

ALISSON CAMPOS PEREIRA

**INTROGRESSÃO DE ALELOS DE RESISTÊNCIA AOS PATÓGENOS
DA ANTRACNOSE, MANCHA-ANGULAR E FERRUGEM EM
LINHAGENS DE FEIJÃO TIPO CARIOCA**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

ALISSON CAMPOS PEREIRA

**INTROGRESSÃO DE ALELOS DE RESISTÊNCIA AOS PATÓGENOS
DA ANTRACNOSE, MANCHA-ANGULAR E FERRUGEM EM
LINHAGENS DE FEIJÃO TIPO CARIOCA**

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

APROVADA: 11 de fevereiro de 2010.

Prof. Pedro Crescêncio Souza Carneiro
(Coorientador)

Prof. Everaldo Gonçalves de Barros
(Coorientador)

Dr. Trazilbo José de Paula Júnior

Prof. Moacil Alves de Souza

Prof. José Eustáquio de Souza Carneiro
(Orientador)

Aos meus pais, Sebastião e Sandra.

Ao meu irmão, Alessandro.

Aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde e perseverança.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela oportunidade concedida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor e orientador José Eustáquio de Souza Carneiro, pela amizade, pela orientação, pelos ensinamentos, pela paciência e pela confiança em mim depositada desde o início, ainda como estagiário no Programa de Melhoramento Genético do Feijoeiro da UFV.

Ao professor, amigo e coorientador, Pedro Crescêncio Souza Carneiro, pelas sugestões e pelos ensinamentos.

Ao estimado professor e coorientador, Everaldo Gonçalves de Barros, pelas sugestões, pelo apoio e suporte nos trabalhos realizados no Laboratório de Genética Molecular de Plantas pertencente ao BIOAGRO/UFV.

Aos meus pais, Sebastião e Sandra, pela presença, pelo apoio e carinho em todos os momentos de minha vida. Ao meu pai, por ser meu exemplo de honestidade, seriedade e profissionalismo.

Ao meu irmão Alessandro, pelo companheirismo e pela amizade.

Aos colegas e amigos do Programa de Melhoramento Genético do Feijoeiro, Abner, Aline, Andréia, Bruna, Carlos, Diogo, Elaine, Geraldo, Gilmar, Gislâyne, José Ângelo, José Eduardo, Laércio, Lêlisângela, Lucas, Luiz Paulo, Marilene, Monique,

Renato, Rosangela e Vanessa, pela contribuição neste trabalho e pela prazerosa convivência em todos esses anos.

Aos amigos e colegas do BIOMOL, Demerson, Janaína, Josiane, Klever, Leonardo, Luiz, Suelen e Thiago, pelo agradável convívio e pela imprescindível ajuda.

Aos funcionários das Estações Experimentais “Prof. Diogo Alves de Melo” e de Coimbra, em especial ao funcionário e amigo Gilberto, por todo auxílio na condução dos experimentos de campo.

A todos os professores que contribuíram com minha formação acadêmica desde a graduação em Agronomia, sem os quais não teria obtido êxito.

Aos amigos de Viçosa, que fizeram e fazem parte da minha vida, e que tornaram minha estadia mais prazerosa e feliz.

BIOGRAFIA

ALISSON CAMPOS PEREIRA, filho de Sebastião Caetano Pereira e de Sandra de Campos Mendes Pereira, nasceu em 2 de fevereiro de 1984, em Unaí, Estado de Minas Gerais.

Cursou o primário e o ensino fundamental no Centro Educacional “Arlindo Camargo”, em Buritis-MG.

De 1999 a 2001, completou o ensino médio na Escola Paroquial “Frei Cipriano”, em Buritis-MG.

Em março de 2003, iniciou o curso superior em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, colando grau em janeiro de 2008.

Em março de 2008, iniciou o no Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento da UFV, em nível de Mestrado, na área de Melhoramento de Plantas, defendendo a dissertação em 11 de fevereiro de 2010.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Importância e melhoramento do feijoeiro.....	3
2.2. Melhoramento do feijoeiro visando resistência a patógenos.....	4
2.3. Marcadores moleculares no melhoramento do feijoeiro.....	8
2.4. Melhoramento para caracteres agronômicos com ênfase no grupo carioca .	11
3. OBJETIVOS.....	15
3.1. Objetivo geral.....	15
3.2. Objetivos específicos.....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
4.1. Local de condução dos experimentos.....	17
4.2. Material genético.....	17
4.3. Caracterização fenotípica e genotípica dos genitores.....	18
4.3.1. Inoculação dos genitores.....	18
4.3.1.1. Inoculação com <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	18
4.3.1.2. Inoculação com <i>Pseudocercospora griseola</i>	19

	Página
4.3.2. Genotipagem dos genitores.....	20
4.4. Inoculação das plantas RC ₁ F ₁	20
4.4.1. Inoculação com <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (raça 65)	20
4.5. Seleção assistida por marcadores moleculares	21
4.5.1. Genotipagem das plantas RC ₁ F ₁	21
4.6. Avaliação das famílias em campo	21
4.7. Seleção de plantas dentro das famílias	23
4.7.1. Genotipagem das plantas selecionadas	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5.1. Caracterização fenotípica e molecular dos genitores.....	26
5.2. Seleção de plantas RC ₁ F ₁	29
5.3. Avaliação das famílias selecionadas.....	32
5.4. Extração de linhagens das famílias selecionadas.....	38
5.4.1. Genotipagem das plantas selecionadas dentro das famílias.....	39
6. CONCLUSÕES	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

RESUMO

PEREIRA, Alisson Campos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010.
Introgessão de alelos de resistência aos patógenos da antracnose, mancha-angular e ferrugem em linhagens de feijão tipo carioca. Orientador: José Eustáquio de Souza Carneiro. Coorientadores: Everaldo Gonçalves de Barros e Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

Visando incorporar resistência aos patógenos da antracnose, mancha-angular e ferrugem nas linhagens BRSMG Talismã, VC 8 e VC 9, foram realizados cruzamentos destas com a linhagem Rudá-R (Rudá piramidado), doadora dos genes *Phg1*, *Co-4*, *Co-10* e *Ur-ON*, que conferem resistência à *Pseudocercospora griseola*, *Colletotrichum lindemuthianum* e *Uromyces appendiculatus*. Após a realização dos cruzamentos e obtenção das populações de retrocruzamento, as plantas RC₁F₁ foram inoculadas com o patótipo 65 de *C. lindemuthianum*. Aquelas que se mostraram resistentes foram genotipadas com os marcadores SCARH13, SCARY20 e SCARF10, ligados aos genes *Phg1*, *Co-4* e ao bloco gênico *Co-10/Ur-ON*, respectivamente. Com base nos dados moleculares foram selecionadas 44 plantas, que tiveram suas sementes multiplicadas. As famílias provenientes destas plantas foram avaliadas em três safras (seca e inverno de 2007 e seca de 2008) quanto à produtividade de grãos, arquitetura de planta e aspecto dos grãos. Levando-se em conta estas avaliações e os dados moleculares, foram selecionadas 13 famílias que se mostraram promissoras. De cada uma dessas famílias foram inoculadas 40 plantas com a mistura das raças 65 e 453 de *C. lindemuthianum*.

As plantas que se mostraram resistentes foram, em seguida, inoculadas com o patótipo 31-17 de *P. griseola*. Noventa e cinco plantas apresentaram resistência aos dois patógenos e foram genotipadas com os marcadores SCARH13 (*Phg1*), SCARY20 (*Co-4*), SCARF10 (*Co-10 /Ur-ON*), SCARAS13 (*Co-4*) e SCARBA08 (*Ur-ON*). As plantas resistentes e portadoras das marcas moleculares de interesse foram selecionadas.

ABSTRACT

PEREIRA, Alisson Campos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February of 2010.
Introgression of resistance alleles to the pathogens anthracnose, angular leaf spot and rust in carioca bean lines. Adviser: José Eustáquio de Souza Carneiro.
Co-advisers: Everaldo Gonçalves de Barros and Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

Aiming to incorporate resistance to the pathogens anthracnose, angular spot, and rust in the bean lines BRSMG Talismã, VC 8 and VC 9, crosses were made between these lines and line Rudá-R (pyramided Rudá), donor of the genes *Phg1*, *Co-4*, *Co-10* and *Ur-ON*, which confer resistance against *Pseudocercospora griseola*, *Colletotrichum lindemuthianum* and *Uromyces appendiculatus*. After the crosses were made, the backcross populations were obtained, and the RC₁F₁ plants were inoculated with the pathotype 65 of *C. lindemuthianum*. The lines shown to be resistant were genotyped with the markers SCARH13, SCARY20 and SCARF10, linked to the genes *Phg1*, *Co-4* and to the genic bloc *Co-10/Ur-ON*, respectively. Based on the molecular data, 44 plants were selected and their seeds multiplied. The families originated from these plants were evaluated in three seasons (2007 dry and winter seasons and 2008 dry season) for grain yield, plant architecture and grain aspects. Based on these considerations and molecular data, 13 promising families were selected. From each of these families, 40 plants were inoculated with the mixture of the breeds 65 and 453 of *C. lindemuthianum*. The plants shown to be resistant were inoculated with the pathotype 31-17 of *P. griseola*. Ninety and five plants presented resistance to two pathogens and

were genotyped with the markers SCARH13 (*Phg1*), SCARY20 (*Co-4*), SCARF10 (*Co-10 /Ur-ON*), SCARAS13 (*Co-4*) and SCARBA08 (*Ur-ON*). The resistant plants and carriers of the molecular marks of interest were selected.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos 20 anos, os melhoristas de feijão têm dispensado grandes esforços visando desenvolver cultivares resistentes aos principais patógenos que acometem a cultura. Doenças como antracnose, mancha-angular e ferrugem têm recebido 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 ampla resistência aos patógenos que incitam essas doenças. Isso se deve à grande variabilidade patogênica desses fungos e, principalmente, à grande dificuldade de associar em uma mesma cultivar, pelos métodos convencionais, alelos de resistência às múltiplas raças dos diferentes patógenos. Uma alternativa promissora que já vem sendo utilizada em alguns programas de melhoramento consiste na seleção assistida por marcadores de DNA.

O Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV) vem conduzindo um programa desde 1992, visando resistência aos patógenos do feijoeiro. Vários estudos foram realizados procurando compreender a herança da resistência a diferentes raças de diferentes patógenos e, principalmente, identificar marcadores RAPD ligados a alelos de resistência às raças específicas dos fungos causadores da antracnose, mancha-angular e ferrugem. Muitos destes foram posteriormente transformados em marcadores Scar.

Os estudos desenvolvidos pelo BIOAGRO/UFV permitiram a identificação de uma série de marcadores RAPD ligados a diferentes alelos de resistência à *Colletotrichum lindemuthianum*, *Pseudocercospora griseola* e *Uromyces appendiculatus*, os quais foram utilizados para auxiliar na seleção para resistência a estes patógenos em programas de retrocruzamentos. Assim, foram desenvolvidas várias isolinhas portadoras de alelos específicos de resistência, utilizando como genitor recorrente a cultivar Rudá, de grãos do tipo Carioca. Em uma segunda etapa do programa, estas isolinhas foram inter cruzadas com o objetivo de piramidar alelos de resistência a vários patógenos. Atualmente, o programa já dispõe de linhagens com vários alelos de resistência, porém estas linhagens ainda deixam a desejar em relação ao aspecto comercial dos grãos. Uma estratégia que já está sendo utilizada é o cruzamento destas linhagens com cultivares comerciais que apresentam suscetibilidade aos patógenos da antracnose, mancha-angular e ferrugem, mas que possuem um bom aspecto comercial dos grãos. Assim, o principal objetivo deste trabalho foi incorporar resistência à ferrugem e à mancha-angular na cultivar BRSMG Talismã e à antracnose (raça 65) nas linhagens VC 8 e VC 9, ambas derivadas da cultivar Pérola, a mais cultivada no Brasil, utilizando as linhagens piramidadas como fonte de genes de resistência.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância e melhoramento do feijoeiro

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a leguminosa mais consumida no Brasil, sendo considerado alimento símbolo da gastronomia brasileira. Junto com o arroz, forma a base da nossa alimentação e contribui significativamente como fonte de proteína e caloria. A importância alimentar do feijão deve-se, de modo geral, ao menor custo de sua proteína em relação aos produtos de origem animal (MESQUITA *et al.*, 2007).

O Brasil possui, atualmente, um consumo anual *per capita* de feijão de aproximadamente 16 kg (EMBRAPA, 2010) e apresenta, nas diferentes regiões do País, preferências quanto à cor, ao tipo de grão e à qualidade culinária. Na década de 1970, o seu consumo já esteve no patamar de 25 kg/ano; contudo, em virtude do êxodo rural, alteração dos padrões da alimentação da população e a maior facilidade de acesso a outras fontes protéicas, o seu consumo vem apresentando reduções (BORÉM; CARNEIRO, 2006).

O feijão, além da sua importância na alimentação, apresenta grande importância socioeconômica. Estima-se que a cultura emprega cerca de sete milhões de homens/dia por ciclo de produção, envolvendo aproximadamente 295.000 produtores só no Estado de Minas Gerais (BORÉM; CARNEIRO, 2006).

O Brasil destaca-se como o maior produtor de feijão da espécie *Phaseolus vulgaris*, seguido pela Índia (FAO, 2009). Na safra 2007/08, a produção de feijão foi de 3,52 milhões de toneladas em uma área de 4,0 milhões de hectares. O Estado de Minas Gerais é o segundo maior produtor nacional. Na safra 2007/08, o Estado produziu 566,1 mil toneladas (16,08% da produção nacional). A produtividade média no Estado foi de 1.346 kg/ha, apenas 11,62% abaixo da produtividade no Paraná, que é o maior produtor nacional (CONAB, 2009).

O melhoramento genético do feijoeiro no Brasil é realizado principalmente por instituições públicas, concentrando-se nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Os principais objetivos são a obtenção de cultivares com alto potencial produtivo e melhoria quanto à qualidade comercial e culinária dos grãos, à resistência aos principais patógenos, à precocidade e o porte ereto das plantas.

Atualmente, o Brasil apresenta uma das mais baixas produtividades mundiais, 842 kg/ha (CONAB, 2009). Essa baixa produtividade pode ser explicada por alguns fatores, dentre os quais se destaca o fato de a maioria do feijão cultivado no País, aproximadamente 90%, ser proveniente das safras das águas e da seca, onde predominam pequenos e médios produtores, que empregam, na maioria das vezes, baixos níveis tecnológicos. Outro fator responsável por este quadro são as enfermidades que acometem a cultura.

O uso de cultivares resistentes às doenças é considerado uma estratégia eficiente, segura, barata, de fácil aplicação e adoção pelos produtores, além de ser menos agressivo ao meio ambiente. Porém, até o presente momento, ainda não se dispõem de cultivares de feijão de grãos do tipo Carioca com ampla resistência aos patógenos responsáveis por essas doenças.

2.2. Melhoramento do feijoeiro visando resistência a patógenos

Mais de 45 enfermidades podem prejudicar a cultura do feijoeiro em maior ou menor grau, embora apenas cerca de dez sejam realmente importantes (VIEIRA, 1983). Dentre estas, destacam-se três de origem fúngica: a antracnose, a ferrugem e a mancha-angular.

Como principal sintoma da antracnose podem ser observadas lesões marrons-escuras ou negras nos cotilédones quando a transmissão da doença é realizada por meio das sementes, podendo surgir também lesões no caule e no pecíolo. Nas folhas, o

sintoma mais característico é o surgimento de lesões escuras ao longo das nervuras na face abaxial (PAULA JR.; ZAMBOLIM, 2006). O desenvolvimento da doença é favorecido por temperaturas entre 13 e 27 °C, com ótimo em 17 °C e alta umidade relativa (SARTORATO *et al.*, 1996).

O agente causal da antracnose do feijoeiro, *Colletotrichum lindemuthianum*, apresenta grande diversidade e muitas raças já foram identificadas no Brasil e no mundo. Trabalhos recentes indicam que esta diversidade é resultado, em grande parte, de uma coevolução patógeno-hospedeiro (ALZATE-MARIN *et al.*, 1999). Em Minas Gerais, as raças 65, 73, 81 e 89 são observadas com maior frequência (PAULA JR.; ZAMBOLIM, 2006; SILVA *et al.*, 2007a).

No Brasil, Rava *et al.* (1994) relataram que as linhagens AB 136 e G 2333 mostraram resistência a todos os isolados de *C. lindemuthianum* coletados em várias regiões produtoras de feijão. Ainda neste 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.

Os genes que conferem resistência à *C. lindemuthianum*, já caracterizados, foram compilados pela BIC (2008) e estão presentes nas cultivares Dark Red Kidney (*Co-1*), Cornell 49-242 (*Co-2*), México 222 (*Co-3*), TO (*Co-4*), G 2333 (*Co-4*², *Co-5* e *Co-7/Co-3*), AB 136 (*Co-6* e *Co-8*) e BAT 93 (*Co-9*). Recentemente, o gene *Co-9* foi renomeado como *Co-3*³, Ouro Negro (*Co-10*) e Michelite (*Co-11*). Vários outros alelos já foram identificados e estão presentes nas cultivares Kaboon (*Co-1*¹), Perry Marrow (*Co-1*³), AND 277 (*Co-1*⁴), Widusa (*Co-1*⁵), México 277 (*Co-3*²), SEL 1308 (*Co-4*²) e PI 207.262 (*Co-9/Co-3*³ e *Co-4*³).

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 apresentam reações que variam de resistentes a altamente suscetíveis. Vale a pena ressaltar que a cultivar Pérola, a mais cultivada em Minas Gerais, apresenta reação de compatibilidade com todas as raças de *C. lindemuthianum* presentes no Estado.

A mancha-angular do feijoeiro, cujo agente causal é o fungo *Pseudocercospora griseola*, tem sido apontada como a mais importante doença da parte aérea, sendo encontrada, em maior ou menor intensidade, em todas as regiões em que esta leguminosa é cultivada (RAVA, 2002; PAULA JR.; ZAMBOLIM, 2006). O sintoma

típico da mancha-angular pode ser observado nas folhas trifolioladas, na forma de lesões angulares, em razão da limitação do desenvolvimento do patógeno pelas nervuras das folhas. Temperaturas entre 16 e 28 °C, com ótimo em 24 °C, favorecem o desenvolvimento da doença (PAULA JR.; ZAMBOLIM, 2006).

Em Minas Gerais, Silva *et al.* (2007b) verificaram a ocorrência de dez patótipos diferentes (55-15, 63-07, 63-15, 63-23, 63-25, 63-27, 63-31, 63-47, 63-55 e 63-63) entre 48 isolados estudados. Este fato evidencia a elevada variabilidade patogênica deste fungo.

A maioria das cultivares utilizadas no País é, em maior ou menor grau, suscetível à mancha-angular. Entretanto, linhagens como México 54, AND 277, Cornell 49-242, MAR 2, G 5686, BAT 332, CAL 143, Antioquia 8 e México 235 têm sobressaído como importantes fontes de resistência para uso nos programas de melhoramento (SARTORATO, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Os principais genes de resistência à *P. griseola* até o momento caracterizados, são derivados das cultivares AND 277 (*Phg-1*, *Phg-2*², *Phg-3*² e *Phg-4*²) (CARVALHO *et al.*, 1998; CAIXETA *et al.*, 2005); México 54 (*Phg-2*, *Phg-5* e *Phg-6*) (SARTORATO *et al.*, 1999; CAIXETA *et al.*, 2005); Cornell 49-242 (*Phg-3*) e MAR-2 (*Phg-4* e *Phg-5*²) e BAT 332 (*Phg-6*²) (CAIXETA *et al.*, 2005).

A ferrugem do feijoeiro é causada pelo fungo *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger var. *appendiculatus*, que pode infectar folhas e, mais raramente, vagens, pecíolos e ramos. Inicialmente, são observadas pontuações cloróticas que evoluem para pústulas circulares marrons, podendo ou não exibir halo amarelo. Temperaturas moderadas (17 a 22 °C) e molhamento foliar durante períodos superiores a oito horas contínuas são condições que favorecem o progresso da doença (PAULA JR.; ZAMBOLIM, 2006).

A ferrugem caracteriza-se por apresentar alta variabilidade, o que dificulta muito o trabalho de melhoramento visando a sua resistência. 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.

De acordo com trabalhos desenvolvidos por Faleiro *et al.* (1999), cultivares como Carioca, Pérola, Aporé e Rudá mostraram-se suscetíveis quando inoculadas com quatro raças de *U. appendiculatus*, predominantes nos municípios mineiros de Coimbra, Lavras, Lambari e Patos de Minas. Entretanto, a cultivar Ouro Negro destacou-se, sendo praticamente imune às quatro raças. Esta cultivar vem sendo utilizada como fonte de resistência à ferrugem em programas de melhoramento em Minas Gerais (RAGAGNIN

et al., 2003), juntamente com outros genótipos, como México 309, Belmidak RR3 e PI 181996, que também apresentam resistência.

A BIC (2008) reuniu os genes de resistência a *U. appendiculatus* já caracterizados, e estão presentes nas cultivares B 1627 (*Ur-1*), B 2090 (*Ur-2*), B 2055 (*Ur-2*²), Aurora (*Ur-3*), Nep-2 e Early Gallatin (*Ur-4*), México 309 (*Ur-5*), Olathe e Golden Gate Wax (*Ur-6*), Great Northern 1140 (*Ur-7*), U. S. #3 (*Ur-8*), Pompadour checa (*Ur-9*), Cape e Resisto (*Ur-10*), PI 181996 (*Ur-11* ou *Ur-3*²), Pompadour checa 50 (*Ur-12*) e Redlands Pioneer (*Ur-13*).

Os programas de melhoramento do feijoeiro, visando a 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 por ser de fácil manipulação e pode ser rapidamente introgridida em materiais suscetíveis por meio da utilização de métodos simples, como retrocruzamentos. Entretanto, a resistência pode ser facilmente quebrada em virtude da grande capacidade de variação patogênica dos organismos causadores das doenças, levando a constante exploração da variabilidade genética existente na espécie, visando identificar novas fontes de resistência. Esse procedimento, embora amplamente utilizado, faz com que as cultivares tenham um período de vida útil muito curta.

O melhoramento visando a 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 a resistência a patógenos que apresentam grande variabilidade (NELSON, 1978). Essa estratégia constituiu-se em procedimento altamente eficiente no controle da ferrugem do colmo do trigo no Canadá e nos Estados Unidos (SCHAFER; ROELFS, 1985).

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 e que já vem sendo utilizada em alguns programas de melhoramento, consiste na seleção assistida por marcadores moleculares, permitindo, assim, 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; MIKLAS, 1998).

2.3. Marcadores moleculares no melhoramento do feijoeiro

A partir de 1980, vários marcadores com base em DNA foram desenvolvidos. Os primeiros marcadores moleculares a serem utilizados foram os fragmentos produzidos pela digestão do DNA com enzimas de restrição. A variação do tamanho dos fragmentos obtidos de diferentes indivíduos, após a digestão com enzimas de restrição, deu origem à classe de marcadores moleculares denominada de RFLP (Polimorfismo no Comprimento de Fragmento de Restrição). Outras técnicas de marcadores de DNA surgiram posteriormente, como RAPD (DNA Polimórfico Amplificado Aleatoriamente), AFLP (Polimorfismo no Comprimento de Fragmento Amplificado) e Microssatélites (Sequências Simples Repetidas).

Com o aprimoramento das técnicas em marcadores de DNA, vislumbra-se cada vez mais a incorporação destas 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, na construção de mapas moleculares e em estudos de caracteres quantitativos (SANTOS, 1998; MILACH, 2001).

A oportunidade de selecionar plantas desejáveis com base no genótipo é extremamente atrativa aos melhoristas, principalmente quando se trata de um caráter de difícil seleção, ou muito influenciado pelo ambiente (caracteres quantitativos), como a maioria dos caracteres de importância econômica.

Contudo, mesmo para os caracteres qualitativos, ou seja, de alta herdabilidade, dependendo dos objetivos do programa de melhoramento, a seleção indireta com a utilização dos marcadores moleculares pode ser de extrema importância. O melhoramento de caracteres como resistência a patógenos, pode ser acelerado e facilitado usando seleção indireta. A resistência a patógenos apresenta uma série de desafios diferentes daqueles envolvidos em outros caracteres agrônômicos. Uma grande diferença é que no melhoramento visando resistência a patógenos o melhorista tem que manusear diversos organismos biológicos. Além disso, trabalha-se com vários patógenos e diferentes raças, o que requer múltiplas inoculações (BORÉM, 2001).

Ainda que a seleção indireta de caracteres qualitativos pareça ser mais promissora, a eficiência comparativa da seleção direta *versus* seleção indireta para

caracteres qualitativos é sempre questionada. O principal argumento é que características qualitativas não necessitam de marcadores para seleção indireta. Geralmente, a seleção direta para caracteres qualitativos é mais fácil, mais rápida e mais barata que a seleção indireta utilizando marcadores moleculares. Apesar da veracidade do argumento para várias situações, o uso de marcadores moleculares pode trazer vantagens como a seleção de características qualitativas de difícil avaliação fenotípica, a seleção de genes de resistência sem a necessidade de inoculação das plantas com o patógeno e também a seleção simultânea de diferentes genes de interesse (FALEIRO, 2003). Outro benefício ligado ao uso de marcadores moleculares, diz respeito à possibilidade de selecionar em gerações precoces, plantas que apresentem uma série de marcas moleculares, o que possibilita o emprego dos recursos em materiais que já apresentam, mesmo que em heterozigose, a presença de alelos de interesse.

A seleção assistida por marcadores moleculares é feita com base no conceito de que é possível se inferir a respeito da presença de um determinado gene pela presença de uma marca genética que está estreitamente ligada ao gene. Entretanto, quanto menor for a distância da marca em relação ao gene, menor a probabilidade de que a progênie apresente a marca e não apresente o gene. Isto se deve à menor ocorrência de eventos de recombinação. Sendo assim, um pré-requisito para a utilização de marcadores moleculares no processo de seleção é que as marcas estejam intimamente ligadas aos genes de interesse.

Marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), intimamente ligados a alelos de resistência a raças específicas de um patógeno, têm se constituído uma metodologia viável para a seleção indireta visando resistência às doenças no feijoeiro (ALZATE-MARIN *et al.*, 2001; MIKLAS *et al.*, 2006).

No Programa de Melhoramento do Feijoeiro do BIOAGRO/UFV foram desenvolvidas linhas quase isogênicas (NILs, near isogenic lines), com grãos do tipo Carioca, contendo os genes de resistência à ferrugem, provenientes da cultivar Ouro Negro (FALEIRO *et al.*, 2000), os genes de resistência à antracnose *Co-6* e *Co-4*, dos cultivares AB 136 e TO, respectivamente (ALZATE-MARIN *et al.*, 1999), e o gene de resistência à mancha-angular da linhagem AND 277 (*Phg-1*) (CARVALHO *et al.*, 1998). Vários marcadores RAPD foram identificados; Ragagnin *et al.* (1998) identificaram, na cultivar Ouro Negro, o marcador OPX11_{630a} ligado ao gene de resistência à ferrugem a uma distância de 5,8 cM. Também na cultivar Ouro Negro foi identificado o marcador OPBA08_{530a}, ligado a 6,0 cM de distância do gene de

resistência à ferrugem *UR-ON* (CORRÊA *et al.*, 2000). Nesta cultivar, o *primer* OPF10 revelou uma banda de 1.050 pb (pares de bases) ligada simultaneamente, em acoplamento aos genes de resistência à antracnose e à ferrugem (CORRÊA, 1999). Arruda *et al.* (2000), trabalhando com populações F₂ do cruzamento TO x Rudá-R, identificaram, na cultivar TO, o marcador OPY20_{830a}, que encontrava-se ligado ao gene *Co-4*, não apresentando recombinantes. Carvalho *et al.* (1998) verificaram que o marcador OPH13₄₉₀ está ligado em acoplamento ao gene *Phg-1* de resistência à mancha-angular presente na linhagem AND 277, a uma distância de 5,5 cM. Young *et al.* (1998) identificaram em uma população F₂, derivada de um cruzamento envolvendo a cultivar G 2333, o marcador OPAS13₉₅₀ que marcava o alelo *Co-4*², não apresentando recombinantes.

Diversos marcadores SCAR têm sido desenvolvidos a partir dos marcadores RAPD identificados como ligados a genes de resistência a doenças do feijoeiro (CORRÊA *et al.*, 2000; NIETSCHÉ *et al.*, 2000; QUEIROZ *et al.*, 2004a, b, c). 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 (*forward* e *reverse*) (FERREIRA; GRATTAPLAGLIA, 1998; CAIXETA *et al.*, 2006). Segundo Paran e Michelmore (1993), por ser sequência específica, os marcadores SCAR permitem maior reprodutibilidade dos dados entre diferentes laboratórios, apesar da redução do polimorfismo, quando comparado ao RAPD.

A utilidade dos 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 (TANKSLEY; NELSON, 1996). Melo *et al.* (2006) evidenciaram que os marcadores OPX11_{550a} e SCARF10_{1050a}, previamente identificados na população Ouro Negro/Rudá (FALEIRO, 2003), foram validados e mostraram-se eficientes na seleção indireta à resistência a patótipos de *C. lindemuthianum* e *U. appendiculatus* na população Ouro Negro/Pérola.

Alguns estudos já demonstraram a utilidade dos marcadores moleculares na obtenção de linhagens resistentes a patógenos. Melo *et al.* (2008) genotiparam 150 plantas F₄, provenientes de cinco populações que possuíam como genitor doador de alelos de resistência Rudá-R, com o intuito de selecionar plantas que apresentassem uma ou mais marcas ligadas a alelos de resistência aos patógenos da antracnose, mancha-angular e ferrugem. Foram encontradas plantas que apresentavam dois ou três

genes de resistência e concluíram que isto seria difícil de ser obtido utilizando-se somente inoculações artificiais.

Pereira *et al.* (2004) fizeram uso de inoculações artificiais e de marcadores moleculares RAPD para selecionar linhagens de feijão com alelos de resistência a *C. lindemuthianum*, e que apresentassem outros caracteres desejáveis. Para isto, foram utilizadas 256 linhagens obtidas de um programa de retrocruzamentos envolvendo o genitor doador G 2333, portador de três alelos de resistência à antracnose (*Co-4*², *Co-5* e *Co-7*), e os genitores recorrentes ESAL 696 e CI 140, que possuem boas características agronômicas. Os autores relataram que foram selecionadas cinco linhagens que além de resistentes à antracnose, apresentaram alta produtividade e porte ereto. Sanglard *et al.* (2007), com o intuito de transferir alelos de resistência a ferrugem (*Ur-ON*), antracnose (*Co-10*) e mancha-angular (*Phg-ON*), da cultivar Ouro Negro para a cultivar Pérola, também utilizaram inoculações artificiais e seleção assistida por marcadores moleculares. Quatro famílias provenientes do cruzamento Pérola/Ouro Negro, portadoras dos genes *Ur-ON*, *Co-10* e *Phg-ON*, foram selecionadas. Este mesmo procedimento também foi utilizado com sucesso por Costa (2004), em um trabalho visando transferir alelos de resistência a antracnose, mancha-angular e ferrugem, da linhagem Rudá-R para a cultivar Diamante Negro. Após três ciclos de retrocruzamentos com seleção, esta autora relatou que foi possível selecionar plantas com três ou quatro genes de resistência piramidados.

2.4. Melhoramento para caracteres agronômicos com ênfase no grupo carioca

Para que uma cultivar de feijão obtenha sucesso e uma vida comercial longa, diversas outras características agronômicas devem ser trabalhadas além da resistência a doenças. Características como potencial de produção, tipo de grãos aceitáveis pelo consumidor e porte ereto das plantas, têm merecido atenção especial por parte dos melhoristas.

De modo geral, esses objetivos são perseguidos utilizando a hibridação de dois ou mais genitores, visando reunir fenótipos de interesse em uma única linhagem. Sendo assim, um aspecto de suma importância a ser considerado é a escolha dos genitores. Para solucionar problemas específicos da cultura, os genitores são selecionados com base em características como resistência a doenças, boa arquitetura e tipo de grãos (RAMALHO *et al.*, 1988). Entretanto, quando o objetivo é a obtenção de genótipos

superiores para características de baixa herdabilidade, os genitores escolhidos devem possuir boa capacidade de combinação.

Em um programa de melhoramento que visa o aumento da produtividade, devem ser consideradas as grandes diferenças de capacidade produtiva entre as cultivares dos distintos conjuntos gênicos. Todavia, os resultados destes programas, em muitos casos, são fracassados, sendo atribuídos entre outras razões, à baixa herdabilidade, às elevadas interações genótipo x ambiente e à capacidade geral de combinação nula ou negativa dos genitores (SINGH, 1991). Em geral, os melhoristas de feijão no Brasil têm empregado em suas hibridações materiais do mesmo conjunto gênico, buscando não perder de vista a adaptação às condições brasileiras.

O tipo comercial de feijão é determinado principalmente pela cor, pelo brilho e pelo tamanho do grão. No Brasil são cultivados feijões dos tipos preto, carioca, roxo, mulatinho, rosinha, vermelho e manteigão. Dentre estes, o mais produzido e consumido atualmente é o carioca.

A primeira cultivar de grão do tipo Carioca foi lançada pelo Programa de Melhoramento de Feijão do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), na década de 1970 e foi denominada de “Carioca”. A versão mais aceita pelos melhoristas é que o feijão do tipo Carioca surgiu através de mutações genéticas.

Essa cultivar revolucionou o mercado do feijão no Brasil, sendo na época 30% mais produtiva que as outras cultivares disponíveis. Além disto, provocou profundas alterações nos padrões do tipo de grãos consumidos e produzidos (ALMEIDA, 2000). Atualmente, o feijão carioca é responsável por 70% do mercado brasileiro (EMBRAPA, 2009).

Embora inúmeras cultivares com esse tipo de grão tenham sido obtidos pelos Programas de Melhoramento, alguns já saíram do mercado, pelo fato de detalhes de cor e tamanho do grão restringirem sua comercialização (RAMALHO; ABREU, 2006). A grande dificuldade para obter grãos dentro do padrão comercial Carioca é o grande número de genes envolvidos (BASSET, 2004). Há genes responsáveis pela tonalidade da cor creme, da presença de rajas e sua tonalidade, cor do halo e presença ou não de brilho. Em relação ao tamanho, a preferência é por grãos com peso variando de 23 a 25 g por 100 sementes.

A cultivar Rudá, desenvolvida pelo CIAT e introduzida como linhagem pela Embrapa Arroz e Feijão, foi avaliada em vários ambientes (GO/DF, MG, ES, MS e PR) e recomendada para cultivo nesses Estados em 1992 (EMBRAPA, 2009). Apesar de

apresentar bom potencial produtivo, seus grãos são pequenos e com a tonalidade do fundo creme e rajas mais escuras, além de ser suscetível à maioria dos patótipos dos agentes causais da antracnose, ferrugem e mancha-angular.

Outros fatores de suma importância, quando se pensa em qualidade comercial de grãos de feijão, dizem respeito à presença de halo e brilho no tegumento, pois, no caso do feijão tipo Carioca, a preferência é por sementes opacas e ausência de halo. De acordo com Leakey (1988), o gene J, responsável pela cor do halo e também pelo brilho das sementes, afeta a qualidade culinária, uma vez que acelera o processo de escurecimento dos grãos, aumenta o tempo de cozimento e reduz a digestibilidade. A Carioca 80, desenvolvida pelo IAC, apesar de bom potencial produtivo, apresenta o halo de coloração amarela em torno do hilo e maior tempo de cocção. Cultivares com essas características dificilmente serão adotadas por produtores e consumidores (RAMALHO; ABREU, 2006).

Silva (2009) realizou um estudo que teve como objetivo avaliar a eficiência do método bulk com seleção (*bulksel*), tomando como referência os métodos bulk e SSD. Para isto, uma população F₂, resultante do cruzamento entre as cultivares Ouro Negro x Meia Noite, foi conduzida por oito gerações, de acordo com os métodos referidos acima. No caso do *bulksel*, foi praticada, a cada geração, seleção para aspecto comercial dos grãos. Foi constatado que a seleção realizada para aspecto de grãos a cada geração, que deu origem ao *bulksel*, não comprometeu a média nem a variabilidade para a produtividade de grão. Este fato possibilita aos melhoristas concentrar os seus esforços na seleção de outros caracteres, apenas nas famílias com grãos comercialmente aceitáveis.

A arquitetura da planta é outro caráter que também tem merecido grande atenção dos melhoristas. O objetivo é obter plantas eretas, por apresentarem vantagens como: maior facilidade nos tratos culturais, redução da severidade de algumas doenças e redução de perdas na colheita se esta coincidir com período prolongado de chuvas (RAMALHO *et al.*, 2004). A seleção visando arquitetura ereta de planta é dificultada pelo grande número de genes envolvidos e, sobretudo, pelo pronunciado efeito do ambiente neste caráter (TEIXEIRA *et al.*, 1999; BASSETT, 2004; RAMALHO; ABREU, 2006). Apesar dessas dificuldades, os programas de melhoramento têm obtido linhagens de porte ereto nas diferentes classes comerciais de grãos. Entretanto, a maioria delas ainda deixa a desejar quanto ao aspecto dos grãos, especialmente no que se refere ao tamanho (RAMALHO; ABREU, 2006). A princípio, isso indica uma possível

associação genética entre o tamanho dos grãos e o porte da planta. Contudo, estudos realizados por Collicchio *et al.* (1997) descartam essa possibilidade, mostrando que é possível obter linhagens de porte ereto, independentemente do tamanho dos grãos. Isso é evidenciado nos casos das cultivares BRS Cometa e BRS Horizonte, ambas de porte ereto e com grãos que atendem às exigências do mercado brasileiro (MELO *et al.*, 2004; DEL PELOSO *et al.*, 2006).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Introgessão de genes de resistência aos patógenos da antracnose, mancha-angular e ferrugem em linhagens de feijão do tipo Carioca.

3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar fenotipicamente os genitores utilizados nos cruzamentos quanto à reação aos patógenos da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), mancha-angular (*Pseudocercospora griseola*) e ferrugem (*Uromyces appendiculatus*).

- Caracterizar molecularmente os genitores utilizados nos cruzamentos quanto aos genes que conferem resistência aos patógenos da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), mancha-angular (*Pseudocercospora griseola*) e ferrugem (*Uromyces appendiculatus*).

- Obter as populações segregantes oriundas de três linhagens elites de feijão do tipo Carioca (BRSMG Talismã, VC 8 e VC 9) e uma fonte dos genes de resistência (Rudá-R).

- Caracterizar fenotipicamente quanto à raça 65 de *Colletotrichum lindemuthianum* e molecularmente (SCARY20_{830a}, SCARF10_{1050a} e SCARH13_{520a}) os indivíduos F₁ das populações segregantes oriundas de um ciclo de retrocruzamento.

- Avaliar e identificar nas gerações iniciais as famílias mais promissoras com vistas à extração de linhagens superiores.

- Caracterizar as linhagens derivadas das famílias mais promissoras quanto à reação aos patógenos da antracnose e da mancha-angular.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local de condução dos experimentos

Todas as etapas do trabalho foram conduzidas nas dependências da Universidade Federal de Viçosa. Os cruzamentos e as inoculações artificiais foram realizados em casa de vegetação e em câmaras de nevoeiro, pertencentes ao Departamento de Fitotecnia e ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV). Os estudos relativos ao uso de marcadores moleculares foram conduzidos no laboratório de Genética Molecular de Plantas (BIOMOL), localizado nas dependências do BIOAGRO/UFV. Os experimentos de campo (avaliação de famílias e linhagens) foram conduzidos na estação experimental de Coimbra-MG, situada a 690 m de altitude, 20° 45' S de latitude e 42° 51' W de longitude, pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa.

4.2. Material genético

Foram utilizados como material genético três populações segregantes provenientes de cruzamentos envolvendo a linhagem Rudá-R com a cultivar BRSMG Talismã e as linhagens VC 9 e VC 8, linhagens estas provenientes do cruzamento Ouro Negro/Pérola (MELO *et al.*, 2006). Como genitores recorrentes foram utilizadas a cultivar BRSMG Talismã e as linhagens VC 9 e VC 8. A cultivar BRSMG Talismã apresenta excelente potencial de produção, mas tem se mostrado suscetível à maioria

das raças de *P. griseola* e a algumas raças de *U. appendiculatus*. A linhagem VC 9 é resistente às principais raças de *C. lindemuthianum* presentes no Brasil, com exceção da raça 65. A linhagem VC 8, apesar de apresentar boas características de interesse agrônomo, deixa a desejar com relação à resistência às doenças, sendo suscetível à maioria das raças de *C. lindemuthianum*. Como genitor doador dos alelos de resistência foi utilizada a linhagem Rudá-R, de grãos tipo Carioca e portadora dos genes de resistência à antracnose (*Co-4*, *Co-6* e *Co-10*), mancha-angular (*Phg-1*) e ferrugem (*Ur-ON*). Esta linhagem é proveniente do programa de piramidação de genes de resistência às doenças do BIOAGRO/UFV.

4.3. Caracterização fenotípica e genotípica dos genitores

4.3.1. Inoculação dos genitores

Para avaliação da severidade dos sintomas causados pelos patógenos da antracnose e da mancha-angular nos genitores, foram inoculadas dez plantas de cada um dos pais e da cultivar Pérola, utilizada como controle.

Em casa de vegetação foram semeadas 20 sementes de cada linhagem em bandejas de plástico (60 x 40 x 12 cm), para a inoculação com *C. lindemuthianum*, e em vasos plásticos de 2,5 L, para inoculação com *P. griseola*. Como substrato foi utilizada uma mistura de solo e esterco curtido na proporção de 3:1, em mistura com 5 kg/m³ do adubo formulado NPK 08:28:16. Posteriormente, foi realizado desbaste a fim de se manter o número de plantas pretendido nas inoculações.

4.3.1.1. Inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*

O inóculo de cada raça fisiológica utilizada neste trabalho foi multiplicado em tubos de ensaio contendo vagens esterilizadas e parcialmente imersas em meio ágar-ágar. Os tubos com o inóculo foram incubados por aproximadamente dez dias em BOD sob temperatura de 24 °C, para a produção dos conídios utilizados na inoculação. A inoculação foi realizada sete dias após o plantio, atomizando uma suspensão contendo 1,2 x 10⁶ conídios/mL em ambas as superfícies das folhas primárias, com o auxílio de um atomizador de Vibiss nº 15 acionado por um compressor elétrico.

A avaliação foi realizada 10 dias após a inoculação, com base na escala descrita por Pastor-Corrales (1992), variando de 1 a 9, em que: 1 = ausência de sintomas; 2 = até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis somente na face abaxial da folha; 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; lesões abundantes no caule, ramos e pecíolos; e 9 = maioria das plantas mortas. As plantas que apresentaram graus de reação 1 a 3 foram consideradas resistentes e aquelas com grau 4 ou maior, suscetíveis.

4.3.1.2. Inoculação com *Pseudocercospora griseola*

O inóculo de cada patótipo utilizado neste trabalho foi produzido em placas de Petri contendo mistura de água destilada, molho de tomate (Pomarola), ágar, carbonato de cálcio (CaCO₃) e estreptomicina. A inoculação foi realizada após o aparecimento da segunda folha trifoliolada, aproximadamente 15 dias após a emergência das plantas, em ambas as superfícies do primeiro par de folhas trifolioladas, com uma suspensão do patógeno previamente preparada e ajustada para concentração de 2×10^4 conídios/mL, com o auxílio de um atomizador de Vilbiss nº 15 acionado por um compressor elétrico.

A severidade da doença foi avaliada visualmente aos 20 dias após a inoculação, utilizando-se uma escala com nove graus de severidade proposta por Pastor-Corrales e Jara (1995): 1 = plantas sem sintomas da doença; 2 = presença de até 3% de lesões; 3 = presença de até 5% de lesões foliares sem esporulação do patógeno; 4 = presença de lesões esporuladas cobrindo 10% da área foliar; 5 = presença de várias lesões esporuladas entre 2 e 3 mm, cobrindo 10 a 15% da área foliar; 6 = presença de numerosas lesões esporuladas maiores que 3 mm, cobrindo entre 15 e 20% da área foliar; 7 = presença de numerosas lesões esporuladas maiores que 3 mm, cobrindo entre 20 e 25% da área foliar; 8 = presença de numerosas lesões esporuladas maiores que

3 mm, que cobrem entre 25 e 30% da área foliar, associadas a tecidos; e 9 = sintomas severos da doença, resultando em queda prematura de folhas e morte da planta. Neste trabalho, as plantas que apresentarem graus 1 a 3 foram consideradas resistentes e as com grau 4 ou maior, suscetíveis.

4.3.2. Genotipagem dos genitores

Para averiguação da possibilidade da utilização de seleção assistida por marcadores moleculares nas populações, foram genotipadas dez plantas de cada um dos genitores, com os marcadores SCARY20_{830a} (*Co-4*), SCARF10_{1050a} (*Co-10/Ur-ON*), SCARH13_{520a} (*Phg1*), SCARAS13_{950a} (*Co-4*) e SCARBA08_{560a} (*Ur-ON*).

A coleta de folhas e a extração de DNA foram realizadas conforme metodologia de Doyle e Doyle (1990). As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 15 µl, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 2 mM, cinco picomoles de cada *primer* específico, uma unidade da enzima Taq polimerase e, aproximadamente, 25 ng de DNA. As amplificações foram efetuadas em termociclador Perkin-Elmer, modelo 9600 (WILLIAMS *et al.*, 1990), programado para 35 ciclos de 94 °C por 30 s; 65 °C (SCARY20, SCARF10) ou 60 °C (SCARBA08) ou 59 °C (SCARH13) por um minuto; 72 °C por 90 segundos; e uma fase final de 72 °C por 7 minutos.

Os produtos de amplificação foram corados com 2,0 µl do corante tipo IV (0,25% de azul de bromofenol e 60% de glicerol). Posteriormente, os produtos foram separados em gel de agarose 1,2% contendo 0,5 µg/ml de brometo de etídeo, imerso em tampão SB 1X (hidróxido de sódio 10 mM, pH 8,5 ajustado com ácido bórico (BRODY; KERN, 2004)). As bandas de DNA foram visualizadas sob luz ultravioleta e fotodigitalizadas utilizando o sistema de fotodocumentação Eagle Eye II.

4.4. Inoculação das plantas RC₁F₁

4.4.1. Inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum* (raça 65)

Foram semeadas em casa de vegetação 350 sementes RC₁F₁, utilizando o mesmo substrato citado no item 4.3.1. Sete dias após o plantio foi realizada a inoculação das

plantas, com a raça 65 de *C. lindemuthianum*, visando selecionar fenotipicamente as plantas resistentes. A multiplicação e a inoculação do referido patótipo foram realizadas conforme descrito no item 4.3.1.1. Nesta etapa, as plantas consideradas resistentes foram aquelas que não apresentaram nenhum sintoma da doença.

4.5. Seleção assistida por marcadores moleculares

4.5.1. Genotipagem das plantas RC₁F₁

As plantas RC₁F₁ que se mostraram resistentes à raça 65 de *C. lindemuthianum* foram genotipadas utilizando os marcadores SCAR relacionados na Tabela 1. A coleta de folhas, a extração de DNA, assim com as demais etapas de amplificação das reações e da fotodocumentação, foram realizadas conforme descritos no item 4.3.2.

Tabela 1 – Marcadores moleculares SCAR ligados a alelos de resistência do feijoeiro comum à *C. lindemuthianum*, *P. griseola* e *U. appendiculatus*, identificados em populações segregantes de Rudá x Fontes de Resistência, BIOAGRO/UFV

Marcador	Distância (cM)	Gene de Resistência	Fonte de Resistência	Referência
SCARY20 _{830a} *	0,0	<i>Co-4</i>	TO	Arruda <i>et al.</i> (2000)
SCARF10 _{1050a} *	4,3	<i>Co-10</i> e <i>Ur-ON</i>	Ouro Negro	Correa <i>et al.</i> (2000)
SCARH13 _{520a} *	5,6	<i>Phg-1</i>	AND 277	Carvalho <i>et al.</i> (1998) Queiroz <i>et al.</i> (2004a)

cM = (centimorgan) distância genética dos marcadores moleculares em relação aos genes de resistência.

*a = fase de acoplamento.

4.6. Avaliação das famílias em campo

As plantas RC₁F₁ selecionadas por meio da inoculação com a raça 65 de *C. lindemuthianum* tiveram suas sementes multiplicadas na estação experimental de Coimbra na safra do inverno de 2006. A colheita foi efetuada seguindo o procedimento bulk dentro de família e estas avaliadas nas safras da seca e do inverno de 2007 e seca de 2008. Foi utilizado o delineamento em látice triplo 7 x 7, com parcelas de duas linhas de dois metros espaçadas de 50 cm, com densidade de 15 sementes por metro. Além da produtividade de grãos foram avaliadas a arquitetura de planta e o aspecto comercial

dos grãos. Para a avaliação da arquitetura de plantas, realizada somente nas safras da seca, utilizou-se escala de notas modificada de Collicchio *et al.* (1997), variando de 1 a 5, sendo a nota 1 atribuída às plantas de porte ereto e 6 àquelas prostradas. Na avaliação do aspecto comercial dos grãos foi utilizada escala de notas de 1 a 5 (MARQUES JR. *et al.*, 1997). De acordo com essa escala, quanto menor a nota melhor é o aspecto do grão carioca, ou seja, cor creme claro do tegumento com estrias marrons claras.

Os dados referentes à produtividade de grãos e à arquitetura de plantas, inicialmente foram submetidos à análise de variância por ambiente (safra). Foi considerado o efeito de tratamentos como fixo, adotando-se o seguinte modelo estatístico:

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

em que

Y_{ijk} = observação referente ao i -ésimo tratamento, no k -ésimo bloco, dentro da j -ésima repetição;

μ = média geral do experimento;

T_i = efeito do i -ésimo tratamento ($i = 1, 2, \dots, 49$);

r_j = efeito da j -ésima repetição ($j = 1, 2, 3$);

$b_{k(j)}$ = efeito do k -ésimo bloco dentro da j -ésima repetição ($k = 1, 2, \dots, 7$); e

e_{ijk} = erro aleatório, $e_{ijk} \sim (0, \sigma^2)$.

As análises de variância para aspecto de grãos foram realizadas adotando-se o modelo estatístico de blocos ao acaso. O efeito de tratamentos foi considerado fixo, conforme modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + r_j + e_{ij}$$

em que

Y_{ij} = observação referente ao i -ésimo tratamento dentro da j -ésima repetição;

μ = média geral do experimento;

T_i = efeito do i -ésimo tratamento ($i = 1, 2, \dots, 49$);

r_j = efeito da j -ésima repetição ($j = 1, 2, 3$); e

e_{ij} = erro aleatório, $e_{ij} \sim (0, \sigma^2)$.

Posteriormente, foram realizadas as análises de variância conjunta utilizando-se as médias ajustadas dos tratamentos. Vale salientar que os caracteres produtividade e aspecto de grãos foram avaliados em três safras, enquanto a arquitetura de plantas somente em duas safras. Vale a pena ressaltar que foi atendida a pressuposição de homogeneidade de variâncias residuais para a realização das análises conjuntas (PIMENTEL-GOMES, 1990). Todos os efeitos foram considerados fixos, com exceção do efeito de bloco e o erro médio. O modelo empregado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + a_k + r_{j(k)} + e_{ijk}$$

em que

Y_{ijk} = observação referente ao i -ésimo tratamento dentro da j -ésima repetição, no k -ésimo ambiente;

μ = média geral;

T_i = efeito do i -ésimo tratamento ($i = 1, 2, \dots, 49$);

a_k = efeito do k -ésimo ambiente ($k = 1, 2$ e 3 para produtividade e aspecto de grãos, ou $k = 1, 2$ para arquitetura de planta);

$r_{j(k)}$ = efeito da j -ésima repetição dentro do k -ésimo ambiente ($j = 1, 2, 3$); e

e_{ijk} = erro aleatório, $e_{ijk} \sim (0, \sigma^2)$.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se os programas computacionais MSTAT-C (1991) e GENES (CRUZ, 2006).

4.7. Seleção de plantas dentro das famílias

Com base nos dados moleculares e nas avaliações de campo, conforme itens 4.5.1 e 4.6, respectivamente, as melhores famílias de cada população foram selecionadas com vistas à extração de linhagens. Amostras de sementes destas famílias foram semeadas em vasos em casa de vegetação, fazendo-se uso do mesmo substrato descrito no item 4.3.1. Em uma primeira fase foi inoculada a mistura das raças 65 e 453 de *C. lindemuthianum*, conforme citado no item 4.3.1.1. As plantas com sintomas da doença foram eliminadas e as resistentes inoculadas com a raça 31-17 de *P. griseola*, conforme descrito no item 4.3.1.2., ou seja, somente as plantas que se mostraram resistentes às raças de *C. lindemuthianum* foram inoculadas.

Estas inoculações foram realizadas fazendo-se uso somente de casa de vegetação, ou seja, dispensou-se a passagem das plantas pela câmara de nevoeiro, conforme rotineiramente realizado em inoculações artificiais. É sabido que as plantas sofrem muito com a mudança das condições ambientais no período pós-câmara de nevoeiro, onde elas encontram condições bem diferentes na casa de vegetação. Sendo assim, nesta etapa seria necessário a passagem pela câmara de nevoeiro por duas vezes, tendo em vista a inoculação sequencial que foi realizada. Isto poderia acarretar grande perda de plantas, além de dificultar a realização do trabalho.

A casa de vegetação utilizada possui sistema automático de controle de temperatura, irrigação e luminosidade. Após as inoculações, o painel de controle da mesma foi ajustado para que o sistema de irrigação fosse ativado por aproximadamente um minuto a cada hora, por um período de quatro dias. O sistema de resfriamento era ativado automaticamente sempre que a temperatura interna ultrapassava 26 °C e desligado quando a temperatura retornava a 24 °C.

4.7.1. Genotipagem das plantas selecionadas

As plantas selecionadas após as inoculações foram genotipadas para a confirmação da presença dos alelos que conferem resistência aos referidos patótipos e que estão presentes no genitor Rudá-R. Para isto, folhas dessas plantas foram coletadas para extração de DNA, conforme metodologia de Doyle e Doyle (1990). Todo o processo de amplificação das reações está descrito no item 4.3.2. As bandas de DNA foram visualizadas sob luz ultravioleta e fotodigitalizadas, utilizando o sistema de fotodocumentação L. PIX – *Molecular Imaging* (Locus Biotecnologia).

Os marcadores utilizados, bem como os respectivos genes de resistência, estão descritos na Tabela 2.

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

Marcador*	Distância (cM)	Gene de Resistência	Fonte de Resistência	Referência
SCARY20 _{830a} *	0,0	<i>Co-4</i>	TO	Arruda <i>et al.</i> (2000)
SCARF10 _{1050a} *	4,3	<i>Co-10</i> e <i>Ur-ON</i>	Ouro Negro	Correa <i>et al.</i> (2000)
SCARBA08 _{560a} *	6,0	<i>Ur-ON</i>	Ouro Negro	Correa <i>et al.</i> (2000)
SCARH13 _{520a} *	5,6	<i>Phg-1</i>	AND 277	Carvalho <i>et al.</i> (1998) Queiroz <i>et al.</i> (2004a)
SCARAS13 _{950a} *	0,0	<i>Co-4</i>	TO	Young <i>et al.</i> (1998)

cM: (centimorgan) distância genética dos marcadores moleculares em relação aos genes de resistência.

*a: fase de acoplamento.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização fenotípica e molecular dos genitores

Conforme dados apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5 observa-se que a linhagem Rudá-R, utilizada como genitor doador, mostrou-se resistente a todas as raças de *C. lindemuthianum* e de *U. appendiculatus* utilizadas nas inoculações; contudo, foi suscetível aos patótipos 63-15, 63-39, 63-47 e 63-63 de *P. griseola*. Esse resultado já era esperado, uma vez que a linhagem Rudá-R é produto de piramidação de genes de resistência a patógenos do feijoeiro, programa este conduzido no BIOAGRO/UFV (RAGAGNIN, 2004). Já as linhagens VC 8, VC 9 e BRSMG Talismã, utilizadas como genitores recorrentes, apresentaram suscetibilidade a um ou outro patógeno ou algumas raças específicas de determinado patógeno (Tabelas 3, 4 e 5).

Tabela 3 – Severidade média dos genitores com relação a diferentes patótipos de *C. lindemuthianum*. Viçosa-MG, 2009

Genótipos	Patótipos de <i>C. lindemuthianum</i>							
	8	9	55	65	73	81	89	453
Rudá-R	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
VC 8	7,7	8,1	6,6	8,7	7,7	8,0	9,0	8,4
VC 9	1,0	1,0	1,0	8,6	1,0	1,0	1,0	1,0
BRSMG Talismã	1,0	1,8	1,0	1,0	1,0	1,8	1,0	7,0
Pérola	7,6	8,5	6,0	9,0	8,2	9,0	1,0	7,5

Severidade média da doença, com base no uso de escala de notas de 1 a 9, de acordo com escala descrita por Pastor-Corrales (1992). Genótipos com médias superiores a 3,0 foram considerados suscetíveis.

Tabela 4 – Severidade média dos genitores com relação a diferentes patótipos de *P. griseola*. Viçosa-MG, 2009

Genótipos	Patótipos de <i>P. griseola</i>						
	31-17	63-15	63-23	63-31	63-39	63-47	63-63
Rudá-R	1,0	8,0	1,0	1,0	8,2	8,0	9,0
VC 8	1,0	1,0	1,0	1,0	1,2	1,0	1,0
VC 9	6,0	1,0	1,0	4,8	2,5	4,8	2,4
BRSMG Talismã	1,0	5,8	7,2	4,0	5,5	5,8	7,0
Pérola	6,0	8,0	3,0	7,0	8,4	9,0	9,0

Severidade média da doença, com base no uso de escala de notas de 1 a 9, de acordo com escala descrita por Pastor-Corrales e Jara (1995). Genótipos com médias superiores a 3,0 foram considerados suscetíveis.

Tabela 5 – Severidade média dos genitores com relação a diferentes patótipos de *U. appendiculatus*. Viçosa-MG, 2009

Genótipos	Patótipos de <i>U. appendiculatus</i>					
	21-3	29-15	29-3	53-3	53-7	63-19
Rudá-R	1,0	3,0	2,0	2,0	3,0	2,8
VC 8	-	-	-	-	-	-
VC 9	3,0	5,9	3,3	3,0	6,0	5,0
BRSMG Talismã	2,0	2,0	1,2	2,7	2,0	5,0

Fonte: Arruda (2009).

Severidade média da doença, com base no uso de escala de notas de 1 a 6, segundo escala de nota proposta por Stavely *et al.* (1983). Genótipos com médias superiores a 3,0 foram considerados suscetíveis.

A linhagem VC 9 apresentou resistência à maioria das raças de *C. lindemuthianum*, *P. griseola* e *U. appendiculatus*, utilizadas nas inoculações. Estes resultados são coerentes, visto que esta linhagem, obtida por Melo *et al.* (2006), foi selecionada como resistente a diferentes raças de *C. lindemuthianum* e *U. appendiculatus*. Fato interessante pode ser observado com relação à reação ao patógeno da mancha-angular, pois esta linhagem foi resistente a três dos quatro patótipos em que a linhagem Rudá-R apresentou suscetibilidade (raças 63-15, 63-39 e 63-63), mostrando, assim, boa complementaridade destes pais com relação a estes caracteres. Em contrapartida, observou-se que a linhagem VC 8 apresentou reação de compatibilidade com todas as raças do patógeno da antracnose, porém foi resistente a todas as raças de *P. griseola* que foram utilizadas neste trabalho. Observando-se o padrão de resistência das linhagens VC 8 e VC 9, observa-se que elas apresentam ampla resistência aos patótipos da mancha-angular utilizadas neste estudo, sendo resistente a vários patótipos em que a

linhagem Rudá-R apresenta suscetibilidade. Assim, pode-se dizer que, não é somente o gene *Phg-1*, que está presente na Rudá-R, que está conferindo esta resistência. Então, concluiu-se que o gene *Phg-ON*, que também confere resistência à mancha-angular, e que está presente na cultivar Ouro Negro (CORRÊA *et al.*, 2001), também está presente nestas linhagens. Desta maneira, pode-se inferir que a junção dos genes *Phg-1* e *Phg-ON* confere maior espectro de resistência à *P. griseola*. De modo geral, a cultivar BRSMG Talismã apresentou bons níveis de resistência à antracnose e à ferrugem, sendo suscetível apenas à raça 453 de *C. lindemuthianum* e à 63-19 de *U. appendiculatus*. Contudo, esta linhagem apresentou suscetibilidade à maioria das raças de *P. griseola*. Diversos trabalhos mostraram esse mesmo resultado (SOUZA *et al.*, 2005; MELO *et al.*, 2008; ARRUDA, 2009).

Resultados semelhantes aos aqui obtidos, com relação à severidade dos sintomas causados pela maioria dos patótipos dos fungos da antracnose e da mancha-angular (Tabelas 3 e 4), foram encontrados por Arruda (2009), quando as linhagens VC 9 e Rudá-R e as cultivares BRSMG Talismã e Pérola foram caracterizadas.

De acordo com os resultados da caracterização fenotípica dos genitores das linhagens VC 8, VC 9, Talismã e Rudá-R, de modo geral, pode-se justificar o uso do genitor Rudá-R como fonte doadora de genes de resistência aos patógenos da antracnose, mancha-angular e ferrugem.

Na Tabela 6 é apresentada a caracterização molecular dos genitores quanto aos marcadores de genes de resistência aos patógenos referidos na Tabela 2. Como esperado, a linhagem Rudá-R apresentou produtos de amplificação para os cinco pares de *primers* utilizados nesse estudo. Outros autores que realizaram a caracterização desta linhagem para os *primers* descritos na Tabela 2, também encontraram este mesmo resultado (SANGLARD *et al.*, 2007; MELO *et al.*, 2008; ARRUDA, 2009). A caracterização molecular dos genitores recorrentes evidenciou a possibilidade do monitoramento da maioria dos genes presentes na linhagem Rudá-R, nas populações sob seleção; exceções são feitas com relação à BRSMG Talismã e VC 9. Esta primeira não foi polimórfica para o marcador SCARH13. Este resultado contradiz aquele encontrado por Melo *et al.* (2008), em que esta cultivar não mostrou a referida banda. Contudo, estudo realizado por Sanglard *et al.* (2007) corrobora o resultado aqui encontrado, visto que o *primer* SCARH13 amplificou o DNA desta cultivar.

Tabela 6 – Caracterização molecular dos genótipos de feijão utilizados com genitores, com padrões de presença/ausência de marcas moleculares. Viçosa-MG, 2009

Genótipos	Marcadores				
	SCARH13 (Phg1) ¹	SCARY20 (Co-4) ¹	SCARF10 (Co-10 e Ur-ON) ¹	SCARAS13 (Co-4) ¹	SCARBA08 (Ur-ON) ¹
Rudá-R	+ ²	+	+	+	+
VC 8	-	-	-	-	-
VC 9	-	+	-	-	+/-
BRSMG Talismã	+	-	-	-	-

¹ Alelos de resistência ligados aos respectivos marcadores; ² + = presença da marca, - = ausência da marca; +/- = segregação durante a caracterização.

A linhagem VC 9 apresentou amplificação referente ao *primer* SCARY20, que marca o gene *Co-4* e, portanto, não permitindo o monitoramento deste alelo na população proveniente deste genitor, tratando-se de um falso positivo, haja vista que esta linhagem mostrou-se suscetível à raça 65 (Tabela 3) e, portanto, não possui o alelo *Co-4*. É sabido que esta linhagem possui o alelo *Co-10* proveniente da cultivar Ouro Negro (MELO *et al.*, 2008). Este fato é confirmado com a caracterização fenotípica em que VC 9 mostrou-se resistente a raça 453 de *C. lindemuthianum* (Tabela 3). Entretanto, foi verificada a possibilidade da utilização do marcador SCARAS13 para monitoramento do alelo *Co-4* na população VC 9 x Rudá-R. Com relação a esta mesma linhagem, o marcador SCARF10 não foi amplificado neste genótipo e também apenas algumas amostras foram amplificadas quando utilizado o marcador SCARBA08. Isto a princípio não era previsto, tendo em vista a relatada genealogia desta linhagem, de acordo com a qual era esperada a presença das referidas marcas moleculares ligadas ao bloco gênico *Co-10/Ur-ON*. Em uma caracterização fenotípica e molecular desta mesma linhagem, Arruda (2009) encontrou mesmos resultados.

5.2. Seleção de plantas RC₁F₁

Das 350 plantas RC₁F₁ inoculadas com a raça 65 de *C. lindemuthianum*, 138 apresentaram resistência, resultando na seleção de 46 plantas do cruzamento BRSMG Talismã/Rudá-R//BRSMG Talismã (população 410), 65 do cruzamento VC 9/Rudá-R//VC 9 (população 411) e 27 do cruzamento VC 8/Rudá-R//VC 8 (população 412).

Vale salientar que esta raça possui ampla distribuição no território nacional (RAVA *et al.*, 1994) e aparentemente é uma raça que atualmente tem causado grandes prejuízos para a cultura do feijoeiro.

Com base na caracterização molecular dos genitores (Tabela 6), foram selecionados alguns marcadores visando monitorar os alelos de resistência aos patógenos da antracnose, mancha-angular e ferrugem, conforme a possibilidade em cada população. Assim, as plantas das populações 410 e 412 foram genotipadas utilizando-se o marcador SCARY20, visando confirmar a presença do alelo *Co-4* que confere resistência à antracnose (raça 65). Também foi realizada a genotipagem das populações 411 e 412 com o marcador SCARH13 (gene *Phg1*) e das três populações com o marcador SCARF10, ligado ao bloco gênico *Co-10/Ur-ON*. Considerando os dados da caracterização fenotípica e molecular e do aspecto dos grãos, foram selecionadas 44 plantas (Tabela 7) que deram origem às famílias submetidas ao teste de campo.

Tabela 7 – Caracterização fenotípica (raça 65 de *C. lindemuthianum*) e molecular das 44 plantas selecionadas e dos genitores quanto à reação aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha-angular

Planta	Nome	Inoculação Artificial Antracnose (Raça 65)	Marcadores		
			SCARY20 (<i>Co-4</i>) ¹	SCARF10 (<i>Co-10 e Ur-ON</i>) ¹	SCARH13 (<i>Phg-1</i>) ¹
1	410F2-1	R	+ ²	+	*
2	410F2-4	R	-	+	*
3	410F2-50	R	+	+	*
4	410F2-59	R	+	+	*
5	410F2-90	R	+	+	*
6	410F2-91	R	+	+	*
7	410F2-115	R	+	+	*
8	410F2-125	R	+	+	*
9	410F2-135	R	+	-	*
10	410F2-155	R	+	+	*
11	410F2-161	R	+	+	*
12	410F2-165	R	+	+	*
13	411F2-6	R	*	+	+
14	411F2-35	R	*	+	+
15	411F2-49	R	*	+	+
16	411F2-58	R	*	+	+
17	411F2-67	R	*	+	+

Continua...

Tabela 7, cont.

Planta	Nome	Inoculação Artificial Antracnose (Raça 65)	Marcadores		
			SCARY20 (Co-4) ¹	SCARF10 (Co-10 e Ur-ON) ¹	SCARH13 (Phg-1) ¹
18	411F2-69	R	*	+	+
19	411F2-71	R	*	+	+
20	411F2-76	R	*	+	+
21	411F2-85	R	*	+	+
22	411F2-96	R	*	+	+
23	411F2-119	R	*	+	+
24	411F2-120	R	*	+	+
25	411F2-126	R	*	+	+
26	411F2-139	R	*	+	+
27	411F2-145	R	*	+	+
28	411F2-150	R	*	+	+
29	411F2-151	R	*	+	+
30	412F2-1	R	+	+	+
31	412F2-4	R	+	+	+
32	412F2-13	R	+	+	-
33	412F2-14	R	+	+	+
34	412F2-16	R	+	+	-
35	412F2-27	R	+	+	+
36	412F2-31	R	+	+	-
37	412F2-37	R	+	+	-
38	412F2-41	R	+	+	+
39	412F2-45	R	+	-	+
40	412F2-55	R	+	+	+
41	412F2-61	R	+	+	-
42	412F2-65	R	+	+	+
43	412F2-71	R	+	+	+
44	412F2-86	R	+	+	+
45	BRSMG Talismã	R	-	-	+
46	VC 8	S	-	-	-
47	VC 9	S	+	-	-
48	Rudá-R	R	+	+	+

¹ Alelos de resistência ligados aos respectivos marcadores; R – resistente / S – suscetível; ² + = presença da marca / - = ausência da marca; e * genitores não polimórficos.

De modo geral, observou-se boa concordância entre os dados moleculares e os obtidos com inoculação artificial (raça 65 de *C. lindemuthianum*) (Tabela 7). Do total de 44 plantas selecionadas, somente oito não apresentaram todas as marcas de interesse. No entanto, estas plantas foram mantidas em virtude da resistência à antracnose (raça 65)

e do excelente aspecto dos grãos. Somente uma das plantas resistentes à raça 65, sob inoculação, não apresentou a marca referente ao marcador SCARY20. Este resultado mostra que é viável a seleção indireta com a utilização de marcadores moleculares.

5.3. Avaliação das famílias selecionadas

Os resumos das análises de variância individuais referentes à avaliação da produtividade e do aspecto de grãos das famílias avaliadas nas gerações RC₁F_{1:3}, RC₁F_{1:4} e RC₁F_{1:5}, nas safras da seca e inverno de 2007 e seca de 2008, respectivamente, são apresentados nas Tabelas 8 e 9. Na Tabela 10 são apresentadas as análises referentes à arquitetura de plantas, das gerações RC₁F_{1:3} e RC₁F_{1:5}, avaliada na seca de 2007 e seca 2008. De modo geral, os experimentos apresentaram boa precisão experimental, com coeficientes de variação abaixo dos normalmente relatados na literatura para experimentos e caracteres dessa natureza (MARQUES JR. *et al.*, 1997).

Tabela 8 – Resumo das análises de variância da produtividade de grãos (kg/ha) referente à avaliação de famílias nas gerações RC₁F_{1:3}, RC₁F_{1:4} e RC₁F_{1:5}, nas safras seca e inverno de 2007 e seca de 2008, respectivamente. Coimbra-MG

FV	GL	QM		
		Seca/2007	Inverno/2007	Seca/2008
Tratamentos (T)	48	522892,378**	852380,239**	239165,585**
Famílias (F)	43	533483,209**	865726,319**	216727,376**
F. População 410	11	311542,506 ^{ns}	609471,389**	182073,723*
F. População 411	16	317273,932 ^{ns}	549571,833**	105929,326 ^{ns}
F. População 412	14	364983,737 ^{ns}	391367,585**	181494,57**
Entre Populações	2	4285071,366**	8893534,915**	1554502,742**
Testemunhas (Te)	4	519689,581 ^{ns}	921746,824**	475352,221**
F vs Te	1	80241,841 ^{ns}	1016,124 ^{ns}	259296,227 ^{ns}
Erro efetivo	78	246380,197	116254,635	75865,277
CV (%)		14,08	10,37	8,65
Média famílias		3532,65	3287,67	3198,40
Média Testemunhas		3455,47	3278,99	3059,40

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

Tabela 9 – Resumo das análises de variância referente ao aspecto de grãos de famílias RC₁F_{1:3}, RC₁F_{1:4} e RC₁F_{1:5}, avaliadas nas safras da seca e inverno de 2007 e seca de 2008. Coimbra-MG

FV	GL	QM		
		Seca/2007	Inverno/2007	Seca/2008
Tratamentos (T)	48	0,655**	0,428**	0,307**
Famílias (F)	43	0,605**	0,354**	0,175**
F. População 410	11	0,123 ^{ns}	0,485**	0,194**
F. População 411	16	0,237 ^{ns}	0,135 ^{ns}	0,203**
F. População 412	14	0,288 ^{ns}	0,419**	0,101 ^{ns}
Entre Populações	2	8,185**	0,854**	0,321 ^{ns}
Testemunhas (Te)	4	1,308**	1,309**	1,725**
F vs Te	1	0,143 ^{ns}	0,045 ^{ns}	0,338*
Resíduo	96	0,193	0,084	0,068
CV (%)		14,44	12,00	10,17
Média famílias		3,03	2,41	2,54
Média Testemunhas		3,13	2,47	2,70

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

Tabela 10 – Resumo das análises de variância da arquitetura de planta referente à avaliação de famílias nas gerações RC₁F_{1:3} e RC₁F_{1:5}, nas safras seca de 2007 e 2008. Coimbra-MG

FV	GL	QM	
		Seca/2007	Seca/2008
Tratamentos (T)	48	0,184**	0,246**
Famílias (F)	43	0,189**	0,257**
F. População 410	11	0,183**	0,144**
F. População 411	16	0,147**	0,179**
F. População 412	14	0,116*	0,134**
Entre Populações	2	0,993**	2,185**
Testemunhas (Te)	4	0,162*	0,159*
F vs Te	1	0,041 ^{ns}	0,135 ^{ns}
Erro efetivo	78	0,056	0,048
CV (%)		4,04	7,34
Média famílias		3,37	2,99
Média Testemunhas		3,31	3,09

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

Observou-se efeito significativo ($P < 0,01$) para a fonte de variação famílias, para todos os caracteres avaliados e em todas as safras, evidenciando ampla variabilidade entre as famílias com relação a esses caracteres. Estes resultados indicam que os pais utilizados nos cruzamentos apresentam diferentes genes para os caracteres em questão. O contraste famílias *versus* testemunhas foi não significativo para todos os caracteres e em todas as safras, exceto para aspecto de grãos na safra da seca de 2008, indicando que, em média, as 44 famílias avaliadas apresentaram comportamento semelhante à média das cinco testemunhas. De certa forma, isso era esperado, visto que estas famílias são provenientes de retrocruzamentos e quatro das cinco testemunhas utilizadas nos ensaios foram os próprios genitores recorrentes.

Observou-se efeito significativo ($P < 0,01$) para a fonte de variação entre populações, para todos os caracteres avaliados e em todas as safras, exceto para o caráter aspecto de grãos na safra da seca de 2008, evidenciando que pelo menos uma população se diferenciou das demais.

Na Tabela 11 é apresentado o resumo das análises de variância conjunta, referentes à avaliação das famílias, para os caracteres produtividade, aspecto de grãos e arquitetura de plantas. Foram detectadas diferenças significativas entre famílias, para todos os caracteres avaliados. Para produtividade e aspecto de grãos não foram observados efeitos significativos para a fonte de variação famílias dentro de populações. Entretanto, conforme já detectado nas análises individuais, observou-se diferença significativa entre populações.

Na maioria dos casos, as interações F x A e seus desdobramentos foram significativos ($P < 0,01$) para produtividade e aspecto de grãos. Para arquitetura de planta não foram observadas significâncias para as interações. Este fato indica comportamento consistente das famílias quanto a esse caráter. Contudo, vale salientar que esta característica foi avaliada em apenas dois anos e na mesma safra (seca).

Avaliando o comportamento das famílias das três populações (Tabela 12), verificou-se excelente desempenho da população 412, destacando-se quanto a todos os caracteres avaliados. Entre as 15 famílias mais produtivas essa população contribuiu com seis delas. Contudo, foram nos caracteres aspecto de grãos e arquitetura de planta que essa população mais se destacou, apresentando, respectivamente, 13 e 10 famílias, entre as 15 de melhor desempenho. Isso é compreendido e justificado pelo fato de que

Tabela 11 – Resumo das análises de variância da produtividade de grãos (kg/ha), notas de aspecto comercial de grão (1 a 5) e arquitetura de planta (1 a 5), referentes às 44 famílias avaliadas nas safras da seca/inverno de 2007 e seca de 2008. Coimbra, MG

FV	GL	QM		QM	
		Produtividade	Arquitetura	GL	Aspecto Grão
Ambientes (A)	2 (1) ¹	4492025,50**	9,55**	2	5,27**
Tratamentos (T)	48 (48)	689425,32*	0,37**	48	0,85**
Famílias (F)	43 (43)	669997,29*	0,39**	43	0,58**
F. População 410	11 (11)	614519,41 ^{ns}	0,28**	11	0,43 ^{ns}
F. População 411	16 (16)	410899,81 ^{ns}	0,28**	16	0,28 ^{ns}
F. População 412	14 (14)	159575,43 ^{ns}	0,18**	14	0,29 ^{ns}
Entre Populações	2 (2)	6620858,42**	3,32**	2	5,89**
Testemunhas (Te)	4 (4)	1014002,30 ^{ns}	0,31**	4	3,85**
F vs Te	1 (1)	226522,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}	1	0,46 ^{ns}
T x A	96 (48)	462506,05**	0,06 ^{ns}	96	0,27**
F x A	86 (43)	472969,81**	0,06 ^{ns}	86	0,28**
F. População 410 x A	22 (11)	244284,11*	0,05 ^{ns}	22	0,19*
F. População 411 x A	32 (16)	280937,64**	0,05 ^{ns}	32	0,15 ^{ns}
F. População 412 x A	28 (14)	389135,23**	0,07 ^{ns}	28	0,26**
Entre Pop. x A	4 (2)	3853840,58**	0,13 ^{ns}	4	1,96**
Te x A	8 (4)	451393,16**	0,01 ^{ns}	8	0,24*
F vs Te x A	2 (1)	57016,03 ^{ns}	0,12 ^{ns}	2	0,03 ^{ns}
Erro Médio	234 (156)	146166,70	0,05	288	0,12
CV (%)		11,78	4,37		11,23
Média Famílias		3339,49	3,18		2,66
Média Testemunhas		3264,62	3,20		2,77

¹ Valores entre parêntese referem-se aos graus de liberdade para arquitetura de planta.

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

um dos genitores dessa população, a linhagem VC 8, foi detentora das melhores médias, dentre as testemunhas, com relação a todos os caracteres avaliados (Tabela 12).

Na Tabela 13 estão apresentadas as médias de produtividade e os aspectos de grãos referentes à avaliação de famílias RC₁F_{1:3}, RC₁F_{1:4} e RC₁F_{1:5}, nas safras da seca e inverno de 2007 e seca de 2008, e médias de arquitetura de plantas nas safras da seca de 2007 e de 2008. Das 44 famílias avaliadas, nove apresentaram produtividade estatisticamente superior, pelo teste de Dunnett, à BRSMG Talismã e 40 se equipararam à cultivar Majestoso. A maioria das famílias apresentou excelente aspecto de grãos, comparando-se às testemunhas BRSMG Talismã e Majestoso, cultivares estas de boa aceitação no mercado. Vale ressaltar que a família 43 se destacou quanto ao referido caráter. Com relação à arquitetura de planta, 16 famílias foram superiores à cultivar BRSMG Talismã e 37 apresentaram o mesmo comportamento da cultivar Majestoso.

Tabela 12 – Médias e número de famílias por população entre as 15 de melhor desempenho (NF15+) quanto à produtividade (kg/ha), aspecto de grãos (1 - 6¹) e arquitetura de planta (1 - 5²)

	Produtividade de Grãos			Aspecto de Grãos			Arquitetura de Planta		
	Média	NF15+	LI - LS	Média	NF15+	LI - LS	Média	NF15+	LI - LS
Famílias	3339,49			2,66			3,18		
Pop. 410	3041,13	0	2709,79-3477,35	2,72	1	2,33-3,17	3,23	2	2,94-3,67
Pop. 411	3443,02	9	2784,85-3400,18	2,82	1	2,39-3,17	3,33	3	2,93-3,62
Pop. 412	3460,85	6	3035,46-3821,53	2,43	13	2,06-2,72	2,97	10	2,71-3,30
BRSMG Talismã*	3073,86			2,61			3,42		
VC 8	3687,29			2,06			2,91		
VC 9	3396,01			2,78			3,43		
Rudá-R	2806,95			3,83			3,18		
Majestoso	3358,97			2,56			3,07		

¹ Escala de notas segundo Marques Jr. *et al.* (1997); e ² Escala de notas modificada segundo Collicchio *et al.* (1997).

* Testemunhas. LI = limite inferior; e LS = limite superior.

Tabela 13 – Médias de produtividade de grãos (kg/ha), aspecto de grãos (1 - 5¹) e arquitetura de planta (1 - 5²), referentes à avaliação de famílias RC₁F_{1:3}, RC₁F_{1:4} e RC₁F_{1:5}, nas safras da seca e inverno de 2007 e seca de 2008. Coimbra-MG

População	Nº da Família	Produtividade	Aspecto Grão	Arquitetura
411	25	3839,5 bc e	2,78 a c e	3,19 a bc d e
412	41	3694,8 bc e	2,39 a bc e	3,12 a bc d e
411	21	3681,5 bc e	2,89 a c e	3,22 a bc d e
411	19	3660,7 bc e	2,72 a c e	2,98 b d e
411	29	3631,7 bc e	2,78 a c e	3,01 b d e
412	34	3613,4 bc e	2,39 a bc e	2,92 b d e
412	30	3609,6 bc e	2,50 a bc e	2,71 b e
412	38	3608,5 bc e	2,67 a c e	2,76 b e
411	24	3588,6 a bc e	2,67 a c e	2,93 b d e
412	39	3571,7 a bc e	2,50 a bc e	2,96 b d e
411	27	3525,6 a bc e	2,89 a c e	3,62 a
411	16	3525,3 a bc e	3,00 a c e	3,48 a cd
412	36	3500,1 a bc e	2,44 a bc e	3,05 a bc d e
411	26	3488,3 a bc e	3,17 c	3,35 a c d e
411	18	3453,5 a bc e	2,72 a c e	3,25 a bc d e
412	33	3451,6 a bc e	2,55 a c e	3,14 a bc d e
412	35	3427,6 a bc e	2,50 a bc e	3,30 a c d e
412	31	3419,9 a bc e	2,50 a bc e	2,84 b d e

Continua...

Tabela 13, cont.

População	Nº da Família	Produtividade	Aspecto Grão	Arquitetura
412	37	3412,7 a bc e	2,11 b e	2,93 b de
411	23	3402,9 a bc e	2,78 a c e	3,46 a cde
410	10	3387,7 a bc e	2,55 a c e	3,37 a cde
411	17	3383,1 a bc e	2,83 a c e	3,58 a c
411	20	3370,7 a bc e	2,78 a c e	3,35 a cde
412	42	3369,0 a bc e	2,72 a c e	3,26 a bcde
412	32	3353,6 a bc e	2,44 a bc e	2,89 b de
410	12	3349,4 a bc e	2,89 a c e	3,01 b de
412	44	3339,4 a bc e	2,39 a bc e	2,91 b de
411	13	3336,1 a bc e	2,67 a c e	3,61 a c
411	22	3326,4 a bcde	2,39 a bc e	3,37 a cde
412	43	3271,3 a bcde	2,06 b	2,79 b de
412	40	3269,4 a bcde	2,28 a b e	2,91 b de
410	7	3257,8 a bcde	2,78 a c e	3,24 a bcde
411	28	3196,9 a bcde	3,00 a c e	3,34 a cde
410	6	3179,7 a bcde	2,67 a c e	3,06 a bcde
410	2	3124,2 a cde	2,67 a c e	2,94 b de
411	14	3121,1 a cde	3,00 a c e	3,53 a cd
410	4	3113,9 a cde	3,17 c	3,27 a bcde
410	11	3096,9 a cde	2,55 a c e	3,52 a cd
410	1	3092,6 a cde	2,61 a c e	2,97 b de
411	15	2999,3 a cde	2,94 a c e	3,38 a cde
410	3	2885,9 a cde	2,94 a c e	3,19 a bcde
410	5	2722,7 a d	2,83 a c e	3,33 a cde
410	8	2699,2 a d	2,33 a bc e	3,63 a c
410	9	2583,4 a d	2,61 a c e	3,19 a bcde
BRSMG Talismã	45	3073,9 a	2,61 a	3,42 a
VC 8	46	3687,3 b	2,06 b	2,91 b
VC 9	47	3396,0 c	2,78 c	3,43 c
Rudá-R	48	2806,9 d	3,83 d	3,18 d
Majestoso	49	3358,9 e	2,56 e	3,07 e

¹ Escala de notas segundo Marques Jr. *et al.* (1997); ² Escala de notas modificada segundo Collicchio *et al.* (1997).

Médias seguidas pelas letras a, b, c, d, e e, não diferem das testemunhas, BRSMG Talismã, VC 8, VC 9, Rudá-R e Majestoso, respectivamente, pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Das 44 famílias avaliadas, 13 mostraram-se promissoras (4, 6, 11, 12, 13, 19, 22, 24, 30, 31, 38, 40 e 44) para extração de linhagens, pois, além de se destacarem quanto ao conjunto de caracteres avaliados, são provenientes de plantas resistentes à raça 65 de *C. lindemuthianum* e portadoras de marcas moleculares associadas aos genes de resistência de interesse deste trabalho.

5.4. Extração de linhagens das famílias selecionadas

Após a realização dos experimentos de campo, foram selecionadas 13 famílias, sendo quatro da população 410, quatro da população 411 e cinco da população 412 (Tabela 14). Conforme já relatado, a seleção foi realizada levando-se em consideração as avaliações de campo (Tabela 13) e os dados de caracterização fenotípica e molecular (Tabela 7).

Em casa de vegetação, foram cultivadas em vasos, 40 plantas de cada uma das 13 famílias selecionadas. Aos sete dias após a emergência das plantas, elas foram inoculadas com uma mistura dos patótipos 65 e 453 de *C. lindemuthianum*. As plantas que apresentaram sintomas da doença foram descartadas, restando 142 plantas resistentes, sendo 67 da população 410, 48 da população 411 e 27 da população 412 (Tabela 14). Posteriormente, elas foram inoculadas com a raça 31-17 e *P. griseola*. Foram obtidas 48, 32 e 15 plantas resistentes à referida raça, provenientes das populações 410, 411 e 412, respectivamente (Tabela 14). Ao contrário do observado na inoculação com antracnose (raças 65 e 453), em que todas as famílias apresentaram plantas resistentes, três destas não apresentaram nenhuma planta resistente à mancha-angular (patótipo 31-17). Isto se explica pelo fato de que, nessas populações, poucas plantas apresentaram resistência à antracnose. Das 95 plantas resistentes à antracnose e à mancha-angular foram coletadas folhas para extração de DNA visando monitoramento dos alelos de resistência aos patógenos mencionados.

Tabela 14 – Caracterização fenotípica das famílias selecionadas quanto à reação aos patógenos da antracnose (raças 65 e 453) e mancha-angular (raça 31-17)

Família	Nome	Antracnose			Mancha-angular	
		NPI ¹	NPR ²	NPS ³	NPR ²	NPS ³
4	410F2-59	40	8	32	4	4
6	410F2-91	40	23	17	21	2
11	410F2-161	40	6	34	2	4
12	410F2-165	40	30	10	21	9
13	411F2-6	40	18	22	16	2
19	411F2-71	40	8	32	7	1
22	411F2-96	40	21	19	9	12
24	411F2-120	40	1	39	0	1
30	412F2-1	40	2	38	0	2
31	412F2-4	40	10	30	9	1
38	412F2-41	40	6	34	1	5
40	412F2-55	40	6	34	5	1
44	412F2-86	40	3	37	0	3

¹ Número de plantas inoculadas; ² Número de plantas resistentes; e ³ Número de plantas suscetíveis.

5.4.1. Genotipagem das plantas selecionadas dentro das famílias

Na Tabela 15 estão apresentados os dados relativos à caracterização molecular das 95 plantas previamente selecionadas com base na caracterização fenotípica, conforme relatado no item 5.4. Parte destes resultados é exemplificada na Figura 1, em que são apresentadas as análises eletroforéticas dos produtos de amplificação para os cinco pares de *primers* SCAR (H13_{520a}, Y20_{830a}, F10_{1050a}, AS13_{950a} e BA08_{560a}).

Para monitorar o alelo *Co-4*, que confere resistência à raça 65 de *C. lindemuthianum*, foram utilizados os marcadores SCARY20 e SCARAS13, uma vez que a população 411 (VC 9/Rudá-R//VC 9) não foi polimórfica para o marcador SCARY20 (Tabela 6). Nesta população foi utilizado apenas o marcador SCARAS13. Observou-se que nas populações 410 (BRSMG Talismã/Rudá-R//BRSMG Talismã) e 412 (VC 8/Rudá-R//VC 8) somente sete plantas não apresentaram produto de amplificação para o marcador SCARY20. No caso do marcador SCARAS13, todas as 95 plantas apresentaram a marca molecular específica. Assim, pode-se afirmar, com base nestes dois marcadores, que todas as plantas, conforme esperado, apresentam o alelo *Co-4*, confirmando a eficiência da inoculação. O mesmo foi constatado com relação ao marcador SCARF10, que marca o alelo *Co-10*, que confere resistência a raça 453 de *C. lindemuthianum*. Aqui, o DNA de todas as plantas também apresentou o produto de amplificação.

Das 47 plantas genotipadas com o marcador SCARH13, seis não apresentaram a marca. Resultados como este são esperados, já que este marcador encontra-se a 5,6 cM do gene. Neste trabalho também foi lançado mão do marcador SCARBA08, marcador do gene de resistência à ferrugem (*Ur-ON*), com o objetivo de se realizar seleção assistida, devido às dificuldades de inoculação com este patógeno. Entretanto, foi possível monitorar somente as populações 410 e 411 com este marcador. Das 63 plantas genotipadas, 50 apresentaram o produto da amplificação. Suas progênies serão avaliadas em campo e constituem material promissor para a composição de futuros Ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU).

Tabela 15 – Caracterização molecular de 95 linhagens de feijão quanto à reação aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha-angular

Tratamento	Planta	Pop.	Família	Marcadores Moleculares				
				SCARH13 (Phg1) ¹	SACARY20 (Co-4) ¹	SCARF10 (Co-10 e Ur-ON) ¹	SCARAS13 (Co-4) ¹	SCARBA08 (Ur-ON) ¹
1	2	410	4	* ²	+	+	+	+
2	5	410	4	*	+	+	+	+
3	6	410	4	*	+	+	+	+
4	7	410	4	*	+	+	+	-
5	8	410	6	*	+	+	+	+
6	9	410	6	*	+	+	+	-
7	10	410	6	*	+	+	+	+
8	11	410	6	*	+	+	+	-
9	12	410	6	*	+	+	+	+
10	13	410	6	*	+	+	+	+
11	14	410	6	*	+	+	+	+
12	15	410	6	*	+	+	+	-
13	16	410	6	*	+	+	+	+
14	17	410	6	*	+	+	+	+
15	18	410	6	*	-	+	+	-
16	19	410	6	*	+	+	+	-
17	20	410	6	*	+	+	+	+
18	21	410	6	*	+	+	+	-
19	22	410	6	*	+	+	+	+
20	23	410	6	*	+	+	+	+
21	24	410	6	*	+	+	+	+
22	25	410	6	*	+	+	+	+
23	26	410	6	*	-	+	+	+
24	27	410	6	*	-	+	+	+
25	28	410	6	*	+	+	+	-
26	33	410	11	*	+	+	+	+
27	34	410	11	*	+	+	+	+
28	35	410	12	*	-	+	+	+
29	36	410	12	*	+	+	+	+
30	38	410	12	*	+	+	+	+
31	39	410	12	*	-	+	+	+
32	40	410	12	*	+	+	+	+
33	42	410	12	*	+	+	+	+
34	43	410	12	*	+	+	+	+
35	44	410	12	*	+	+	+	+
36	45	410	12	*	+	+	+	+
37	46	410	12	*	-	+	+	+
38	47	410	12	*	+	+	+	+
39	50	410	12	*	+	+	+	+
40	51	410	12	*	+	+	+	+
41	52	410	12	*	+	+	+	+
42	55	410	12	*	-	+	+	-
43	57	410	12	*	+	+	+	+
44	58	410	12	*	+	+	+	-
45	59	410	12	*	+	+	+	+
46	60	410	12	*	+	+	+	+
47	61	410	12	*	+	+	+	-
48	62	410	12	*	+	+	+	+
49	64	411	13	+	*	+	+	*

Continua...

Tabela 15, cont.

Tratamento	Planta	Pop.	Família	Marcadores Moleculares				
				SCARH13 (Phg1) ¹	SACARY20 (Co-4) ¹	SCARF10 (Co-10 e Ur-ON) ¹	SCARAS13 (Co-4) ¹	SCARBA08 (Ur-ON) ¹
50	65	411	13	+	*	+	+	*
51	66	411	13	+	*	+	+	*
52	67	411	13	-	*	+	+	*
53	67	411	13	+	*	+	+	*
54	67	411	13	+	*	+	+	*
55	68	411	13	+	*	+	+	*
56	69	411	13	+	*	+	+	*
57	70	411	13	+	*	+	+	*
58	71	411	13	+	*	+	+	*
59	72	411	13	-	*	+	+	*
60	73	411	13	-	*	+	+	*
61	74	411	13	-	*	+	+	*
62	75	411	13	+	*	+	+	*
63	76	411	13	+	*	+	+	*
64	77	411	13	+	*	+	+	*
65	78	411	19	+	*	+	+	*
66	79	411	19	+	*	+	+	*
67	80	411	19	+	*	+	+	*
68	81	411	19	+	*	+	+	*
69	83	411	19	+	*	+	+	*
70	84	411	19	-	*	+	+	*
71	85	411	19	+	*	+	+	*
72	86	411	22	+	*	+	+	*
73	90	411	22	+	*	+	+	*
74	93	411	22	+	*	+	+	*
75	94	411	22	+	*	+	+	*
76	95	411	22	+	*	+	+	*
77	98	411	22	+	*	+	+	*
78	100	411	22	+	*	+	+	*
79	101	411	22	+	*	+	+	*
80	105	411	22	+	*	+	+	*
81	109	412	31	+	+	+	+	+
82	110	412	31	+	+	+	+	-
83	111	412	31	+	+	+	+	+
84	112	412	31	+	+	+	+	+
85	113	412	31	+	+	+	+	+
86	114	412	31	+	+	+	+	+
87	115	412	31	+	+	+	+	+
88	116	412	31	+	+	+	+	+
89	156	412	31	+	+	+	+	+
90	157	412	38	+	+	+	+	+
91	159	412	40	-	+	+	+	+
92	163	412	40	+	+	+	+	-
93	164	412	40	+	+	+	+	+
94	165	412	40	+	+	+	+	+
95	166	412	40	+	+	+	+	+
96	167	VC 8		-	-	-	-	-
97	168	VC 9		-	+	-	-	+ / -
98	169	BRSMG Talismã		+	-	-	-	-
99	170	Rudá-R		+	+	+	+	+

¹ Alelos de resistência ligados aos respectivos marcadores; ² + = presença da marca / - = ausência da marca; e * genitores não polimórficos.

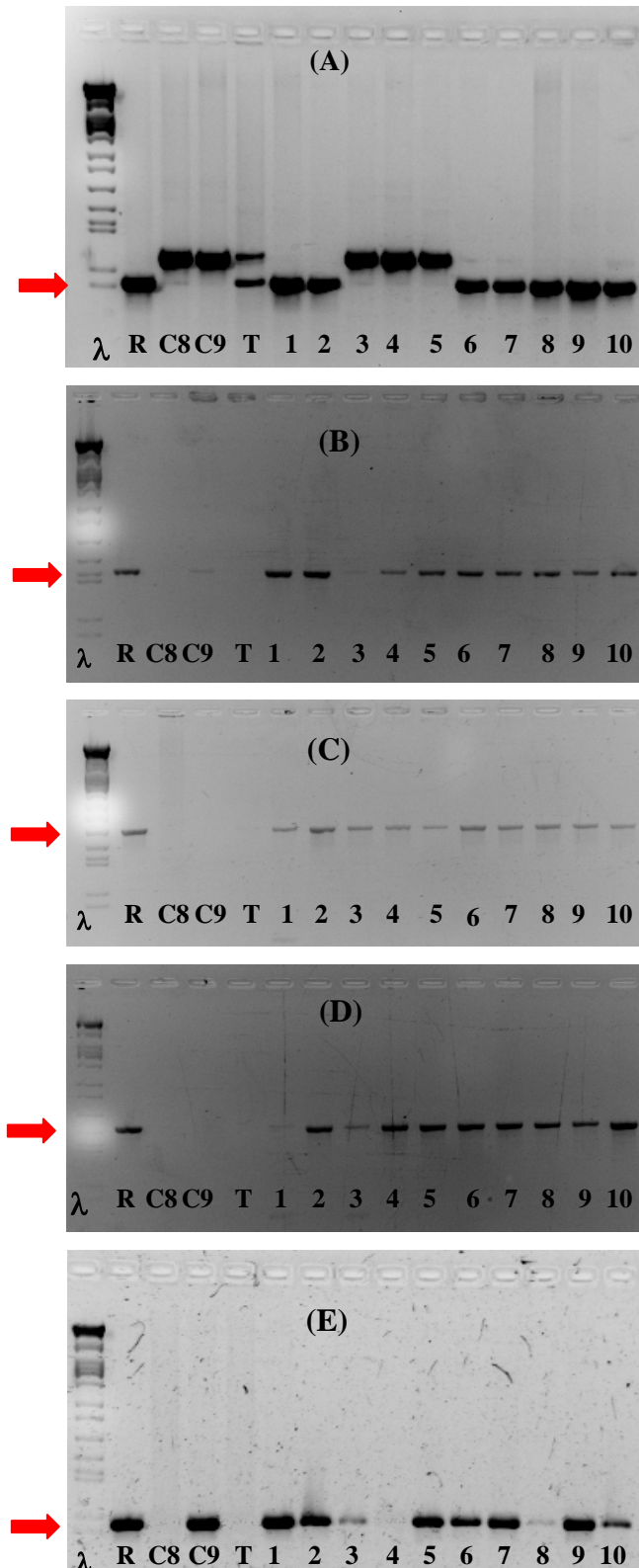


Figura 1 – Análise eletroforética dos produtos de amplificação com cinco pares de *primers* SCAR (H13_{520a}, Y20_{830a}, F10_{1050a}, AS13_{950a} e BA08_{560a}, na sequência A, B, C, D e E), separados em gel de agarose 1,2%. A canaleta 1 contém DNA do marcador de tamanho de fago lambda (λ) digerido com *EcoRI*, *BamHI* e *HindIII*. Os genitores Rudá-R, VC 8, VC 9 e BRSMG Talismã estão representados pelas colunas R, C8, C9 e T, respectivamente. As colunas 1 a 10 correspondem a diferentes plantas das três populações estudadas. As setas indicam as bandas polimórficas ligadas aos alelos ligados aos respectivos marcadores.

6. CONCLUSÕES

O genitor Rudá-R apresentou-se como bom doador de genes de resistência aos patógenos da antracnose, ferrugem e mancha-angular.

A piramidação de genes constitui-se uma estratégia promissora no melhoramento, visando resistência a patógenos.

Marcadores moleculares SCAR são ferramentas importantes no processo de piramidação de genes de resistência aos patógenos do feijoeiro.

O uso de marcadores moleculares associado à inoculação artificial e às avaliações de campo mostrou-se eficiente na obtenção de linhagens de feijoeiro, com ampla resistência aos patógenos da antracnose, mancha-angular e ferrugem.

Das três populações avaliadas, a população 412 (VC 8/Rudá-R//VC 8) destacou-se em relação às demais, apresentando, além da resistência aos patógenos, melhor aspecto de grãos e porte de planta.

Foram derivadas 95 linhagens de feijão resistentes à antracnose, mancha-angular e ferrugem, com potencial agrônomico para serem incluídas nos futuros ensaios de VCU.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L.D'A. **O feijão Carioca**: reflexos de sua adoção. Campinas: IAC, 2000. [n.p.].

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**, v. 22, p. 115-118, 1999.

ALZATE-MARIN, A.L.; ARRUDA, M.C.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. **Anais...** Goiânia: SBMP, 2001. CD-Rom.

ARRUDA, M.C.C.; ALZATE-MARIN, A.L.; CHAGAS, J.M.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Identification of random amplified polymorphic DNA markers linked to the *Co-4* resistance genes to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Phytopathology**, v. 90, p. 758-761, 2000.

ARRUDA, K.M.A. **Piramidação de genes de resistência à antracnose, ferrugem e mancha angular e estudos de alelismo em feijão comum**. 2009. 125 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

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

BIC – Annual report of the bean improvement cooperative. **List of genes** – *Phaseolus vulgaris* L., elaborada por PORCH, T. G. (2008). Disponível em: <<http://www.css.msu.edu/bic/PDF/BeanGenesList.pdf>>. Acesso em: 12 Jan. 2010.

- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 500 p.
- BORÉM, A.; CARNEIRO, J.E.S. A cultura. In: VIEIRA, C.; PAULA JR., T.J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. 600 p.
- BRODY, R.J.; KERN, E.S. Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive médium for DNA electrophoresis. **BioTechniques**, v. 36, p. 214-216, 2004.
- CAIXETA, E.T.; BORÉM, A.; 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**, v. 145, p. 237-245, 2005.
- CAIXETA, E.T.; OLIVEIRA, A.C.B.; BRITO, G.G.; SAKIYAMA, N.S. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. (Ed). **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG, 2006. 374 p.
- CARVALHO, G.A.; PAULA JR., 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**, v. 23, p. 482-485, 1998.
- COLLICCHIO, E.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Associação entre o porte da planta do feijoeiro e o tamanho dos grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 297-304, 1997.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB, 2009. **Levantamento da safra agrícola de 2007/2008**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/>>. Acesso em: Out. 2009.
- CORRÊA, R.X **Genes de resistência a doenças do feijoeiro: identificação de marcadores moleculares, organização e identificação de análogos**. 1999. 116 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.
- CORRÊA, R.X.; COSTA, M.R.; GOOD GOD, P.I.; RAGAGNIN, V.A.; FALEIRO, F.G.; MORREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Sequence characterized amplified regions linked to rust resistance genes in the common bean. **Crop Science**, v. 40, p. 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 a mancha-angular do feijoeiro e indentificação de marcadores moleculares flanqueando o loco de resistência. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 27-32, 2001.
- COSTA, M.R. **Introgessão de genes de resistência à antracnose, ferrugem mancha angular no cultivar de feijão Diamante Negro**. 2004. 78 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

CRUZ, C.D. **Programa GENES**: estatística experimental e matrizes. Viçosa: UFV, 2006. 285 p.

DEL PELOSO, M.J.; FARIA, L.C.; MELO, L.C.; COSTA, J.G.C.; RAVA, A.C.; DÍAS, J.L.C.; FARIA, J.C.; SILVA, H.T.; SARTORATO, A.; BASSINELLO, P.Z.; TROVO, J.B.F. BRS cometa: cultivar de feijoeiro comum do tipo carioca de porte ereto. **Comunicado Técnico**, Santo Antônio de Goiás, GO, v. 131, p. 1-4, 2006.

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

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa Arroz e Feijão (CNPAF). Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br>, Feijão – Cultivares>. Acesso em: Out. 2009.

EMBRAPA, Agência de Informação Embrapa (CNPTIA). Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia4/AG01/arvore/AG01_62_1311200215103.html>. Acesso em: Jan. 2010.

FALEIRO, F.G.; VINHADELI, 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**, v. 46, p. 11-18, 1999.

FALEIRO, F.G.; RAGAGNIN, V.A.; CORRÊA, R.X.; VINHADELLI, W.X.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Ligação gênica da resistência à ferrugem e à antracnose na variedade de feijão Ouro Negro. **Revista Ceres**, v. 47, n. 272, p. 339-402, 2000.

FALEIRO, F.G. Seleção assistida por marcadores – diferentes aplicações. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003. Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro: SBMP, 2003. CD-Rom.

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

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO, 2009. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: Out. 2009.

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

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**, v. 4, p. 227-234, 1998.

LEAKEY, C.L.A. Genotypic and phenotypic markers in common bean. In: GEPTS, P. (Ed.). **Genetic resources in Phaseolus beans**. Boston: Kluwer Academic, 1988. p. 245-327.

MARQUES JR., O.G. **Eficiência de experimentos com a cultura do feijão**. 1997. 80 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

MARQUES JÚNIOR, O.G.; RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; SANTOS, J.B. Viabilidade do emprego de notas na avaliação de alguns caracteres do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, v. 44, p. 411-420, 1997.

MELO, L.C.; FARIA, L.C de.; RAVA, A.C.; DEL PELOSO, M.J.; COSTA, J.G.C.; DÍAS, J.L.C.; FARIA, J.C.; SILVA, H.T; SARTORATO, A.; BASSINELLO, P.Z.; ZIMMERMANN, F.J.P. BRS Horizonte: cultivar de feijoeiro comum com grão do tipo comercial carioca para as Regiões Sul e Centro-Oeste. **Comunicado Técnico**, Santo Antônio de Goiás, v. 90, p. 1-2, 2004.

MELO, C.L.P.; CARNEIRO, J.E.S.; CARNEIRO, P.C.S.; CRUZ, C.D.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Linhagens do cruzamento ‘Ouro Negro’ x ‘Pérola’ com características agrônômicas favoráveis. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 11, p. 1593-1598, 2006.

MELO, C.L.P.; RAGAGNIN, V.A.; ARRUDA, K.M.A.; BARROS, E.G; CARNEIRO, P.C.S.; PAULA JR., T.J.; MOREIRA, M.A.; CARNEIRO, J.E.S. Caracterização fenotípica e molecular de genitores de feijão tipo carioca quanto à resistência a patógenos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 4, p. 495-504, 2008.

MESQUITA, F.R. *et al.* Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1114-1121, 2007.

MICHELMORE, R. Molecular approaches to manipulation of disease resistance genes. **Annual Review Phytopathology**, v. 15, p. 393-427, 1995.

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**, v. 147, p. 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. **Anais...** Goiânia: SBMP, 2001. CD-Rom.

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**, v. 39, p. 391-404, 1992.

MSTAT-C. **A software program for the design, management and analysis of agronomic research experiments**. [S. 1]: Michigan State University, 1991. [p. irr.].

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

NIETSCHÉ, 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**, v. 148, p. 117-121, 2000.

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**, v. 29, p. 220-223, 2004.

PARAN, I.; MICHELMORE, R.W. Development of reliable PCR-based markers linkage to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 85, p. 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.; JARA, C.E. La evolución de *Phaeoisariopsis griseola* el frijol común en América Latina. **Fitopatologia Colombiana**, v. 19, n. 1, p. 15-22, 1995.

PAULA JR., T.J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JR., T.J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. p. 359-414.

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

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba, 1990. 468 p.

QUEIROZ, V.T.; SOUZA, C.S.; COSTA, M.R.; SANGLARD, D.A.; ARRUDA, K.M.A.; SOUZA, T.L.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**, v. 47, p. 237-238, 2004a.

QUEIROZ, V.T.; SOUZA, C.S.; COSTA, M.R.; SANGLARD, D.A.; ARRUDA, K.M.A.; SOUZA, T.L.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**, v. 47, p. 249-250, 2004b.

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

RAGAGNIN, V.A.; VINHADELI, W.S.; FALEIRO, F.G.; CORRÊA, R.X.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Identificação de marcadores RAPD ligados a genes de resistência do feijoeiro à ferrugem. **Genetics and Molecular Biology**, v. 21, n. 3, p. 389, 1998.

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**, v. 28, p. 591-596, 2003.

RAGAGNIN, V.A. **Piramidação de genes de resistência a ferrugem, antracnose e mancha-angular em cultivar de feijão do tipo carioca**. 2004. 92 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PEREIRA FILHO, I.A. Choice of parents for dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) breeding. **Revista Brasileira de Genética**, v. 11, n. 2, p. 391-400, 1988.

RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B.; CARNEIRO, J.E.S. Cultivares. **Informe Agropecuário**, EPAMIG, v. 25, n. 223, p. 21-32, 2004.

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

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

RAVA, C. Influência de fungicidas no controle da antracnose e da mancha-angular em feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, v. 28, p. 65-69, 2002.

SANGLARD, D.A.; DAMASCENO, J.D.; BALBI, B.P.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Introgression of angular leaf spot resistance genes in common bean isolines. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 50, p. 101-102, 2007.

SANTOS, J.B. 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. (Ed.). **SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS**, 2., 1998. Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA/GEN, 1998. 170 p.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A.; RIOS, G.P. Doenças fúngicas e bacterianas da parte aérea. In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. (Ed.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996. p. 669-700.

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**, v. 42, p. 21-22, 1999.

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

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

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

SILVA, K.J.D.; FREIRE, C.N.S.; SOUZA, E.A.; SARTORATO, A. Variabilidade Patogênica entre Isolados de *Phaeoisariopsis griseola*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2007. São Lourenço. **Anais...** São Lourenço: SBMP, 2007a. CD-Rom.

SILVA, K.J.D.; SOUZA, E.A.; ISHIKAWA, F.H. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from the state of Minas Gerais, Brasil. **Journal of Phytopathology**, v. 155, p. 241-247, 2007b.

SILVA, L.C. **Estratégias de condução de populações segregantes no melhoramento genético do feijoeiro**. 2009. 78 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

SINGH, S. Bean genetics. In: van SCHOONHEVEN, A.; VOYSEST, O. (Ed.) **Common beans: research for crop improvement**. Wallingford: CAB Internacional, 1991. p. 199-286.

SOUZA, T.L.P.O.; RAGANIN, V.A.; MELO, C.L.P.; ARRUDA, K.M.A.; CARNEIRO, J.E.S.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Phenotypic and molecular characterization of cultivar BRSMG talismã regarding the principal common beans pathogens. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 5, p. 247-245, 2005.

STAVELY, J.R.; FREYTAG, G.F.; STEADMAN, J.R.; SCHWARTZ, H.F. The 1983 bean rust workshop. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 26, p. iv-vi, 1983.

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

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

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**, v. 18, p. 6531-6535, 1990.

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