sup>), em relação às famílias FP3 e FP4. Todavia, os ganhos em porcentagem das famílias FP1 e FP4 foram praticamente iguais. As famílias FP3 apresentaram o menor ganho predito, em relação às demais. Vale salientar que as famílias FPM apresentaram ganhos, tanto em rendimento de grãos, quanto em porcentagem, bem superior às famílias FPP.

Na Tabela 5, também é apresentado o número de famílias de cada população, que estão entre as 30 e 50 mais produtivas do experimento. A maioria das famílias está presente na FP1, em ambos os casos. Já as famílias FP3 apresentaram o menor desempenho, com nenhuma família entre as 30 mais produtivas e somente 3 famílias entre as 50 mais produtivas. Neste caso, as famílias FPM também se destacaram com quarenta famílias entre as 50 mais produtivas. Ressalta-se que o maior ganho de FP2 não está associado à obtenção do maior número de famílias elites; porém esta associação é verificada nas famílias FPM.

**TABELA 5** - Estimativas do ganho predito com a seleção em rendimento de grãos [GS (kg ha<sup>-1</sup>)] e em porcentagem [GS (%)] das dez famílias mais produtivas (10+) e número de famílias entre as 30 e 50 mais produtivas [NF (30+) e NF (50+)], das famílias oriundas das populações OPS-82xRudá-R (FP1), UTF0013xRudá-R (FP2), FT-BonitoxRudá-R (FP3) e UTF0029xRudá-R (FP4). Coimbra, MG, seca de 2006

Famílias	Média (10+)	GS (kg ha <sup>-1</sup> )	GS (%)	NF (30+)	NF (50+)
FP1	3344	341	12,1	23	32
FP2	2859	310	13,0	3	8
FP3	2592	221	10,2	0	3
FP4	2800	290	12,4	4	7
FPM	3383	587	22,6	26	40
FPP	2834	353	15,7	4	10

#### 4. DISCUSSÃO

A precisão experimental avaliada pelo coeficiente de variação (CV%) pode ser considerada boa, pois o valor obtido, 14,36%, está abaixo dos normalmente observados em experimentos relacionados ao melhoramento genético do feijoeiro (Abreu et al., 1994; Marques Júnior, 1997). Essa boa precisão experimental contribuiu para que fossem detectadas diferenças significativas ( $P \leq 0,01$ ) na produtividade de grãos entre as famílias avaliadas, evidenciando assim a existência de variabilidade genética nas populações, fundamental para estudos dessa natureza.

Na decomposição da fonte de variação famílias, também foi verificada significância entre as famílias FP1, FP2, FP3, FP4, FPM e FPP. Vale ressaltar que o contraste FPM versus FPP foi significativo, com destaque para as famílias FPM que apresentaram o melhor desempenho médio (Tabela 2). Considerando o desempenho das famílias das melhores (FPM) e das piores (FPP) populações, observou-se que a variância genética bem como a herdabilidade no sentido amplo das famílias FPM foram superiores às estimativas obtidas para as famílias FPP (Tabelas 3 e 4).

A produtividade média das famílias FP1 foi de  $2.810 \text{ kg ha}^{-1}$ , destacando-se das demais populações. Vale salientar que das 29 populações  $F_3$  avaliadas (Capítulo 2), esta população foi a que apresentou melhor performance. Já a média das famílias FP3 foi estatisticamente inferior a das demais populações. Isto foi também observado para a variância genética e herdabilidade. As menores estimativas foram observadas na população FP3, caracterizando um desempenho inferior das famílias dessa população. Esse resultado está de acordo com o observado no capítulo 2, quando da avaliação das populações na geração  $F_3$ , conforme metodologia de Jinks e Pooni.,

Contemplando os resultados apresentados na Tabela 5, número de famílias de cada população que estão entre as 30 e 50 famílias de maior produtividade no contexto geral, observa-se novamente que as melhores famílias são da população FP1, com 23 e 32 famílias entre as 30 e 50 melhores, respectivamente. A população FP3 foi a que apresentou o pior desempenho quanto a este critério de avaliação. Quando se considera o desempenho das famílias das duas melhores (FPM) e das duas piores (FPP) populações, verifica-se que as melhores populações (FPM) contribuem com 26 e 40 famílias entre as 30 e 50 de maior produtividade, respectivamente.

De modo geral, os valores das estimativas de variância genética foram inferiores aos relatados por Abreu et al. (2002). Essa discordância dos resultados é esperada devido ao uso de genitores diferentes em cada trabalho, sendo que Abreu et al. (2002) utilizaram pais mais divergentes, permitindo a obtenção de uma maior variância entre as famílias. Cabe salientar que a herdabilidade não é apenas uma propriedade do caráter em estudo, mas também da população e das condições ambientais a que foram submetidos os indivíduos da população (Ramalho et al., 1993).

Considerando que a maioria dos programas faz uso de genitores, geralmente com desempenhos semelhantes, a variância genética, neste caso, torna-se um parâmetro imprescindível para a escolha de populações promissoras. Sabe-se que a população dita ideal seria aquela que associe altas média e variância genética (Ramalho et al., 1993). Dessa forma, pode-se concluir que, conforme os resultados apresentados no presente estudo, a metodologia proposta por Jinks e Pooni (1976) foi capaz de identificar as populações mais promissoras, as quais originaram famílias com maiores médias e variância genética (FPM), em detrimento às populações menos promissoras que originaram famílias inferiores (FPP) em relação a essas estimativas. Além disso, as famílias FP1 oriundas da população mais promissora (OPS-82xRudá-R), realmente foram superiores às famílias FP3 provenientes da população menos promissora (FT-BonitoxRudá-R).

A falta de completa correlação do resultado apresentado neste trabalho, referente principalmente às estimativas de variância genética, em relação ao obtido com base na metodologia de Jinks e Pooni (1976) (Capítulo 2), pode ser explicado pelo fato das estimativas de parâmetros genéticos serem obtidas com base em produtividade das famílias ou de plantas tomadas na população, como é o preconizado na metodologia proposta por Jinks e Pooni. As estimativas obtidas com base em plantas individuais está sujeita a erros mais grosseiros devido problemas de amostragem. Estudos adicionais são necessários, principalmente considerando experimentos conduzidos em diferentes locais e épocas de plantio, o que permite acessar a interação genótipos por ambientes, com o objetivo de fornecer resultados mais consistentes dos parâmetros genéticos.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da metodologia proposta por Jinks e Pooni (1976), para escolha de populações segregantes no melhoramento genético do feijoeiro. De 29 populações  $F_3$  avaliadas, segundo esse procedimento, foram selecionadas quatro populações, as duas mais promissoras e as duas menos promissoras em gerar linhagens, que superem o padrão Talismã em produtividade de grãos. Foram extraídas 53 famílias  $F_{3;5}$  de cada população, que juntamente com cinco genitores e oito testemunhas, todas de grãos tipo carioca, foram dispostas em um látice 15x15 triplo, na safra da seca de 2006. As parcelas foram constituídas de duas fileiras de dois metros de comprimento, espaçadas de 0,5m. Foram obtidos dados de produção de grãos por parcela, os quais foram submetidos a análise de variância. De acordo com os resultados obtidos foi observado que a variabilidade genética, de acordo com a amplitude de variação, das famílias oriundas das duas populações mais promissoras (FPM) foi superior à das famílias provenientes das populações menos promissoras (FPP). A variância genotípica média das famílias FPM foi superior à variância genotípica média das famílias FPP. Além disso, a média de produtividade das famílias FPM foi superior às das famílias FPP. Dessa forma, pode-se concluir que a metodologia de Jinks e Pooni foi eficiente na identificação das populações  $F_3$  promissoras, com vistas à extração de linhagens superiores.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A. de F.B.; RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos. Prediction of seed-yield potential of common bean populations. **Genetics and Molecular Biology**. 25: 323-327, 2002.

ABREU, A. de F.B.; RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos.; MARTINS, L.A. Progresso do melhoramento genético do feijoeiro nas décadas de setenta e oitenta nas regiões Sul e Alto Paranaíba em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 29: 105-112, 1994.

BAENZIGER, P.S.; PETERSON, C.J. Genetic variation: its origin and use for breeding self-pollinated species. In: STALKER, H.T.; MURPHY, J.P. (ed.). **Plant Breeding in the 1990's**. Raleigh: North Carolina State University, 1991. p.69-100.

BARBIN, D. **Componentes de variância**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1993. 108p.

BARROSO, P.A.V.; HOFFMANN, L. Métodos de predição do comportamento de populações em melhoramento. Campina Grande, 2003. 38 p. (**Embrapa Algodão - Documentos, 108**)

CARNEIRO, J.E.S. **Alternativas para obtenção e escolha de populações segregantes no feijoeiro**. Tese (Doutorado) - Lavras: UFLA, 2002. 134p.

COX, T.S.; KIANG, Y.T.; GORMAN, M.B.; RODGERS, D.M. Relationship between coefficient of parentage and genetic similarity indices in the soybean. **Crop Science**. 36: 413-424, 1985.

CRUZ, C.D. **GENES Vol I- Estatística Experimental e Matrizes**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 285p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. Universidade Federal de Viçosa. Editora UFV (2ª Ed.). 2001. 390p.

JINKS, J.L.; POONI, H.S. Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. **Heredity**. 36: 253-266, 1976.

KNAPP, S.J.; STROUP, W.W.; ROSS, W.M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**. 25: 192-194, 1985.

MARQUES JÚNIOR, O.G. **Eficiência de experimentos com a cultura do feijão**. 1997. 80p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. 1997.

MELO, L.C.; SANTOS, J.B. dos; RAMALHO, M.A.P. Choice of parents to obtain common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars tolerant to low temperatures at the adult stage. **Brazilian Journal of Genetics**. 20: 283-292, 1997.

MSTAT-C. **A software program for the design, management and analysis of agronomic research experiments**. Michigan State University, 1991. p. irr.

OLIVEIRA, M.S.; CARNEIRO, J.E.S.; CARNEIRO, P.C.S.; GONÇALVEZ, F.M.A. Desempenho de populações segregantes de feijão do grupo comercial preto. In: 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas – Melhoramento e qualidade de vida. **CD-Room (T400)**... Porto Seguro, BA, 2003.

OLIVEIRA, L.B. de; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A. de F.B.; FERREIRA, D.F. Alternative procedures for parent choice in a breeding program for the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Genetics**. 19: 611-615, 1996.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14ª ed. Piracicaba: São Paulo, 2000.

RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; OLIVEIRA, A.C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Lavras: UFLA, 2005 (2ª edição). 300p.

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

SANTOS, P.G.; SOARES, A.A.; RAMALHO, M.A.P. Predição do potencial genético de populações segregantes de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 36: 659-670, 2001.

SATTERTWAITE, F.E. An approximate distribution of estimates of variance components. **Biometrics**. 2: 110-114, 1946.

SINGH, S.P.; URREA, C.A. Inter- and intraracial hybridization and selection for seed yield in early generations of common bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Euphytica**. 81: 131-137, 1995.

TOLEDO, J.F.F. Mid parental and coefficient of parentage as predictor for screening among single crosses for their inbreeding potential. **Revista Brasileira de Genética**. 15: 429-437, 1992.

TRILLER, C. **Previsão do potencial genético de cruzamentos em soja pela geração F<sub>3</sub>**. Tese (Mestrado) - Londrina: UEL, 1994. 133p.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. 2ª ed. Campinas: Fundação Cargill, p. 137-139. 1987.

## CONCLUSÕES GERAIS

- A maioria das linhagens elites de grãos tipo carioca, caracterizada fenotipicamente, não possui níveis satisfatórios de resistência múltipla aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular, evidenciando a necessidade de maior empenho dos programas de melhoramento do feijoeiro no sentido de desenvolver linhagens com amplo espectro de resistência;
- De modo geral observou-se polimorfismo molecular entre diversas linhagens elites de feijoeiro de grãos tipo carioca e a isolinha Rudá-R, considerando os marcadores moleculares utilizados no presente estudo;
- Utilizando como critério de seleção a metodologia de Jinks e Pooni (1976) foi possível identificar 12 populações segregantes de feijão do tipo carioca que associaram altas médias e suficiente variância genética, visando obter sucesso na extração de linhagens superiores a cultivar padrão Talismã. Dessas populações sete apresentaram grãos do tipo carioca equivalentes às cultivares Talismã e Pérola, consideradas padrões comerciais;
- Utilizando marcadores moleculares RAPD e SCAR previamente identificados pelo Programa de melhoramento do BIOAGRO/UFV foi possível monitorar genes de resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha angular em plantas F<sub>4</sub> provenientes de cinco populações de feijão tipo carioca tendo Rudá-R como fonte de resistência. Dessa forma, foram selecionadas diversas plantas F<sub>4</sub> possuindo diferentes combinações de alelos de resistência;
- Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que o procedimento de escolha de populações segregantes preconizado por Jinks e Pooni (1976) constitui uma ferramenta promissora na avaliação de populações segregantes oriundas de cruzamentos intra-raciais no melhoramento do feijoeiro com ênfase a produtividade de grãos.