

LEONARDO CORRÊA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE RIL's DE FEIJÃO  
DERIVADAS DA POPULAÇÃO RUDÁ x AND 277**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2013

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

T

S586c  
2013

Silva, Leonardo Corrêa da, 1985-  
Caracterização fenotípica de RIL's de feijão derivadas da  
população Rudá x AND 277 / Leonardo Corrêa da Silva. –  
Viçosa, MG, 2013.  
xi, 47f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: José Eustáquio de Souza Carneiro.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f.38-47.

1. Feijão - Melhoramento genético. 2. Colletotrichum  
lindemuthianum. 3. Mapeamento genético. 4. Diversidade  
genética. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22 ed. 635.6523

LEONARDO CORRÊA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE RIL's DE FEIJÃO  
DERIVADAS DA POPULAÇÃO RUDÁ x AND 277**

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

APROVADA: 16 de julho de 2013.

---

Pedro Crescêncio Souza Carneiro  
(Coorientador)

---

Everaldo Gonçalves de Barros  
(Coorientador)

---

Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza

---

José Eustáquio de Souza Carneiro  
(Orientador)

Ao *Eterno*,

por me ajudar a ser o autor  
da minha própria história!

## **OFEREÇO**

*Aos meus pais, Vianelo e Ana*

*Aos meus irmãos, Marcelo e Luciana*

*À minha cunhada, Daniele*

*Ao meu amado sobrinho, Arthur*

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, pelo ensino, pela oportunidade de desenvolver esse trabalho e pela assistência estudantil. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Professor José Eustáquio de Souza Carneiro, pelos valiosos ensinamentos sobre a cultura do feijoeiro, pela confiança, pela orientação e pela amizade.

Ao Professor Everaldo Gonçalves de Barros, pela coorientação, pela amizade e por me iniciar na pesquisa ainda na graduação.

Ao Professor Pedro Crescêncio Souza Carneiro, pela coorientação, pelo exemplo no ensino e pelos valiosos ensinamentos em genética e melhoramento.

Ao Dr. Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza, pela amizade, por participar da banca e me entusiasmar com a pesquisa.

À Dra. Marilene Santos de Lima e ao Dr. Newton Deniz Piovesan, pela disposição em participar da banca. A este último pela grande amizade e ensino desde que cheguei à UFV.

Ao Professor Maurilio Alves Moreira, pela amizade, apoio e pelo exemplo de determinação.

Aos colegas do Programa Feijão: Adalgisa, Álisson, Anatércia, Carlos, Enoch, Fernando, Flávio, Gilmar, Gustavo, Guilherme, Henrique, Jamir, Jhon Lenon, Káren, Laércio, Leire, Lílyce, Lisandra, Lorena, Lucas, Marcos, Moryb, Naine, Nérisson, Patrícia, Ramon, Renata, Rodolfo F., Rodolfo A. e Sandra, pela disposição em me ajudar com os 400 TRATAMENTOS, pelos churrascos (sem carne) e incansáveis momentos de ‘cafezinho’!

Aos servidores das Estações Experimentais de Coimbra e da Horta Nova, Vale da Agronomia, Fitotecnia e Bioagro. Ao Gilberto, Gláucia, José Carlos e Marlene, pela amizade e apoio na pesquisa. A todos os colegas da Embrapa Arroz e Feijão, pela atenção e ensinamentos.

Aos colegas dos Laboratórios BIOMOL, PROTEÍNA e SEQUENCIAMENTO DO DNA pela convivência harmoniosa e auxílio. Aos colegas da Pós-graduação Bruno, Daniele, Gabriela, Luiz Cláudio, Maíra, Oscar e Matoso, pelas longas horas de estudo e ‘bate papo’. Aos colegas da Agronomia 2006, pela amizade.

À Ana Paula, Anna Rita, Éderson, Mara, Rafael, Rodrigo e Vinicius, pelos conselhos (ainda que eu os não seguissem), pelas noites de pizzas e por me aturarem.

Aos colegas do Alojamento ‘Novíssimo 123’: Anastácio, Diego, Gilcimar, Hélio, José Maria, June, Nilton, Rodolfo e Weskley, pela amizade e inúmeros jogos de futebol torcendo pelo flamengo e tocando corneta!

Aos irmãos das Igrejas Presbiteriana do Brasil em Ubá (1º e 2º IPU), Viçosa (IPV e IPVSol) e Visconde do Rio Branco e da Federação de Mocidade Presbiteriana do Presbitério Zona da Mata Norte, pelas orações.

Às famílias ‘Cabral’, ‘Freire’, ‘Pimentel’, ‘Rodrigues’ e ‘Fonseca’, por serem minha família em Viçosa. À família ‘Natal’, por ser minha família por 30 dias em Goiânia, GO. Ao meu grande amigo Alexandro Corrêa Palma, pelo apoio!

Ao meu querido ‘Grupo de Convivência’: Andréia, André, Blanca, Daniele, Débora, Elma, Isabela, João Paulo, Lanna, Lívia, Lorena, Luíza, Marcelo, Natan, Pâmela, Priscila, Ronni, Sarah e Vinícius. Obrigado pelos preciosos estudos bíblicos, pelas orações, pelos inúmeros almoços aos finais de semana e pelo carinho.

À Anigerlara, Cléber, Eliel, Fabiano, Graziela, Josmar, Suienny, Thiago A. e Thiago F. por caminharem juntos comigo. Por sempre, mesmo sem entender o que eu estava fazendo, me incentivarem.

Ao meu pai e minha mãe, pela fantástica família que formaram todos esses anos juntos e pelo apoio incondicional. Ao meu irmão Marcelo Corrêa da Silva, por me ensinar a ser um homem humilde. À minha irmã Luciana Corrêa da Silva, por ser minha melhor amiga. À minha cunhada Daniele Corrêa Schiavon, pelo carinho e apoio nos finais de semana de estudo. Ao meu querido sobrinho Arthur, pelo sorriso inocente que me alegrava.

Aos meus avós paternos, Maria Augusta da Silva (*in memorian*) e Expedito Martins da Silva e maternos, José Ventura de Paula (*in memorian*) e Dinair Nila Corrêa Neto (*in memorian*), pelo amor e cuidado. A todos meus tios e primos, por sempre estarem na ‘torcida’, me apoiando de todas as formas.

À Deus, que colocou **todas** essas pessoas em minha vida!

**MUITO OBRIGADO!!!**

## **BIOGRAFIA**

LEONARDO CORRÊA DA SILVA, filho de Vianelo Martins da Silva e Ana Corrêa da Silva, nasceu em Visconde do Rio Branco, Minas Gerais, em 14 de Dezembro de 1985.

No município de Ubá, Minas Gerais, cursou o ensino Primário na Escola Estadual Professor José Gonçalves Sollero, de 1992 a 1996; o ensino Fundamental na Escola Estadual Coronel Camilo Soares, de 1997 a 2000; e o ensino Médio na Escola Estadual Senador Levindo Coelho, de 2001 a 2003.

Em maio de 2006, iniciou o curso superior na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, colando grau em 22 de julho de 2011 como Engenheiro Agrônomo.

Em agosto de 2011, iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-graduação em Fitotecnia da UFV, na área de Melhoramento de Plantas, Recursos Genéticos e Biotecnologia, defendendo a dissertação em 16 julho de 2013.



## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Populações para o mapeamento.....	3
2.2. Mapas de ligação.....	5
2.3. RIL's de feijão-comum.....	7
2.4. Diversidade genética.....	10
3. OBJETIVO.....	13
3.1. Objetivo geral.....	13
3.2. Objetivos específicos.....	13
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4.1. Material genético.....	14
4.2. Caracterização morfoagronômica.....	14
4.3. Análise de variância e teste de médias.....	16
4.4. Inoculações com as raças de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> .....	18
4.5. Diversidade genética.....	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5.1. Análise de variância e teste de médias.....	20
5.2. Inoculações com as raças de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> .....	30
5.3. Diversidade genética.....	32
5.4. Importância dos caracteres.....	35
6. CONCLUSÕES.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

## RESUMO

SILVA, Leonardo Corrêa da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2013. **Caracterização fenotípica de RIL's de feijão derivadas da população Rudá x AND 277.** Orientador: José Eustáquio de Souza Carneiro. Coorientadores: Everaldo Gonçalves de Barros e Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

Linhagens endogâmicas recombinantes (*Recombinante Imbred Lines* - RIL's) são de utilidade na construção de mapas de ligação. A manutenção da estrutura genética das populações para o mapeamento ao longo de sua obtenção é importante para a construção de mapas acurados. A existência de variabilidade genética nessas populações é fundamental para a detecção da associação entre marcadores moleculares e locos controladores de caracteres qualitativos ou quantitativos. Assim, o objetivo deste trabalho foi quantificar a diversidade de uma população de RIL's derivadas do cruzamento entre os genitores Rudá e AND 277. Na obtenção destas RIL's, 500 plantas F<sub>2</sub> do cruzamento Rudá x AND 277 foram conduzidas até a geração F<sub>10</sub> pelo método do descendente de uma única semente (*Single Seed Descent* - SSD). Em seguida, um grupo de 393 RIL's mais os genitores e cinco testemunhas foi avaliado em campo no delineamento látice triplo 20 x 20, quanto a sete caracteres quantitativos. Dada a baixa eficiência do látice, os dados foram analisados em blocos casualizados com testemunhas adicionais (genitores) e três repetições. As outras cinco testemunhas foram eliminadas dessa análise. As 393 RIL's e os genitores foram caracterizados quanto à reação de resistência às raças 65 e 89 de *Colletotrichum lindemuthianum*, causador da antracnose do feijoeiro, em casa-de-vegetação. Observou-se significância do efeito de RIL's para todos os caracteres avaliados ( $P < 0,01$ ), indicando a existência de variabilidade genética nessa população. O contraste RIL's vs. Genitores foi significativo ( $P < 0,01$ ) para os caracteres número de dias ao florescimento (DF) e à colheita (DC), produtividade de grãos (PROD) e massa de cem grãos (M100) e não significativo para a arquitetura de plantas (ARQ), grau de achatamento da semente (H) e forma da semente (J). A significância desses contrastes indica que a média das RIL's difere da média dos genitores. Igualdade entre as médias das RIL's e dos genitores é esperada apenas na ausência de epistasia. Assim, estes resultados indicam a ocorrência de interações

epistáticas do tipo aditiva x aditiva para os caracteres DF, DC, PROD e M100. Os baixos valores do coeficiente de variação experimental obtidos indicam boa precisão do experimento. Os valores da herdabilidade variaram de 82,81 a 97,09%. Em relação às raças 65 e 89 de antracnose observou-se segregação de 3:1 (resistentes:suscetível) e de 1:1, respectivamente, na população de 393 RIL's, indicando manutenção da estrutura genética destas RIL's. Pelo teste de Skott-Knott, a 5% de probabilidade, os caracteres que formaram menor e maior número de grupos de médias foram ARQ e M100, com quatro e dez grupos cada, respectivamente. As 393 RIL's foram agrupadas pelo método de Tocher em 10 grupos e os caracteres que mais contribuíram para a dissimilaridade genética foram M100 e DF, e o que menos contribuiu foi ARQ. A população constituída de 393 RIL's apresenta variabilidade genética para todos os caracteres avaliados, imprescindível para detecção de associações com marcas moleculares e mapeamento genético.

## ABSTRACT

SILVA, Leonardo Corrêa da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2013. **Phenotypic characterization of RIL's bean from population Rudá x AND 277.** Adviser: José Eustáquio de Souza Carneiro. Co-advisers: Everaldo Gonçalves de Barros and Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

Recombinant inbred lines (RIL's) are useful for building linkage maps. The maintenance of the population genetic structure for mapping over their production is important for the construction of accurate maps. The existence of genetic variability within those populations is essential for detection of the association between molecular markers and controlling loci of quantitative or qualitative traits. Thus, the objective of this work was to quantify the diversity of a RIL population derived from Rudá x AND 277 cross. Five hundred plants from the F<sub>2</sub> population of Rudá x AND 277 cross were conducted up to the F<sub>10</sub> generation by the single seed descent method (SSD) to obtain those RIL's. Then, a group of 393 RIL's plus the parents and five control plants were evaluated in the field in a 20 x 20 triple lattice design, for seven quantitative traits. Because of the low efficiency of the lattice, the data were analyzed in randomized blocks with additional treatments (parents) with three replications. The five controls were eliminated from this analysis. The 393 RIL's and parents were characterized in the greenhouse for their reaction resistance to breeds 65 and 89 of *Colletotrichum lindemuthianum*, the causal agent of anthracnose. The effect of RIL's was significant for all traits evaluated ( $P < 0.01$ ), indicating the existence of genetic variability in such population. The RIL's vs parents contrast was significant for number of days to flowering (DF) and to harvest (DC), grain yield (PROD) and weight of one hundred grains (M100) and not significant for architecture of plants (ARQ), degree of seed flattening (H) and seed shape (J). Significance of these contrasts indicates that the mean of RIL's differs from that of the parents. Coincidence between these means is expected only in the absence of epistasis. Thus, these results indicate the occurrence of additive x additive epistatic interactions for DF, DC, PROD and M100. The low values of the coefficient of experimental variation obtained indicate good precision of the experiment. Values of heritability ranged from 82.81 to 97.09%. In relation to breeds 65 and 89 of anthracnose, it was

observed a 3:1 (resistant: susceptible) and 1:1 segregations respectively in the population of 393 RIL's, indicating the maintenance of genetic structure of such RIL's. The characters that formed the lowest and the highest number of groups of means were ARQ and M100, four and ten groups, respectively, by the Skott-Knott test at 5% probability. The 393 RIL's were grouped by Tocher method in 10 groups and the characters that most contributed to the genetic dissimilarity were M100 and DF, while ARQ was the character that contributed the least. The population made up by 393 RIL's present genetic variability for all traits, which is essential for detecting associations with molecular markers and genetic mapping.

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma importante leguminosa cultivada e consumida em diversos países, principalmente naqueles em desenvolvimento na América Latina, África e Ásia. É excelente fonte de proteínas, carboidratos e minerais como, por exemplo, ferro e zinco, além de vitaminas. A produtividade da cultura é variável. Enquanto que alguns países obtêm produtividade média de aproximadamente 1900 kg/ha, esse valor oscila entre 600 Kg/ha em países do continente africano. A produtividade média no Brasil é de aproximadamente 914 Kg/ha. A identificação e a minimização dos fatores responsáveis pela redução da produtividade são objetivos comuns dos programas de melhoramento genético do feijoeiro em todo o mundo (Gepts *et al.*, 2008; CONAB, 2013).

No Brasil, uma série de fatores limita a produtividade e a produção do feijão. Dentre eles, podem ser citados os fatores relacionados ao sistema de plantio, distribuição e comercialização do produto, além de preferências regionais. Outros fatores limitantes estão relacionados às características da cultura, como a suscetibilidade a pragas e doenças, o porte e a arquitetura inadequados das plantas, a baixa eficiência da fixação biológica de nitrogênio e da absorção de nutrientes, a suscetibilidade à seca e a altas temperaturas, a baixa qualidade nutricional e culinária dos grãos, entre outros (Barros e Souza, 2012). Os fatores limitantes inerentes à planta podem ser minimizados pelo melhoramento genético. Esse por sua vez enfrenta barreiras genéticas como as interações intra e inter-alélicas e a interação genótipo x ambiente.

A existência de variabilidade genética é fundamental em qualquer espécie em que se deseja praticar seleção. Essa variabilidade é expressiva na cultura do feijoeiro dado a existência de dois centros de origens distintos, o Andino e o Mesoamericano, permitindo a seleção para variados caracteres morfológicos, agronômicos e fenológicos. A seleção tem sido feita com sucesso ao longo dos anos com base apenas em marcadores fenotípicos, como cor de flor e hábito de crescimento, condicionados por um ou poucos genes. Entretanto, a seleção de caracteres de difícil mensuração e condicionados por muitos genes, sob considerável influência ambiental, como arquitetura de plantas, pode não ser muito efetiva. Uma ferramenta

auxiliar e importante à seleção fenotípica têm sido a seleção assistida por marcadores moleculares do DNA. Resumidamente, esses marcadores são segmentos de DNA que estão fisicamente ligados a locos que determinam características de interesse. O grande potencial do uso de marcadores moleculares no melhoramento reside no fato de eles serem praticamente ilimitados em número, de fácil detecção e se comportarem como caracteres de herança simples e previsível, não sendo afetados pelo meio (Alzate-Marín *et al.*, 2005).

O processo de detecção da posição e distância entre esses marcadores nos cromossomos é chamado de mapeamento genético e o produto obtido, mapa de ligação. Um dos principais usos dos mapas de ligação é na identificação de regiões cromossômicas contendo genes e QTL's (*Quantitative Trait Loci*, ou locos associados a características quantitativas) relacionados a características de interesse agrônômico. A obtenção de populações para o mapeamento genético e detecção de QTL's têm sido prática constante na cultura do feijoeiro (Gepts *et al.*, 1993; Tar'an *et al.*, 2002; Broughton *et al.*, 2003; Collard *et al.*, 2005; Blair *et al.*, 2006). Essas populações têm propiciado estudos detalhados e promissores para uma maior eficácia no melhoramento genético da cultura em escala mundial. Entretanto, essas populações possuem como limitação o tamanho reduzido. Populações pequenas comprometem a acurácia das estimativas de recombinação e, conseqüentemente, a precisão do mapa genético com um todo. Objetivando superar essa limitação, uma população potencial para o mapeamento e detecção de QTL's foi desenvolvida pelo Programa de Melhoramento do Feijoeiro da UFV. O objetivo nesse trabalho é a caracterização fenotípica dessa população e a avaliação do seu potencial para o mapeamento genético e detecção de QTL's.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Populações para o mapeamento

Diferentes tipos de populações podem ser utilizadas para o mapeamento genético em plantas, cada uma apresentando suas particularidades, de acordo com o interesse do pesquisador. Dentre essas populações, podem ser citadas as populações de plantas da geração  $F_2$ , populações derivadas por autofecundação a partir da geração  $F_2$ , população de RIL's (*Recombinant Inbred Lines*, ou Linhagens Endogâmicas Recombinantes), duplo-haplóides (Schuster e Cruz, 2004) e população de NIL's (*Nearly Isogenic Lines*, ou Linhagens Quase Isogênicas) (Semagn *et al.*, 2006).

Entretanto, é extremamente importante que os genitores da população obtida sejam contrastantes para possibilitar a identificação de marcadores polimórficos e assim, realizar a construção do mapa genético. Espécies de polinização cruzada quase sempre apresentam um maior nível de polimorfismo no DNA quando comparadas com espécies endogâmicas. Uma vez identificado os marcadores polimórficos pela genotipagem dos genitores, toda a população pode ser então genotipada com esses marcadores (Collard *et al.*, 2005).

As populações  $F_2$  são obtidas por autofecundação das plantas  $F_1$  resultantes do cruzamento entre genitores homozigóticos e contrastantes, de tal forma que os marcadores codominantes segreguem na proporção de 1:2:1, e os dominantes, na proporção de 3:1. Populações  $F_2$  oriundas de pais heterozigóticos também podem ser analisadas desde que os marcadores segreguem na proporção esperada. Populações  $F_2$  são obtidas facilmente e propiciam uma maior precisão da estimativa dos componentes genéticos uma vez que no mapeamento de QTL's as informações dos três genótipos (AA, Aa e aa) estão disponíveis. Entretanto, a acurácia da estimativa do componente genético é baixa, pois as medições das características quantitativas são feitas em plantas individuais. Uma solução a este problema é a fenotipagem das plantas na geração  $F_{2:3}$ , permitindo o uso de repetição, que poderá representar a  $F_2$  nos casos de ausência de dominância, sendo a genotipagem realizada apenas em  $F_2$  (Schuster e Cruz, 2004).



As populações derivadas por autofecundação a partir da geração  $F_2$  (como  $F_3$ ,  $F_4$ , etc.) possuem estrutura genética previsível, o que também facilita o seu uso para fins de mapeamento genético. Para isso, um mesmo número de plantas  $F_3$  é obtido de cada planta  $F_2$  ou um mesmo número de plantas  $F_4$  é obtido de cada planta  $F_3$ . Uma vez que estas populações geralmente já estão prontas nos programas de melhoramento, não há a necessidade de produzir uma população especialmente destinada para fins de mapeamento genético. Este método apresenta as mesmas limitações das populações  $F_2$ , pois cada planta da geração que está sendo analisada é genotipada e não há possibilidade de repetição das plantas do mesmo genótipo (Schuster e Cruz, 2004).

Para a obtenção das RIL's a partir de uma população  $F_2$  são realizadas sucessivas gerações de autofecundação a partir de plantas individuais em cada geração até que se obtenha um elevado grau de homozigose. Pelo método SSD (*Single Seed Descent*, ou descendência de uma única semente), cada planta  $F_2$  é avançada até  $F_3$ , sendo então cada planta  $F_3$  avançada até  $F_4$ , repetindo-se o processo até a geração  $F_8$  ou superior, momento esse em que são abertas as linhagens ou famílias - RIL's. Cada RIL é uma linhagem endogâmica recombinante a qual representa uma planta  $F_2$ , de tal forma que toda a variabilidade existente na população  $F_2$  está representada nas RIL's, desde que um tamanho de população adequado tenha sido inicialmente utilizado e mantido. Tendo em vista que as RIL's são formadas apenas por indivíduos homozigotos, essas podem ser multiplicadas e avaliadas com repetições e em ambientes diferentes, o que possibilita a obtenção de uma estimativa mais acurada para as características a serem mapeadas. No entanto, o uso deste tipo de população não permite a estimação de parâmetros associados ao grau de dominância dos locos mapeados (Schuster e Cruz, 2004).

Para a obtenção de populações de NIL's, realiza-se a hibridação de indivíduos contrastantes para o caractere de interesse. Posteriormente, os indivíduos  $F_1$  são retrocruzados sucessivamente com o genitor recorrente até serem obtidas populações de plantas  $RC_nF_1$ . Obtido o último retrocruzamento, as plantas  $RC_nF_1$  são autofecundadas comportando-se como população  $F_2$  ou população de RIL's, de acordo com o número de geração de autofecundação, segregando apenas para a

característica de interesse (Martin *et al.*, 1991; Mackill e Bonman, 1991; Semagn *et al.*, 2006).

## 2.2. Mapas de ligação

Muitas características de importância agrônômica como produtividade, qualidade de grãos e a resistência a algumas doenças são controladas por um conjunto de genes e, desta forma, são denominadas de características quantitativas (ou poligênicas, multifatoriais, ou ainda características complexas). As regiões genômicas que apresentam genes associados a uma característica quantitativa em particular são denominadas de QTLs (Collard *et al.*, 2005). Por meio dos marcadores moleculares tem sido possível a construção dos mapas de ligação. Esse processo é denominado de mapeamento genético, o qual é baseado no princípio de que os genes e marcadores presentes na molécula de DNA segregam por meio da recombinação cromossômica, ou *crossing over*, durante a meiose, o que permite a análise desses genes e/ou marcadores nas progênes (Paterson, 1996).

Quanto maior a proximidade existente entre genes ou marcadores genéticos em um mesmo cromossomo, maior será a probabilidade destes serem transmitidos conjuntamente dos genitores aos descendentes. Em uma população segregante, a frequência de genótipos recombinantes é usada para a determinação da frequência de recombinação, e esta, por sua vez, é usada para o cálculo da distância entre os genes e/ou marcadores. Pela análise da segregação dos marcadores, a ordem e a distância entre eles podem ser determinadas de tal forma que quanto menor for a frequência de recombinação entre dois marcadores, menor é a distância entre eles no cromossomo. Aqueles marcadores com frequência de recombinação de 50% são denominados de marcadores e/ou genes não ligados ou independentes, ou seja, estão muito distantes um do outro no mesmo cromossomo ou estão em cromossomos diferentes (Collard *et al.*, 2005).

Para a construção destes mapas, são usadas informações fenotípicas e genotípicas. Até meados de 1960, estes trabalhos eram fundamentados em marcadores morfológicos, basicamente fenótipos de fácil identificação visual, como cor de pétalas, de sementes, de hipocótilos e morfologia floral e foliar. Estes

marcadores foram de extrema importância nestes estudos iniciais e para a elaboração da teoria da análise de ligação gênica, a qual resultou na construção das primeiras versões de mapas genéticos. Entretanto, em razão do seu número limitado, era pequena a probabilidade de se detectar associações significativas entre estes marcadores e caracteres de importância econômica, sobretudo os de natureza quantitativa. Um progresso substancial foi alcançado com o desenvolvimento de marcadores isoenzimáticos que resultaram em um aumento expressivo no número de marcadores genéticos disponíveis. Aliado a isso, com o advento das técnicas de biologia molecular, surgiram ainda diversos métodos de detecção de polimorfismo genético diretamente na molécula de DNA (Ferreira e Gattapaglia, 1995).

De acordo com Freyre *et al.* (1998), até o ano de 1998 existiam na comunidade científica alguns mapas genéticos de feijão-comum saturados com marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*, ou polimorfismo de DNA amplificado ao acaso) e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*, ou polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados). Visando o alinhamento desses mapas, um mapa de ligação chamado de *Core Linkage Map* (ou Mapa de Ligação Nuclear) foi estabelecido na população formada por 78 RIL's derivadas do cruzamento BAT 93 x Jalo EEP558, comumente conhecida na comunidade científica como população BJ. Esse mapa nuclear foi saturado com marcadores moleculares que também foram usados no desenvolvimento dos mapas de ligação da Universidade da Califórnia (Nodari *et al.*, 1993; Gepts *et al.*, 1993), em Davis e da Universidade da Flórida (Vallejos *et al.*, 1992) , em Gainesville, ambas nos Estados Unidos da América; e da Universidade de Paris (Adam-Blondon *et al.*, 1994), campus de Orsey, na França.

Estes mapas genéticos são de fundamental importância para os programas de melhoramento genético de plantas. Como benefícios, incluem a maior compreensão e uma análise mais detalhada do genoma, a decomposição de características genéticas complexas em seus componentes mendelianos, a identificação de regiões específicas associadas ao controle de características de interesse agrônomo, sejam elas as de natureza quantitativas ou as simples (características monogênicas), bem como a quantificação do efeito destas regiões nas características estudadas e a canalização de

toda essa informação para o uso durante processo de seleção dos genótipos superiores (Cruz e Silva, 2009).

### 2.3. RIL's de feijão-comum

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa diplóide ( $2n = 2x = 22$  cromossomos) com genoma relativamente pequeno, contendo 0,66 picogramas de DNA por genoma haplóide, correspondentes a  $6,33 \times 10^8$  pares de bases (Arumugahathan e Earle, 1991). Lamprecht (1961) foi o responsável pela publicação do primeiro mapa de ligação do feijoeiro, dando início aos trabalhos de mapeamento genético na cultura os quais são realizados até hoje.

Uma população composta por 75 RIL's obtida do cruzamento entre os cultivares BAT 93 (Mesoamericano) e JALO EPP 558 (Andino) tem sido alvo constante de estudos de mapeamento genético em feijão, sendo assim considerada como a população de referência. No entanto, esta população possui uma séria limitação, o seu tamanho reduzido, fato esse que compromete a acurácia das estimativas de recombinação e afeta a precisão do mapa genético obtido. Visando contornar esse problema, a Embrapa Arroz e Feijão (Santo Antônio de Goiás, GO) realizou novos cruzamentos entre os genitores BAT 93 e JALO EPP 558 a fim de obter um maior número de RIL's para esse cruzamento, o que elevou o seu tamanho populacional para cerca de 200 linhagens (Barros e Souza, 2012). No entanto, outra séria limitação ainda permanece, a dificuldade de manutenção destas RIL's em virtude de sua baixa adaptação nas condições edafoclimáticas tropicais do Brasil. Desta forma, tem sido um grande desafio a multiplicação de sementes destas RIL's e de seus genitores.

O CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical – Cali, Colômbia) desenvolveu uma população composta de 87 RIL's, oriunda do cruzamento entre DOR 346 e G 19833, também muito usada em trabalhos de mapeamento genético. DOR 346 é um cultivar de grão tipo vermelho e pequeno, pertencente ao *pool* gênico Mesoamericano, desenvolvido pelo CIAT e lançada em vários países da América Central, dentre eles Costa Rica, El Salvador, Honduras e Nicarágua. G 19833 é um acesso do banco de germoplasma do CIAT de grão tipo vermelho amarelado e

grande desenvolvido no Peru e pertencente ao *pool* gênico Andino (Blair *et al.*, 2003; Galeano *et al.*, 2009).

Outra relevante população de mapeamento em feijão foi recentemente desenvolvida e publicada por Blair *et al.* (2012). Tal população é composta por 113 RIL's derivadas do cruzamento entre DOR 364 e BAT 447, sendo ambos os genitores pertencentes ao *pool* gênico Mesoamericano. A linhagem BAT 447 é tolerante à seca. Desta forma, marcadores microssatélites, AFLP e RAPD foram usados para mapear QTL's associados a características inerentes ao déficit hídrico, como produção de grãos, sob diferentes níveis de seca e irrigação.

Uma séria limitação ao uso destas populações anteriormente citadas é o seu tamanho reduzido. Populações pequenas comprometem a acurácia das estimativas de recombinação e, conseqüentemente, a precisão do mapa genético com um todo (Barros e Souza, 2012). A obtenção de um mapa genético acurado é dependente de uma série de fatores como o tamanho e tipo de população, a quantidade e o tipo de marcadores, a taxa de segregação de cada loco, a frequência de recombinação e o valor de LOD (*Logarithm of Odds*, ou logaritmo da probabilidade) usado para detectar a ligação. Populações de 200, 300 e 500 RIL's são suficientes para a obtenção de mapas confiáveis com nível de saturação do genoma alto (5 cM de distância média entre marcas), médio (10 cM de distância média entre marcas) e baixo (20 cM de distância média entre marcas), respectivamente (Silva *et al.*, 2007).

Neste contexto, o Programa de Melhoramento do Feijoeiro da UFV, desenvolveu uma população de RIL's composta de aproximadamente 500 linhagens derivadas do cruzamento entre Rudá e AND 277, atualmente na geração F<sub>10</sub>. O cultivar Rudá, de origem Mesoamericana, foi desenvolvido pelo CIAT a partir do cruzamento entre os cultivares Carioca e Rio Tibagi, tendo sido introduzido no Brasil como linhagem A 285, pela Embrapa Arroz e Feijão (Goiânia, GO). Apresenta grão do tipo carioca e pequeno, e é suscetível a várias raças fisiológicas de *Uromyces appendiculatus*, *Colletotrichum lindemuthianum* e *Pseudocercospora griseola*, agentes causais da ferrugem, antracnose e mancha-angular no feijoeiro (Ragagnin *et al.*, 2003; Alzate-Marin *et al.*, 2005). Esse cultivar foi muito utilizado pelo Programa de Melhoramento do Feijoeiro da UFV, originando diversas isolinhas contendo

diferentes combinações de genes de resistência à antracnose, ferrugem e mancha-angular.

AND 277 {[Cargabello x (Pompadour Checa x Linea 17)] x (Linea 17 x Red Cloud)} é uma importante fonte de resistência à mancha-angular pertencente ao *pool* gênico Andino e foi desenvolvida pelo CIAT. Foi utilizada direta e/ou indiretamente no desenvolvimento de diferentes isolinhas como Pérola R, Rudá R (Ragagnin *et al.*, 2005; Ragagnin *et al.*, 2009), Rudá R1 (Arruda, 2005) e Rudá R3 (Sanglard, 2010) por meio da piramidação de genes de resistência a doenças assistida por marcadores moleculares pelo Programa de Melhoramento do Feijoeiro da UFV. Diferentes genes de resistência a doenças foram relatados em AND 277. Carvalho *et al.* (1998) identificaram um gene de resistência à mancha-angular, o qual designaram *Phg-1*. Alzate-Marin *et al.* (2003a) identificaram em AND 277 um gene de resistência à antracnose, o qual designaram de *Co-1<sup>4</sup>*. Voysest (2000) apresenta a hipótese de uma origem Andina e Mesoamericana para AND 277, devido à compatibilidade de cruzamento existente entre essa linhagem e os cultivares Mesoamericanos. Neste contexto, Caixeta (2002) por meio de estudos de alelismo com AND 277 sugeriu a existência de outros três genes (*Phg-2<sup>2</sup>*, *Phg-3<sup>2</sup>*, *Phg-4<sup>2</sup>*) de resistência à mancha-angular provenientes de cultivares Mesoamericanos, o que também indica uma origem de resistência diferente da Andina.

As RIL's, derivadas do cruzamento Rudá x AND 277, propiciarão, por meio das avaliações genótípicas e fenotípicas, dados para a elaboração de um mapa genético mais saturado e com maior acurácia nas estimativas de recombinação, devido ao seu maior tamanho.

## 2.4. Diversidade genética

Os estudos de diversidade genética são importantes para alcançar maior eficiência em um programa de melhoramento genético a curto, médio e longo prazo. Por meio da caracterização fenotípica e/ou genotípica da população, pode-se detectar a existência de variabilidade genética permitindo uma maior organização e amostragem do material genético, além de potencializar a confecção de híbridos e de multilinhas.

Para a avaliação da divergência genética pode-se fazer o uso de técnicas biométricas, baseadas na quantificação da heterose, ou de métodos preditivos. Uma importante técnica biométrica é a análise dialélica, utilizada para avaliar a capacidade geral e específica de combinações de progenitores para a confecção de híbridos. Entretanto, no dialelo, a avaliação de 'g' genitores e de todas as suas combinações híbridas ( $g(g - 1) / 2$ ) torna-se inviável a medida que 'g' aumenta (Cruz *et al.*, 2012). Deve ser considerada também a dificuldade de serem obtidos híbridos em espécies autógamas, seja pela demanda de mão de obra para a realização dos cruzamentos ou pela probabilidade de insucesso nos cruzamentos. Para espécies alógamas também há elevada demanda de mão de obra na obtenção de linhas puras para a hibridação.

Essas dificuldades no estudo da diversidade genética podem ser contornadas pelos métodos preditivos, pois dispensam a obtenção de híbridos para as análises de dissimilaridade que são feitas apenas com base em diferenças morfológicas, fisiológicas, genéticas e/ou bioquímicas dos próprios genitores. Dentre os vários métodos multivariados para este tipo de estudo, os métodos de agrupamento, as análises por componentes principais e por variáveis canônicas têm sido utilizados com sucesso na cultura do feijoeiro (Krause *et al.*, 2009; Cabral *et al.*, 2011; Corrêa e Gonçalves, 2012).

Os métodos fundamentados em agrupamentos reúnem os genótipos em vários grupos de forma a haver homogeneidade dentro de cada grupo e heterogeneidade entre eles, conhecendo assim os mais dissimilares. Para isso, estima-se inicialmente a divergência entre os genótipos por meio de uma medida de dissimilaridade como, por exemplo, as distâncias euclidiana (d) e a generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ), os

coeficientes de coincidência simples, de Jaccard e de Nei e Li, as distâncias de Gower, de Cole-Rodgers, dentre outras medidas. A escolha da medida de dissimilaridade vai depender da natureza da variável utilizada para caracterizar os genótipos. Essa variável pode ser quantitativa, binária ou multicategórica. A próxima etapa é a realização do agrupamento propriamente dito. Os métodos de agrupamento que merecem destaque no melhoramento de plantas são o hierárquico e o de otimização (Cruz e Carneiro, 2006).

Nos métodos hierárquicos os genótipos são agrupados por um processo que se repete em vários níveis, até que seja estabelecido o dendrograma ou o diagrama de árvore. Dentre estes podem ser citados os métodos do vizinho mais próximo, o do vizinho mais distante, o da ligação média, o do centróide e o de Edwards e Cavalli-Sforza. Na otimização, a formação dos grupos é feita pela adequação de algum critério de agrupamento visando alcançar uma partição dos indivíduos que otimize (maximize ou minimize) alguma medida predefinida, sendo mais comum o método de otimização de Tocher (Cruz e Carneiro, 2006).

As técnicas de componentes principais e de variáveis canônicas permitem o estudo da diversidade genética pela simplificação do conjunto de dados. Para isso os dados são plotados em gráficos bi ou tridimensionais. As informações obtidas da caracterização por meio de 'n' variáveis podem ser representadas por uma quantidade menor de variáveis que ainda retêm o máximo da variação original e são independentes entre si (Cruz *et al.*, 2012).

Diante das diferentes opções de medidas de dissimilaridade e de métodos de agrupamento para o estudo da diversidade, o melhorista deve optar por aquela que lhe confira maior segurança na seleção de genitores para os cruzamentos. Caso os agrupamentos propiciem resultados concordantes, deve-se optar por aquele de fácil interpretação. Entretanto, em caso de discordância entre os métodos, o mais eficaz será utilizado para a escolha de genitores potenciais (Filho *et al.*, 2008).

Um estudo detalhado do uso da distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ) e da distância euclidiana média padronizada ( $d$ ) foi realizado por Filho *et al.* (2008). Eles afirmaram que tanto pelo uso dos seis métodos hierárquicos utilizados (baseado em 50% de dissimilaridade para a formação de grupos) ou pelo do método de Tocher, sempre que se usava a distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ) como



medida de dissimilaridade obtinha-se a formação de dois grupos de cultivares diferentes. No primeiro grupo havia apenas um cultivar, de origem Andina, e no segundo os treze cultivares restantes, de origem Mesoamericana. Tal resultado não era possível quando se usava a distância euclidiana. Houve concordância também pelos métodos hierárquicos e de Tocher quando a 'D<sup>2</sup>' era usada, para o agrupamento daqueles genótipos que possuíam pelo menos um genitor em comum. Tal concordância não foi possível para os métodos hierárquicos quando a 'd' era usada como medida de dissimilaridade. Assim, pode-se inferir que o método otimização de Tocher e os métodos hierárquicos com base na 'D<sup>2</sup>' agrupam os cultivares de forma similar. Esse agrupamento foi coerente com *pool* gênico do germoplasma avaliado e com a ancestralidade comum dos genitores.

Outra contribuição das análises multivariadas é na determinação da importância relativa dos caracteres para a dissimilaridade genética, permitindo ao melhorista concentrar esforços nas características mais importantes para a diversidade, economizando tempo e recursos financeiros nas avaliações (Benin *et al.*, 2001).

As análises da diversidade genética existentes entre as RIL's permitirá quantificar a diversidade entre as linhagens, avaliar a possível formação de grupos e conhecer quais caracteres são os mais importantes para a dissimilaridade genética. Todas essas informações permitirão um maior entendimento dessa população desenvolvida para o mapeamento genético, bem como indicarão os caracteres que poderão ser priorizados para avaliação para fins de detecção de QTL.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1. Objetivo geral**

Caracterizar fenotipicamente a população de RIL's Rudá x AND 277, formada por 393 linhagens, quanto à sua variabilidade em relação aos caracteres número de dias para o florescimento (DF) e para a colheita (DC), arquitetura de plantas (ARQ), produtividade de grãos (PROD), massa de cem grãos (M100), grau de achatamento da semente (H) e forma da semente (J).

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Avaliar o padrão de herança da resistência da linhagem de feijoeiro AND 277 às raças 65 e 89 de *Coletothrichum lindemuthianum*.
- Quantificar a variabilidade fenotípica das 393 RIL's e avaliar seu potencial para a detecção de QTL's e mapeamento genético.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Material genético

Do cruzamento entre o cultivar Rudá e a linhagem AND 27, foram obtidas aproximadamente 500 RIL's (Sanglard *et al.*, 2013). A confirmação dos cruzamentos foi feita utilizando o “gene marcador” cor da flor, dado que Rudá, genitor feminino, apresenta flor branca (fenótipo recessivo) e AND 277, genitor masculino, flor rosa (fenótipo dominante). As sementes  $F_1$  foram semeadas em casa de vegetação. Uma amostra de sementes  $F_2$  foi avançada até a geração  $F_{10}$ , utilizando o método descendente de uma única semente, comumente conhecido como SSD (*Single Seed Descent*). Esse método é realizado tomando-se uma única semente de cada indivíduo de uma geração para estabelecer a geração subsequente (Brim, 1966). Conforme sugerido por Brim (1966), foram semeadas três sementes de cada planta  $F_2$  para garantir a representatividade da população base. Após a emergência, uma única planta foi preservada. Tal procedimento foi repetido nas gerações seguintes até a geração  $F_{10}$ . Cada planta  $F_{10}$  obtida a partir de uma planta  $F_2$  foi considerada uma linhagem endogâmica recombinante (RIL) e suas sementes foram multiplicadas na Estação Experimental Horta Nova, da UFV, para a obtenção de número de sementes suficiente para viabilizar o ensaio de avaliação das linhagens em campo.

### 4.2. Caracterização morfoagronômica

A avaliação dos caracteres morfológicos e agronômicos realizada em um ensaio de campo conduzido no período de agosto a novembro de 2012, na Estação Experimental do Departamento de Fitotecnia da UFV, em Coimbra (20°50'30'' latitude Sul, 42°48'30'' longitude Oeste e 720 m de altitude), Minas Gerais. Para a adubação de plantio foram utilizados 350 Kg/ha do formulado 8-28-16 (N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O). O experimento foi instalado no delineamento Látice triplo 20 x 20. Cada parcela experimental foi constituída por 30 sementes, distribuídas em duas linhas de 1,0 metro (m) de comprimento espaçadas entre si por 0,5 m, com 15 sementes por linha. Uma bordadura delimitou toda a área experimental. Aos 25 dias após a

emergência, foi realizada a adubação de cobertura com 40 Kg/ha de nitrogênio e a pulverização foliar com 80 g/ha de molibdênio. A irrigação, o controle de pragas, doenças e plantas daninhas foram realizados de acordo com o recomendado para a cultura do feijoeiro na região (Vieira *et al.*, 2006).

Seis caracteres agronômicos de interesse foram avaliados de acordo com os “Descritores Mínimos de Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)” proposto pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), disponível no site do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Mapa, 2012), conforme descrito abaixo.

O número de dias até o florescimento (DF), contado a partir da emergência de pelo menos 50% das plantas da parcela até quando, pelo menos, 50% das plantas apresentassem pelo menos uma flor completamente aberta.

O número de dias até a colheita (DC), ou ciclo, contado a partir da emergência de pelo menos 50% das plantas da parcela até quando, pelo menos, 90% das vagens estivessem secas.

A arquitetura de planta (ARQ) foi avaliada em ocasião da maturação de cada parcela, entretanto optou-se por uma escala de notas conforme Collichio *et al.* (1997) em que: 1 - plantas eretas, com uma haste e com inserção alta das primeiras vagens; 2 - plantas eretas e com algumas ramificações; 3 - plantas eretas, porém muito ramificadas e com tendência a prostrarem-se; 4 - plantas semieretas e mediantemente prostradas; 5 - plantas com entrenós longos e muito prostradas.

A produtividade (PROD) de grãos (Kg/ha), correspondente à massa de grãos (g) colhidos em cada parcela foi calculada considerando a área útil da parcela (1,0 m<sup>2</sup>). Assim:

$$\text{PROD (Kg/ha)} = \frac{\text{massa grãos}}{1,0 \text{ m}^2} \times 10$$

A massa de 100 sementes (M100), correspondente à massa de 100 sementes amostradas aleatoriamente em cada parcela e aferida por balança de precisão.

O grau de achatamento da semente foi obtido por meio do índice H, de acordo com Puerta Romero (1961) citado por MAPA (2012), sendo classificada em achatada ( $\leq 0,69$  - nota 1), semi-cheia (0,70 a 0,79 - nota 2) e cheia ( $\geq 0,80$  - nota 3). Sendo:

$$H = \frac{\text{espessura}}{\text{largura}}$$

A forma da semente foi classificada por meio do índice J, de acordo com Puerta Romero (1961), citado por MAPA (2012), sendo classificada em esférica (1,16 a 1,42), elíptica (1,43 a 1,65), oblonga/reniforme curta (1,66 a 1,85), oblonga/reniforme média (1,86 a 2,0) e oblonga/reniforme longa (> 2,0). Sendo:

$$J = \frac{\text{comprimento}}{\text{largura}}$$

O grau de achatamento e a forma da semente foram obtidos das aferições realizadas em cinco sementes amostradas aleatoriamente em cada parcela.

### 4.3. Análise de variância e teste de médias

Os dados dos caracteres morfoagronômicos DF, DC, ARQ, PROD, H, J e M100 foram submetidos à análise de variância segundo o modelo em látice triplo 20 x 20.

Dada a baixa eficiência do látice para os caracteres avaliados, os dados foram analisados no delineamento em blocos casualizados com testemunhas adicionais, sendo 393 linhagens e duas testemunhas (genitores – Rudá e AND 277), conforme o modelo:

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

$Y_{ij}$  = observação referente ao tratamento  $i$ , no bloco  $j$ ;

$\mu$  = média geral;

$t_i$  = efeito do  $i$ -ésimo tratamento ( $i = 1, 2, \dots, (g + te) = T$ ), sendo  $g$  o número de genótipos/linhagens (393) e  $te$  o número de testemunhas/genitores (2), ambos considerados como de efeito aleatório;

$b_j$  = efeito do bloco  $j$  ( $j = 1, 2$  e  $3$ );  $b_j \sim \text{NID}(0, \sigma_b^2)$ ;

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

Na análise de variância foi realizada a decomposição da fonte de variação tratamentos em genótipos (linhagens) e testemunhas (genitores). O esquema da

análise de variância com as fontes de variação, graus de liberdade (GL), soma de quadrados (SQ), quadrados médios (QM), esperanças dos quadrados médios (E(QM)) e o teste F estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1** – Esquema da análise de variância e esperanças de quadrados médios para o modelo em blocos ao acaso com testemunhas adicionais

FV	GL	SQ	QM	E (QM)	F
Blocos	$r - 1$	SQB	QMB	$\sigma^2 + (g + t_e) \sigma_b^2$	-
Tratamentos	$(g + te) - 1$	SQT	QMT	$\sigma^2 + \sigma_t^2$	QMT/QMR
Genótipos (G)	$g - 1$	SQG	QMG	$\sigma^2 + \sigma_g^2$	QMG/QMR
Testemunhas (Te)	$te - 1$	SQTe	QMTe	$\sigma^2 + \sigma_{te}^2$	QMTe/QMR
G vs. Te	1	SQGr	QMGr	-	QMGr/QMR
Resíduo	$(r - 1)(T - 1)$	SQR	QMR	$\sigma^2$	-
Total	$rT - 1$	SQT <sub>o</sub>	-	-	-

As linhagens foram distribuídas em classes de médias para cada um dos caracteres de acordo com a distribuição de frequências (Ramalho *et al.*, 2012a), em que o número de classes foi determinado pela expressão:

$$K = 1 + \frac{A \sqrt[3]{n}}{3,49s}, \text{ sendo:}$$

K: número de classes formadas;

A: amplitude total;

n: número de linhagens; e

s: desvio padrão.

A amplitude de classe (c) corresponde à diferença entre os limites superior e inferior de uma determinada classe, foi determinada por:

$$c = \frac{A}{K - 1}$$

O limite inferior (LI) da primeira classe foi obtido por:

$$LI_1 = \text{Menor Valor} - \frac{c}{2}$$

A determinação da primeira classe foi feita somando ao valor do limite inferior da primeira classe (LI<sub>1</sub>) o valor da amplitude de classe (c), obtendo assim o

limite superior. Este processo foi repetido considerando que o limite superior de cada classe seria o limite inferior da classe seguinte.

A média de cada uma das linhagens para cada caractere foi comparada com a média dos genitores pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

As médias das 395 linhagens foram agrupadas pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

#### **4.4. Inoculações com as raças de *Colletotrichum lindemuthianum***

Para a caracterização da reação quanto à resistência à antracnose, oito plantas de cada uma das 393 RIL's e dos genitores, Rudá e AND 277, foram inoculadas com as raças 65 e 89 de *C. lindemuthianum*. Essas raças foram selecionadas por causarem reações contrastantes nos genitores (Alzate-Marin *et al.*, 2003a). Sementes de cada linhagem e dos genitores foram pré-germinadas em papel germiteste em câmara de germinação à 25°C e umidade de 100% por 24 h. Decorrido esse tempo, as plântulas foram transplantadas em bandejas de isopor de 128 células de 30 mL contendo substrato (Tropstrato HT<sup>®</sup>, Vida Verde, Mogi Mirim, SP, Brasil), as quais foram mantidas em casa de vegetação. Ao mesmo tempo, o inóculo de cada raça foi reproduzido em tubo de ensaio contendo vagens verdes de feijão esterilizada e parcialmente imersa em meio batata-dextrose-ágar (BDA) (Pio-Ribeiro e Chaves, 1975). Os tubos com o inóculo foram incubados a  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  no escuro por 10 dias. Após esse período foi adicionado água destilada aos tubos de ensaio e os conídios foram retirados das vagens com auxílio de uma espátula. Foi preparado a suspensão do inóculo contendo  $1,2 \times 10^6$  conídios/mL e pulverizada em ambas as superfícies das folhas primárias, no 10º dia após o transplântio, com o auxílio de um borrifador manual (Pereira *et al.*, 2013). Após as inoculações, as plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura ajustada para  $24 \pm 4^\circ\text{C}$  e UR > 95% até o momento da avaliação.

A avaliação dos sintomas da antracnose foi realizada 10 dias após a inoculação, com base na escala que varia de 1 a 9 graus de reação, conforme descrita por Pastor-Corrales (1992), sendo: 1-ausência de sintomas foliares ou vasculares, 2-até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis somente na face inferior das

folhas, 3-maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas, 4-até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces das folhas, 5-maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas, 6-manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces das folhas, presença de algumas lesões no caule, ramos e pecíolos, 7-manchas necróticas na maioria das nervuras e em grande parte do tecido do mesófilo adjacente que se rompe; presença de abundantes lesões no caule, ramos e pecíolos, 8-manchas necróticas na quase totalidade das nervuras, ocasionando ruptura, desfolhamento e redução do crescimento das plantas; lesões abundantes no caule, ramos e pecíolo, 9-maioria das plantas mortas. As plantas que apresentaram notas de 1 a 3 foram consideradas resistentes e aquelas com nota igual ou maior a 4 foram consideradas suscetíveis. O padrão da herança às raças 65 e 89 de antracnose do feijoeiro da linhagem AND 277 foi avaliado pelo teste de  $\chi^2$  considerando as hipóteses de herança monogênica (sendo dois alelos e relação de dominância completa entre os alelos) com relação fenotípica de 1 resistente : 1 suscetível; e a que considera dois genes (com relação epistática entre os genes) com relação fenotípica de 3 resistentes : 1 suscetível.

#### **4.5. Diversidade genética**

Na análise de diversidade genética foi utilizada como medida de dissimilaridade a distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ) e posteriormente o agrupamento pelo método de Tocher (Rao, 1952). A importância relativa dos caracteres para a dissimilaridade genética das linhagens foi determinada pelo método de Singh (1981). Essas análises foram realizadas considerando os caracteres DF, DC, ARQ, PROD, M100, H e J. Todas as análises foram feitas no Programa Genes (Cruz, 2013).



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Análise de variância e teste de médias

O resumo da análise de variância pelo modelo em blocos casualizados com testemunhas adicionais para as 393 RIL's (Genótipos) e os genitores (Rudá e AND 277 - Testemunhas), além da eficiência do látice, são apresentados na Tabela 2. Essa eficiência foi de no máximo 105,16%. Os valores do coeficiente de variação experimental (CV%) foram relativamente baixos. Estes variaram de 2,22% (DC) a 17,58% (PROD), próximos aos obtidos por Ribeiro *et al.* (2009) em trabalho com 185 RIL's oriundas de 11 populações diferentes. De acordo com Ramalho *et al.* (2012a), coeficientes de variação baixos são de interesse, pois fornecem estimativas de parâmetros genéticos mais precisos e acurados, importantes para as tomadas de decisões ao longo de um programa de melhoramento.

Houve efeito significativo ( $P < 0,01$ ) das RIL's para todos os caracteres (Tabela 2), o que indica variabilidade genética entre elas. A existência de variabilidade genética entre as RIL's para caracteres de importância agrônômica é fundamental para o mapeamento genético e identificação de QTL's (Faleiro *et al.*, 2003). De forma geral, tem sido observado efeito significativo para esses caracteres em outros trabalhos. Blair *et al.* (2012) relatam efeito significativo para os caracteres DF, DC, PROD e M100 ( $P < 0,0001$ ) para 113 RIL's derivadas de genitores pertencentes a um mesmo *pool* gênico. Faleiro *et al.* (2003), em trabalho com 154 RIL's derivadas do cruzamento entre Ouro Negro e Rudá (ambos Mesoamericanos), também observaram efeito significativo ( $P < 0,01$ ) para os caracteres DF, DC e M100. Da mesma forma, Beattie *et al.* (2003) também relataram efeito significativo para os caracteres DC e PROD em 110 RIL's avaliadas em diferentes anos e locais.

**Tabela 2** – Resumo da análise de variância, estimativas da média das RIL's ( $\mu$  RIL's), da média dos genitores ( $\mu$  Genitores) e da herdabilidade em nível de média ( $H^2$ ) para cada caractere avaliado em 393 RIL's de feijoeiro-comum. Coimbra, MG

FV	GL	Quadrados médios <sup>1</sup>						
		DF	DC	ARQ	PROD	H	J/	M100
Blocos	2	164,57	45,23	7,17	12313995,90	0,0067	0,019	70,67
Tratamentos	394	156,50	81,97	1,31	1971300,42	0,0089	0,041	95,58
RIL's	392	156,47**	82,16**	1,32**	1935032,23**	0,0089**	0,041**	89,21**
Genitores (Ge)	1	240,67**	2,67 <sup>ns</sup>	1,04*	37040,82 <sup>ns</sup>	0,0136**	0,235**	2003,27**
RIL's vs. Ge	1	86,89**	88,48**	0,012 <sup>ns</sup>	18122690,18**	0,0021 <sup>ns</sup>	0,0002 <sup>ns</sup>	689,06**
Resíduo	788	6,39	4,99	0,23	210563,99	0,0011	0,0032	2,59
Eficiência Látice (%)		100,23	101,64	100,83	105,16	102,21	101,38	101,51
CV %		4,79	2,22	17,59	16,16	4,52	3,34	6,5
$\mu$ RIL's		52,82	100,52	2,70	2831,45	0,75	1,69	24,72
$\mu$ Genitores		49	96,67	2,75	4573,81	0,77	1,68	35,46
$H^2$ %		95,91	93,93	82,81	89,12	87,27	92,23	97,09

\*\* , \* : significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F; <sup>ns</sup>: não significativo. DF: número de dias ao florescimento; DC: número de dias à colheita; ARQ: arquitetura de plantas; PROD: produtividade de grãos em Kg/ha ; H: grau de achatamento da semente; J: forma da semente; M100: massa de 100 sementes.

Alguns caracteres, como arquitetura de plantas, são geralmente avaliados por uma escala de notas. Essas avaliações são visuais, trabalhosas e demandam avaliadores bem treinados. Assim, a existência de variabilidade na população para esses caracteres é promissora para a detecção da associação com marcadores moleculares possibilitando a seleção assistida.

Não foi observado efeito significativo para a fonte de variação genitores apenas para os caracteres DC e PROD (Tabela 2). Efeito significativo de genitores indica divergência entre eles para os caracteres em questão. No caso dos caracteres DC e PROD também se verifica divergência entre os genitores, pois, embora o efeito de genitores para esses caracteres tenha sido não significativo, observou-se efeito significativo para a fonte de variação RIL's. Isso pode ser devido à complementariedade de genes entre os genitores envolvidos na determinação destes caracteres. Divergência entre os genitores Rudá e AND 277 é esperada em razão desses serem oriundos de *pools* gênicos diferentes.

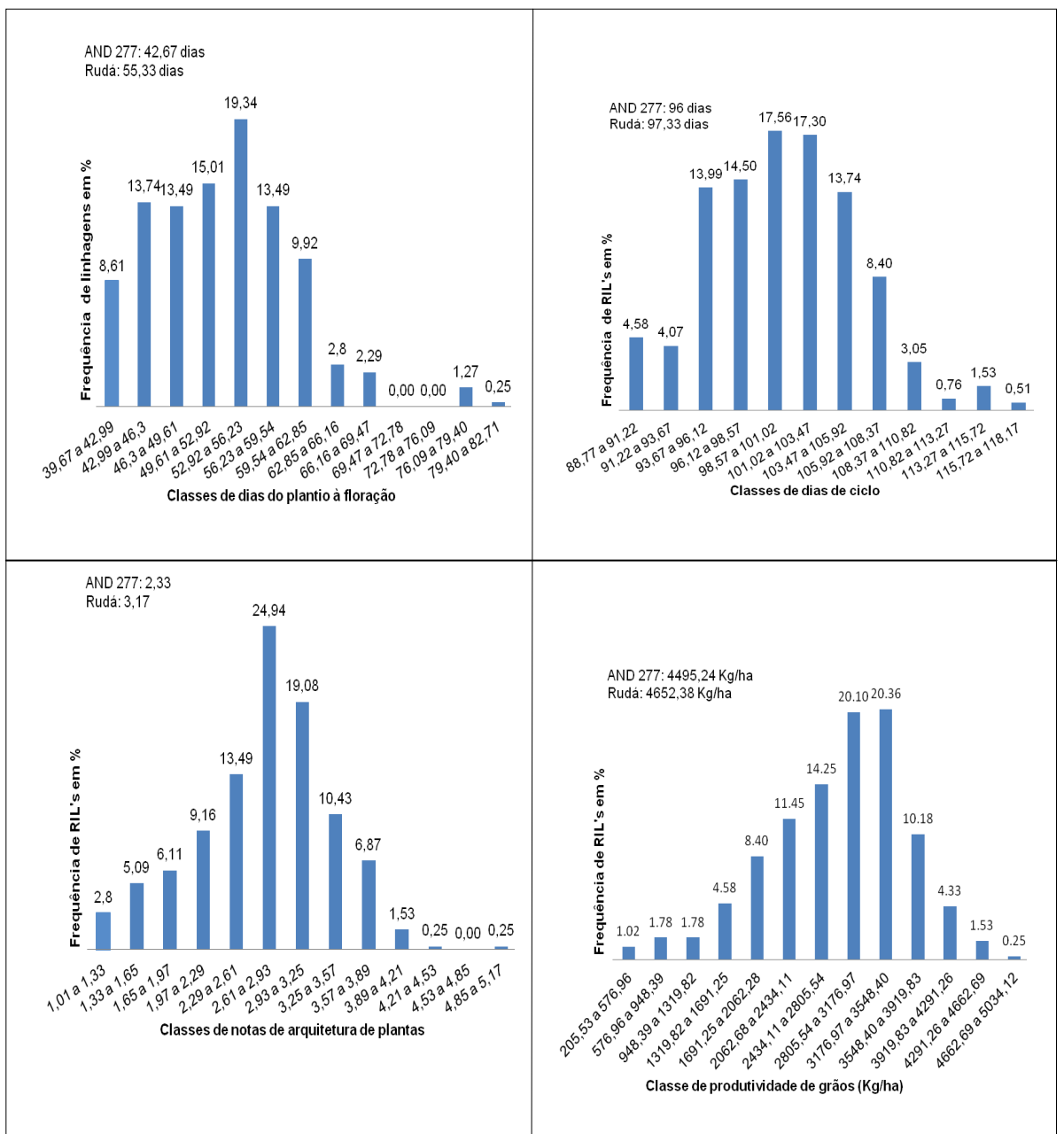
O contraste RIL's vs. Genitores foi significativo ( $P < 0,01$ ) para os caracteres DF, DC, PROD e M100 e não significativo para ARQ, H e J (Tabela 2). A significância desses contrastes indica que a média das RIL's difere da média dos genitores. Para DF, DC as médias das RIL's superaram as dos genitores, enquanto para PROD e M100 as médias das RIL's foram inferiores. Igualdade entre as médias das RIL's e dos genitores é esperada apenas na ausência de epistasia (Johnson e Gepts, 2002). Assim, estes resultados indicam a ocorrência de interações epistáticas do tipo aditiva x aditiva para os caracteres DF, DC, PROD e M100.

Cabe ressaltar que tem sido observada a ocorrência de efeitos de incompatibilidade genética em cruzamentos de feijões Andinos e Mesoamericanos (Koinange e Gepts, 1992; Singh e Molina, 1996; Johnson e Gepts, 1999). Esses efeitos tem se manifestado principalmente em caracteres relacionados ao ciclo e produtividade do feijoeiro (Johnson e Gepts, 1999; Johnson e Gepts, 2002). Voysest (2000) apresenta a hipótese de uma origem Andina e Mesoamericana para a linhagem AND 277, devido à compatibilidade de cruzamento existente entre essa linhagem e cultivares Mesoamericanos. Caixeta (2002), em estudo de alelismo, sugeriu a existência de três genes ( $Phg-2^2$ ,  $Phg-3^2$ ,  $Phg-4^2$ ) de resistência à mancha-angular presentes na linhagem AND 277, os quais seriam provenientes de cultivares

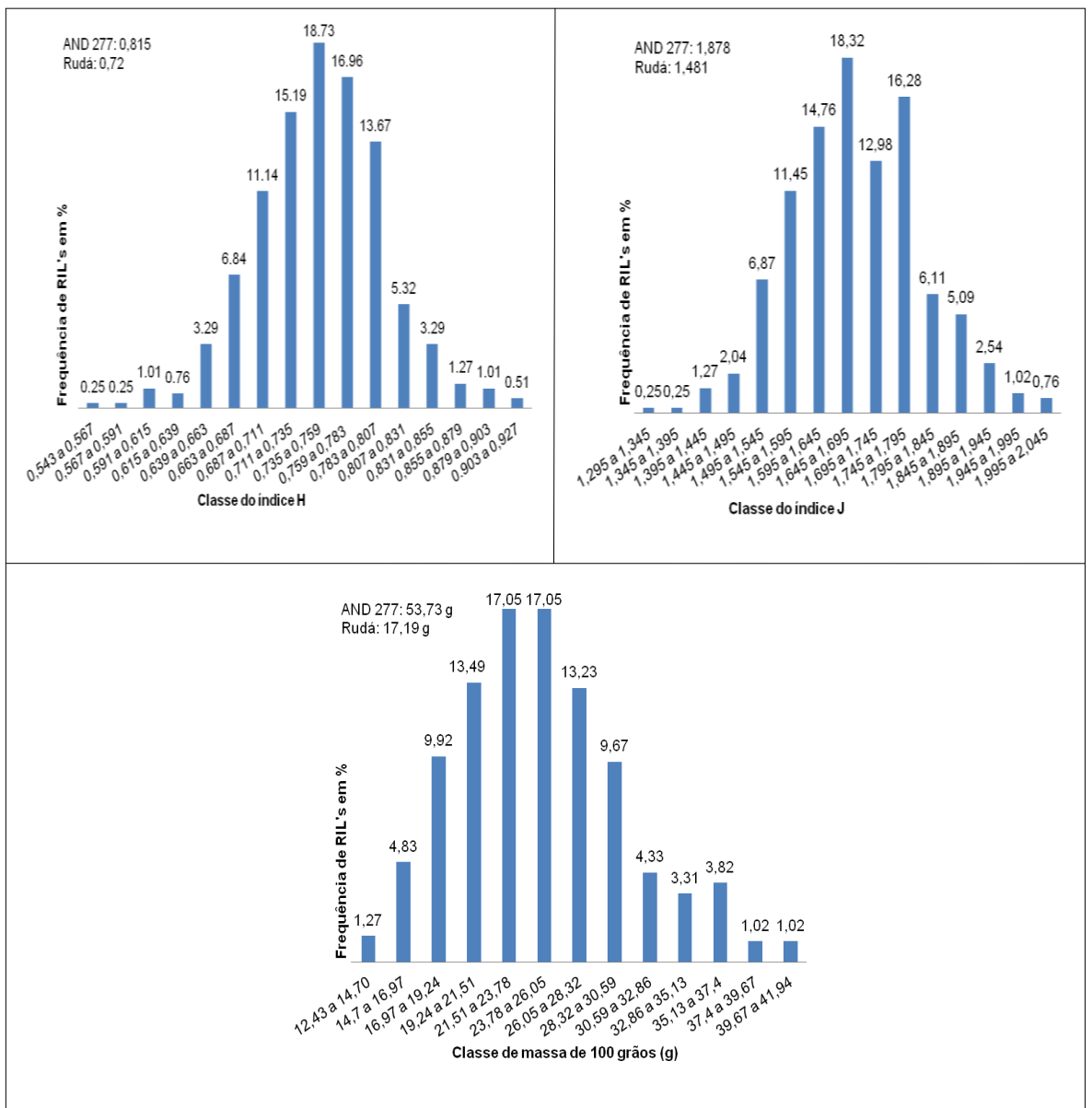
Mesoamericanos. Assim, os desvios da média das RIL's em relação à média dos genitores para os caracteres DF, DC, PROD e M100 também poderiam ser devido aos efeitos de incompatibilidade para esses caracteres. Cabe ressaltar que esses efeitos de incompatibilidade são devidos aos efeitos de interação gênica epistática (Johnson e Gepts, 2002).

Nas Figuras 1 e 2 são apresentadas as distribuições das frequências das 393 RIL's em classes para cada um dos caracteres, conforme proposto por Ramalho *et al.*, (2012a). De modo geral, foi possível a formação de diferentes classes de distribuição de médias para cada um dos sete caracteres avaliados. Esses dados corroboram a variabilidade existente nas RIL's para todos os caracteres avaliados.

Valores semelhantes aos de herdabilidades detectados são relatados na literatura. Ribeiro *et al.* (2009) encontraram 87,04% e 77,54% para o coeficiente de determinação genotípico, uma medida análoga à herdabilidade, para os caracteres DF e PROD, valores inferiores ao encontrado no presente trabalho. Faleiro *et al.* (2003) estimaram parâmetros genéticos em 154 RIL's derivadas do cruzamento entre Ouro Negro e Rudá e também relataram elevados valores de herdabilidade para DF (91,62%), DC (86,39%) e M100 (91,26%), porém todos inferiores aos encontrados nesse trabalho. Blair *et al.* (2012), em trabalho de detecção de QTL's para DF, DC e M100, relatam que o maior número de QTL's e acurácia para M100 são devidos à maior estimativa de herdabilidade para esse caractere.



**Figura 1** - Distribuição de frequências em classes de dias do plantio à floração, de ciclo, de arquitetura de plantas e de produtividade de grãos obtida da avaliação de 393 RIL's. Coimbra, MG.



**Figura 2** - Distribuição de frequência em classes do índice H, índice J e da massa de cem grãos. Coimbra, MG.

As médias das 393 RIL's para os sete caracteres avaliados foram comparadas às médias dos genitores (Rudá e AND 277) e agrupadas em classes de médias iguais ou diferentes, estatisticamente pelo teste de Dunnett, às médias dos genitores (Tabela 3).

Para o caractere DF foram observadas 37 linhagens com valor superior a Rudá (55,33 dias), variando de 61,67 dias (UFV-RA 033) a 81 dias (UFV-RA 277). Entretanto, nenhuma das linhagens apresentou média estatisticamente inferior ao genitor AND 277, que floresceu com 42,67 dias, juntamente com outras 127 linhagens. De acordo com Ramalho *et al.* (2012b) a segregação transgressiva é o aparecimento na geração F<sub>2</sub> de indivíduos com desempenho fora dos limites dos genitores e é proporcionada pela complementaridade genotípica dos genitores. Dado que cada RIL trata-se de uma linhagem avançada correspondente a um indivíduo da geração F<sub>2</sub>, tem-se que a ocorrência de RIL's com média fora dos limites dos genitores também indica ocorrência de segregação transgressiva.

Considerando DC, 134 RIL's foram superiores ao genitor Rudá (97,33 dias), sendo a RIL UFV-RA 360 e a RIL UFV-RA 277, as mais tardias, com 117 e 116 dias de ciclo, respectivamente. Todas as 12 RIL's inferiores ao genitor AND 277 (96 dias) apresentaram ciclo de 90 dias.

O principal caráter utilizado para avaliar a precocidade é o início do florescimento, ou seja, o tempo decorrido da emergência ao aparecimento das primeiras flores. Os cultivares de feijão disponíveis para cultivo no Brasil são contrastantes geneticamente quanto ao florescimento e ao ciclo, sendo este último considerado intermediário com cerca de 90 dias, e precoce quando inferior a 72 dias. A maioria dos cultivares utilizados pelos produtores de feijão no país é de ciclo intermediário (Ribeiro *et al.*,2004). A utilização de cultivares precoces é vantajosa, pois permite o melhor aproveitamento da área de cultivo, pela adequação da época mais favorável à semeadura e à colheita, por meio do conhecimento das condições ambientais prevalecentes.

**Tabela 3** – Número de RIL's agrupadas em diferentes classes de médias em relação à média dos genitores, pelo teste de Dunnett, para os caracteres dias para o florescimento (DF) e para a colheita (DC), arquitetura (ARQ), produtividade de grãos (PROD) em Kg/ha, grau de achatamento (H) e forma (J) da semente e massa de cem sementes (M100) em g. Coimbra, MG

CARACTERE	Número de RIL's por classe						Média dos genitores	
	Iguais <sup>1</sup>			Diferente <sup>2</sup>			AND 277 (A)	RUDÁ (B)
	A	B	AB	MAIOR	MENOR	ENTRE A-B		
DF	127	221	0	37 > (B)	0 < (A)	8	42,67	55,33
DC	7	44	196	134 > (B)	12 < (A)	0	96,00	97,33
ARQ	63	53	267	2 > (B)	8 < (A)	0	2,33	3,17
PROD	32	0	63	0 > (B)	298 < (A)	0	4495,24	4652,38
H	55	140	186	3 > (A)	9 < (B)	0	0,81	0,72
J	127	105	0	1 > (A)	1 < (B)	159	1,88	1,48
M100	0	100	0	0 > (A)	0 < (B)	293	53,73	17,19

Iguais<sup>1</sup>: classe de linhagens com médias estatisticamente iguais aos genitores AND 277 (A), Rudá (B) e a ambos simultaneamente (AB) (Dunnett, P < 5%). Diferente<sup>2</sup>: classe de linhagens com média superior (MAIOR) que o genitor com maior valor de média; classe de linhagens com média inferior (MENOR) que o genitor com menor valor de média e classe de linhagem com média entre as médias dos genitores (ENTRE A-B) (Dunnett, P < 5%).

Vale destacar que a ocorrência de RIL's cujo período de florescimento e ciclo são demasiadamente elevados em relação aos genitores e ao convencionalmente relatado para a cultura do feijoeiro pode estar associada a problemas de incompatibilidade genética que comumente ocorrem em populações oriundas do cruzamento de genitores de *pool* gênicos diferentes, como nesse trabalho.

Para ARQ, a RIL UFV-RA 127 e a RIL UFV-RA 030 apresentaram notas 5,0 e 4,5, respectivamente, estatisticamente maiores que Rudá (3,17), enquanto que oito RIL's apresentaram nota menor que AND 277 (2,33). Plantas de porte ereto associada à maior altura de inserção da primeira vagem são de interesse na cultura do feijoeiro. Dessa associação, podem ser citadas como vantagens a diminuição do contato da vagem com o solo, reduzindo a chance de ocorrência de doenças, principalmente mofo-branco; a redução de perdas na colheita, sobretudo quando essa ocorre em período chuvoso; a manutenção da qualidade da semente; a facilitação dos tratos culturais e a viabilização da colheita mecânica (Santos e Vencovsky, 1986).

A busca por linhagens com arquitetura ereta tem sido prática constante dos programas de melhoramento do feijoeiro. Os caracteres determinantes da arquitetura



de plantas são, principalmente, o diâmetro do hipocótilo, o ângulo de inserção dos ramos e a altura de plantas na colheita (Acquaah *et al.*, 1991; Moura *et al.*, 2013). Moura *et al.* (2013), utilizando análise de trilha, concluiu que o diâmetro do hipocótilo apresenta elevada correlação de causa e efeito com notas de arquitetura. Este caráter apresenta, de modo geral, efeitos aditivos em seu controle (Rocha, 2012; Silva, 2011; Oliveira, 2012) e a correlação com nota de arquitetura é devida a genes pleiotrópicos de efeitos aditivos (Rocha, 2012). Entretanto, associação do diâmetro do hipocótilo de plantas F<sub>2</sub> com suas progênes F<sub>2:3</sub> foi de baixa magnitude (Oliveira, 2012), indicando elevada influência ambiental no controle desta característica. Apesar da elevada influência ambiental na determinação do diâmetro do hipocótilo em plantas individuais do feijoeiro, tornando a associação do diâmetro do hipocótilo de plantas F<sub>2</sub> com suas progênes F<sub>2:3</sub> de baixa magnitude, o caractere pode ser usado como ferramenta auxiliar para a seleção de plantas com melhor porte, desde que a seleção se baseie na média de pelo menos 40 plantas na parcela (Oliveira, 2012). A existência de variabilidade genética para esse caractere nas RIL's avaliadas neste trabalho demonstra seu potencial para a detecção da associação entre marcador e QTL's relacionado à arquitetura de plantas, viabilizando a seleção assistida.

Nenhuma das RIL's foi superior a Rudá (4652,38 Kg/ha) na produtividade de grãos, possivelmente por esse genitor possuir o maior valor genotípico para esse caractere. Entretanto, 298 RIL's produziram menos que o genitor AND 277 (4.495,24 Kg/ha), destacando-se a RIL UFV-RA 135 (423,81 Kg/ha) e a RIL UFV-RA 277 (395,24 Kg/ha) com os menores valores. A baixa produtividade de algumas RIL's, como a RIL UFV-RA 135 e a RIL UFV-RA 227, pode estar associada a problemas de incompatibilidade genética que comumente ocorrem em populações oriundas do cruzamento de genitores de *pool* gênicos diferentes, como nesse trabalho.

Para o grau de achatamento da semente (H) foram verificadas três RIL's (as RIL's UFV-RA 035, UFV-RA 107 e UFV-RA 210) com valores variando de 0,90 a 0,92, superiores ao genitor AND 277 (0,81). Em relação ao grau de achatamento, valores maiores ou iguais a 0,80 classificam estes materiais como semente do tipo 'cheia'. Nove linhagens com valores variando de 0,55 a 0,64, inferiores a Rudá (0,72 – 'semi-cheia'), formaram a classe 'achatada' (menor ou igual a 0,69).

O genitor AND 277 apresentou para a forma da semente (J) o valor de 1,88, o que classifica a semente como reniforme média, e apenas a RIL UFV-RA 365 apresentou valor estatisticamente superior, 2,02, sendo classificada como reniforme longa. Semelhantemente, apenas a RIL UFV-RA 168 (1,32 - esférica) apresentou valor estatisticamente inferior a Rudá (1,48 - elíptica).

Nenhuma das RIL's apresentou M100 superior a AND 277 (53,73 g) ou inferior a Rudá (17,19 g), sendo que 100 RIL's foram estatisticamente iguais a Rudá e 293 RIL's apresentaram valores intermediários aos genitores. A não ocorrência de segregação transgressiva para esse caractere pode ser explicada pelo fato de AND 277 e Rudá apresentarem valores muito distintos que poderiam ser o maior e menor valor genotípico para o caractere, respectivamente.

De modo geral, a ocorrência da segregação transgressiva para a maioria dos caracteres corrobora a complementariedade gênica dos genitores (Rudá e AND 277), de importância na obtenção de RIL's com elevada variabilidade, mesmo para os caracteres DC e PROD em que os genitores não apresentaram diferença significativa.

Na Tabela 4 é apresentado o agrupamento das 393 RIL's e genitores pelo teste de Skott-Knott, a 5% de probabilidade, para cada um dos caracteres.

O caractere M100 foi o que mais formou grupos. As médias das linhagens dentro de um mesmo grupo são homogêneas a 5% de probabilidade, não havendo a necessidade de partição do grupo. O caractere DF foi o segundo responsável pela maior formação de grupos. Os caracteres que menos formaram grupo foram PROD e ARQ. A formação de diferentes números de grupos para os diferentes caracteres também corrobora a variabilidade existente para os mesmos.

Semelhantemente, Benin *et al.* (2001) e Benin *et al.* (2002), afirmaram que a massa de 1000 sementes (M1000) propiciou o maior número de grupos, seis e dez, entre os seis caracteres utilizados para avaliar a dissimilaridade entre 50 e 58 linhagens de feijão-comum do grupo carioca e do grupo preto, respectivamente. No trabalho de Ribeiro *et al.* (2009), os caracteres M1000 e DF foram os que mais formaram grupos, oito e cinco, respectivamente, dentre cinco caracteres avaliados.

**Tabela 4** – Agrupamento das 393 RIL's e genitores pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade para cada caractere e total de grupos por caractere. Coimbra, MG

Cractere <sup>1</sup>	Grupos de médias formados												Total
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	
	Número de linhagens em cada grupo <sup>2</sup>												
M100	<sup>A</sup>	5	7	14	11	51	57	78	74	63	24 <sup>R</sup>	9	11
DF	6	10	10	60	108 <sup>R</sup>	52	47	54	46 <sup>A</sup>				9
DC	11	45	78	72	56	71 <sup>AR</sup>	41	19					8
J	10	37 <sup>A</sup>	129	139	62	13 <sup>R</sup>	3						7
H	11	33 <sup>A</sup>	153	140 <sup>R</sup>	47	9							6
PROD	18 <sup>AR</sup>	56	166	113	26	14							6
ARQ	76	173 <sup>R</sup>	89 <sup>A</sup>	55									4

<sup>1</sup> M100: massa de 100 sementes; DF: número de dias ao florescimento; DC: número de dias à colheita; J: forma da semente; H: grau de achatamento da semente; PROD: produtividade de grãos em Kg/ha; ARQ: arquitetura de plantas. <sup>2</sup> Linhagens dentro de um mesmo grupo (mesma letra do alfabeto) são homogêneas entre si a 5% de probabilidade. <sup>A</sup>, <sup>R</sup>: presença dos genitores AND 277 e Rudá, respectivamente, nos grupos de médias formados.

Elias *et al.* (2007) também relataram que M100 foi o caractere que proporcionou mais grupos de médias, seis, em estudo de diversidade com 45 cultivares de feijão preto, enquanto que os caracteres DC e PROD formaram apenas três e dois grupos, respectivamente.

## 5.2. Inoculações com as raças de *Colletotrichum lindemuthianum*

Considerando a hipótese de herança monogênica, com dois alelos e dominância completa entre eles, para a resistência a cada uma das duas raças de *C. lindemuthianum*, espera-se uma razão de 1:1 (1 resistente : 1 suscetível) entre as RIL's (Tabela 5). Cabe ressaltar que o gene que determina resistência pode ser dominante ou recessivo, uma vez que não se teve informação da resistência das plantas F<sub>1</sub>'s que originaram as RIL's. A probabilidade associada a esta hipótese para a raça 65 foi de aproximadamente zero, ou seja, essa hipótese foi rejeitada. Já para a raça 89 esta hipótese (1:1) apresentou valor de qui-quadro associado a 57,90% de probabilidade, indicando ser um gene (dominante ou recessivo) envolvido na resistência desta raça.

**Tabela 5** - Avaliação do padrão de herança da resistência das RIL's às raças 65 e 89 de Antracnose

Raça	Hipóteses H <sub>0</sub>	Relação Fenotípica Esperada	Esperados	Observados	$\chi^2$	Prob. (%)
65 <sup>Y</sup>	A	1 resistente : 1 suscetível	196 : 196	304 : 88	119.02	0*
	B	3 resistentes : 1 suscetível	294 : 98	304 : 88	1.36	24.34 <sup>ns</sup>
89 <sup>Z</sup>	A	1 resistente : 1 suscetível	196.5 : 196.5	202 : 191	0.31	57.90 <sup>ns</sup>
	B	3 resistentes : 1 suscetível	294.75 : 98.25	202 : 191	116.74	0*

<sup>Y,Z</sup>: avaliação de 392 e 393 RIL's, respectivamente; A: 1 gene com 2 alelos e relação de dominância completa entre eles; B: 2 genes dominantes duplicados independentes;  $\chi^2$ : valor do qui-quadrado; P: probabilidade; <sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade; \* significativo a 5% de probabilidade.

De acordo com Alzate-Marin *et al.* (1997), as plantas F<sub>1</sub> resultantes do cruzamento da linhagem AB 136 com o cultivar Michelite foram resistentes à raça 89 e a população F<sub>2</sub> segregou na proporção de 3:1 (3 resistentes : 1 suscetível). Neste mesmo trabalho, os retrocruzamentos de indivíduos F<sub>1</sub> com o genitor AB 136 (resistente à raça 89) e com o genitor Michelite (suscetível à raça 89) propiciaram indivíduos que segregaram na proporção 1:1 e 1:0, respectivamente, quando inoculados. Desses cruzamentos, conclui-se que a reação de resistência da linhagem AB 136 à raça 89 de *C. lindemuthianum* também é condicionada por um gene com dois alelos que possuem relação de dominância completa entre eles, como encontrado no presente trabalho em relação a AND 277. Faleiro *et al.* (2002) também relata que a segregação da resistência de 154 RIL's derivadas do cruzamento entre Rudá e Ouro Negro à raça 89 é de herança monogênica.

A segregação de 1:1 (R:S) nas 393 RIL's à raça 89 de antracnose indica que não houve distorção de segregação (alteração da estrutura genética) para esta característica, o que corrobora o potencial destas RIL's para o mapeamento genético e detecção de QTL's.

Alzate-Marin *et al.* (2003b) observaram uma razão de 1:3 (R:S) na segregação das plantas F<sub>2</sub> oriundas do cruzamento Rudá x Cornell 49-242 e de 3:1 (R:S) no cruzamento Ouro Negro x Cornell 49-242, quando inoculadas com a raça 65 de *C. lindemuthianum*. Os autores concluem que um gene recessivo e um dominante estão envolvidos na resistência da cultivar Cornell 49-242 a este patótipo. Caso o controle genético da resistência de AND 277 à raça 65 fosse devida a um

gene dominante e um recessivo, como em Cornell 49-242, seria esperada nas RIL's uma razão de 1:3 (R:S). Entretanto, foi observada uma razão inversa de 3:1 (R:S). Arruda (2009), em população F<sub>2</sub> oriunda do cruzamento entre AND 277 e Rudá, conclui que pelo menos dois genes dominantes duplicados independentes estão envolvidos no controle genético da resistência de AND 277 à raça 65 de antracnose.

Considerando que o padrão de herança de AND 277 à raça 65 seja determinado por dois genes dominantes duplicados independentes, é esperado em RIL's as classes resistentes (AABB, AAbb, aaBB) e suscetíveis (aabb) numa proporção de 3 resistentes : 1 suscetível, respectivamente. Esta hipótese não foi rejeitada (Tabela 5) dado o valor de probabilidade ( $P = 24,34\%$ ) maior que 5%.

Este resultado indica que existe na linhagem AND 277 pelo menos um gene dominante de resistência em comum com Cornell 49-242 e que Cornell 49-242 possui um gene recessivo de resistência que não está presente em AND 277. Desta forma, os genótipos de AND 277, Cornell 49-242 e Rudá seriam AABBCC, AAbbcc e aabbCC, respectivamente.

A segregação de 3:1 (R:S) obtida para a raça 65 de antracnose nas 393 RIL's também indica que a estrutura genética não foi alterada com o avanço das gerações de autofecundação.

### **5.3. Diversidade genética**

O método de agrupamento de Tocher, com base na matriz de distância generalizada de Mahalanobis, permitiu a formação de 10 grupos (Tabela 6). A distribuição das RIL's em 10 grupos dissimilares corrobora a variabilidade existente entre elas. A distância entre as linhagens pertencentes a cada grupo é menor que a distância entre as linhagens pertencentes a grupos diferentes.

O genitor Rudá foi incluso no grupo III, juntamente com outras sete linhagens, enquanto que o genitor AND 277 foi incluso no grupo XI, comprovando a diversidade genética entre estes genitores de diferentes *pools* gênicos, e a eficácia dos caracteres avaliados para a diferenciação dos mesmos.

**Tabela 6** – Agrupamento das 393 RIL's e genitores de feijão pelo método de Tocher com base na matriz de distância de Mahalanobis. Coimbra, MG

Grupos	N <sup>1</sup>	RIL's UFV-RA																	
I	329	34	106	223	354	94	78	147	57	97	344	301	5	83	329	115	289	7	
		173	2	287	376	359	4	357	196	185	215	163	193	213	22	145	246		
		8	88	89	132	39	253	197	25	272	384	232	347	342	91	60	211		
		381	84	76	201	337	310	130	353	139	131	269	41	318	181	280			
		160	43	221	36	126	268	12	50	70	283	53	28	149	27	205	202		
		326	317	325	52	349	373	291	166	46	65	87	251	62	167	298	188		
		273	81	15	379	74	44	1	189	276	146	24	371	48	80	104	29	255	
		161	294	154	285	346	172	47	334	295	218	42	388	13	119	231			
		300	77	314	240	361	293	250	236	331	93	10	111	284	351	116			
		308	31	303	368	73	151	239	237	123	142	169	216	281	33	96			
		207	262	171	254	174	103	316	156	319	49	124	138	90	19	82			
		137	26	122	358	121	217	134	21	92	292	32	263	370	17	369	153		
		341	264	219	233	11	377	150	30	203	6	279	85	71	14	305	313		
		112	177	9	100	374	117	247	378	392	206	58	278	304	228	311			
		56	327	40	186	257	212	155	222	296	282	178	190	141	101	140			
		175	309	307	258	364	133	393	290	363	210	176	37	338	199	345			
		183	227	336	238	105	383	328	302	180	179	113	120	61	324	195			
		200	184	356	45	389	267	157	67	18	3	64	252	72	107	209	164		
		274	129	391	271	330	367	386	16	321	339	192	109	375	312	230			
		229	198	158	352	118	382	385	286	98	55	244	372	260	59	136			
		54	220	306	235	226	99	38	102	51	148	182	159	362	320	214			
		256	315	355															
II	16	95	162	143	108	245	288	114	20	266	333	350	204	69	135	225			
		35																	
III	7	66	265	348	323	380	168	187	Rudá										
IV	2	297	387																
V	31	152	194	366	275	241	208	125	332	75	248	335	249	299	234	242			
		340	261	224	170	343	322	365	390	128	68	191	79	243	86	165			
		259																	
VI	3	23	110	63															
VII	2	144	270																
VIII	1	127																	
IX	1	360																	
X	1	277																	
XI	-	AND	277																

<sup>1</sup>: Número de linhagens em cada grupo formado.

A distância genética existente entre Rudá e AND 277 foi quantificada a nível molecular por Sanglard *et al.* (2013), pelo uso de um conjunto de 126 marcadores SSR (*Simple Sequence Repeat*, ou sequências simples repetidas, também chamados de microssatélites) e 677 marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*, ou polimorfismos a partir de um único nucleotídeo) como sendo de 78,6% e 71,3%, respectivamente.

Filho *et al.* (2008) também separaram um cultivar Andino em um grupo e os 12 cultivares restantes, todos Mesoamericanos, em outro grupo dissimilar pelos métodos hierárquicos e de Tocher, todos baseado na matriz de distância generalizada de Mahalanobis.

Pelo método de Tocher, Lima (2010) obteve a formação de oito grupos dissimilares que reuniram 100 acessos de banco de germoplasma pertencentes a oito grupos comerciais diferentes, de origem Andina e Mesoamericana, com base na matriz de dissimilaridade obtida pelo índice de coincidência simples. Dos 22 caracteres avaliados por Lima (2010), cinco coincidem com os do presente trabalho: forma da semente (J), grau de achatamento da semente (H), dias do plantio à floração (DF), arquitetura de plantas (ARQ) e produtividade de grãos (PROD). Este autor também avaliou massa de mil grãos (M1000), ao contrário de cem grãos (M100), caráter esse avaliado no presente trabalho.

Benin *et al.* (2001) agruparam 53 genótipos em 26 grupos distintos pelo método de Tocher, resultado considerado promissor dado que diferentes combinações híbridas podem ser obtidas desses indivíduos dissimilares que também apresentaram elevado potencial *per se*. Benin *et al.* (2002) avaliando 58 genótipos de feijão, agrupou-os em 22 grupos distintos também pelo método de Tocher.

Elias *et al.* (2007) reuniram 45 cultivares em 9 grupos pelo método de Tocher, também usando como medida de dissimilaridade a matriz de distância generalizada de Mahalanobis, permitindo a inferência sobre genitores potenciais para o melhoramento genético baseando-se em importantes caracteres morfoagronômicos e nutricionais, como produtividade, porte, teor de proteína bruta e massa de cem grãos.

#### 5.4. Importância dos caracteres

A contribuição relativa de cada um dos sete caracteres para a dissimilaridade genética entre as RIL's, conforme proposto por Singh (1981), pode ser observada na Tabela 7. Os caracteres que mais contribuíram para a dissimilaridade genética entre as RIL's foram M100 (34,58%) e DF (19,54%), e os que menos contribuíram foram PROD (6,95%) e ARQ (5,28%).

Corrêa e Gonçalves (2012) avaliaram 13 genótipos de feijão-comum, linhagens avançadas e cultivares comerciais, e também detectaram que M100 era o caractere que mais contribuiu para a dissimilaridade genética total. Semelhantemente, Benin *et al.* (2001) e Benin *et al.* (2002) afirmam que massa de mil grãos (M1000) foi o caractere mais importante para a dissimilaridade.

Entretanto, de acordo com Coimbra e Carvalho (1998), os caracteres que mais contribuíram para a dissimilaridade entre nove genótipos de feijão do tipo carioca foram o número de grãos por vagem, produtividade e massa de mil grãos, responsáveis por 25,87%, 22,57% e 14,81% da dissimilaridade total, respectivamente. Essas variações na importância de caracteres para a divergência entre materiais genéticos podem ser explicadas pelo fato desses caracteres serem determinados por muitos genes que possuem interação intralélica e interalélica, além de sofrerem influência do meio, variando muito nos diferentes trabalhos realizados em ambiente variados. Outro fator a ser considerado é o tipo de material genético em estudo, no que diz respeito ao contraste entre os mesmos para os diferentes caracteres em avaliação.

Deve-se destacar ainda na Tabela 7 que, pelo teste de Skott Knott (Tabela 5), os caracteres M100 e DF foram os que mais formaram grupos de médias homogêneas, e os caracteres ARQ e PROD os que formaram menor número de grupos. Estes resultados concordam com os resultados anteriores de importância de caracteres para a dissimilaridade genética entre as RIL's por meio da estimativa de Singh (1981), refletindo a importância de M100 e DF no estudo da diversidade genética destas RIL's.



**Tabela 7** – Contribuição relativa dos caracteres para a dissimilaridade genética e número de grupos de médias formados para cada caractere, pelo teste de Skott Knott, entre as 393 RIL's. Coimbra, MG

Caractere <sup>1</sup>	S.J <sup>2</sup>	Valor (%)	Skott Knott <sup>3</sup>
M100	1895537,02	34,58	10
DF	1070903,85	19,54	9
DC	724140,51	13,21	8
J	674584,83	12,31	7
H	445516,09	8,13	6
PROD	380992,23	6,95	5
ARQ	289697,12	5,28	4

<sup>1</sup>: M100: massa de 100 sementes; DF: número de dias ao florescimento; DC: número de dias à colheita; J: forma da semente; H: grau de achatamento da semente; PROD: produtividade de grãos (Kg/ha); ARQ: arquitetura de plantas. <sup>2</sup>: Distância total propiciada por cada caractere. <sup>3</sup>: Número de grupos de médias estatisticamente diferente formada pelo teste de Skott Knott.

## 6. CONCLUSÕES

- As RIL's apresentam variabilidade genética e são promissoras para estudos de detecção de QTL's.
- A ocorrência de interações epistáticas do tipo aditiva x aditiva favoreceu a manifestação de incompatibilidade genética entre as RIL's, comum em populações oriundas do cruzamento entre genitores de *pools* gênicos diferentes (Andino x Mesoamericano).
- A resistência de AND 277 à raça 65 de *C. lindemuthianum* é conferida por dois genes dominantes duplicados independentes, enquanto que a resistência à raça 89 é monogênica, com dois alelos e dominância completa entre os alelos.
- A estrutura genética da população Rudá x AND 277, constituída de 393 RIL's, não foi alterada considerando os caracteres resistência às raças 65 e 89 de antracnose.
- Os caracteres M100 e DF foram os que mais contribuíram para a dissimilaridade genética entre as RIL's.
- As RIL's derivadas da população Rudá x AND 277 apresentam potencial para o desenvolvimento de um mapa genético nuclear para o feijão-comum, saturado e com estimativas acuradas da frequência de recombinação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACQUAAH, G.; ADAMS, M. W.; KELLY, J. D. Identification of effective indicators of erect plant architecture in dry bean. **Crop Science**. v.31, p.261-264. 1991.

ADAM-BLONDON, A.; SÉVIGNAC, M.; DRON, M. A genetic map of common bean to localize specific resistance genes against anthracnose. **Genome**. v.37, p.915-924. 1994.

ALZATE-MARIN, A. L.; CERVIGINI, G. D. L.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**. v.30, n.4, p.333-342. 2005.

ALZATE-MARIN, A. L.; ARRUDA, K. M. A.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Allelism studies for anthracnose resistant genes of common bean cultivar AND 277. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. v.46, p.173-174. 2003a.

ALZATE-MARIN, A. L.; BAÍA, G. S. PAULA JUNIOR, T. J. CARVALHO, G. A.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Inheritance of anthracnose resistance in common bean differential cultivar AB 136. **Plant Disease**. v.81, n.9, p.996-998. 1997.

ALZATE-MARIN, A. L.; COSTA, M. R.; MENARIM, H.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Herança da resistência à antracnose na cultivar de feijoeiro comum cornell 49-242. **Fitopatologia Brasileira**. v.28, n.3, p.302-306. 2003b.

ARRUDA, K. M. A. **Melhoramento genético de feijão tipo “carioca” com ênfase na piramidação de genes de resistência à antracnose**. Viçosa, MG: UFV, 77p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, 2005.

ARRUDA, K. M. A. **Piramidação de genes de resistência à antracnose, ferrugem e mancha-angular e estudos de alelismos em feijão comum.** Viçosa, MG: UFV, 129p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, 2009.

ARUMUGANATHAN, K.; EARLE, E. D. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant Molecular Biology Report.** v.9, p.208-218. 1991.

BARROS, E. G.; SOUZA, T. L. P. O. Biotecnologia aplicada à cultura do feijoeiro. In: CANÇADO, G. M. A.; SOARES, B. D. F. (Eds.). **Biotecnologia aplicada à Agropecuária.** Caldas: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. 644p. 2012.

BEATTIE, A. D.; LARSEN, J.; MICHAELS, T. E.; PAULS, K. P. Mapping quantitative trait loci for a common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ideotype. **Genome.** v.46, p.411-422. 2003.

BENIN, G.; CARVALHO, F. I. F.; ASSMANN I. C.; CIGOLINI, J.; CRUZ, P. J.; MARCHIORO, V. S.; LORENCETTI, C.; SILVA, S. A. Dissimilaridade genética em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com grão tipo carioca. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha.** v.7, n.2, p.237-244. 2001.

BENIN, G; CARVALHO, F. I. F. de; ASSMANN, I. C.; CIGOLINI, J.; CRUZ, P. J.; MARCHIORO, V. S.; LORENCETTI, C.; SILVA, J. A. G. Identificação da dissimilaridade genética entre genótipos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo preto. **Revista Brasileira de Agrociência.** v.8, n.3, p.179-184. 2002.

BLAIR, M. W.; IRIARTE, G.; BEEBE, S. QTL analysis of yield traits in an advanced backcross population derived from a cultivated Andean x wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. **Theoretical and Applied Genetics.** v.112, p.1149-1163. 2006.

BLAIR, M. W.; GALEANO, C. H.; TOVAR, E.; TORRES, M. C. M.; CASTRLLÓN, A. V.; BEEBE, S. E.; RAO, I. M. Development of a Mesoamerican intra-gene pool genetic map for quantitative trait loci detection in a drought tolerant x susceptible common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. **Molecular Breeding**. v.29, p.71-88. 2012.

BLAIR, M. W.; PEDRAZA, F.; BUENDIA, H. F.; SOLÍS, E. G.; BEEBE, S. E.; GEPTS, P.; THOME, J. Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**. v.107, p.1362-1374. 2003.

BRIM, C. A. A modified pedigree method of selection in soybeans. **Crop Science**. v.6, p.220. 1966.

BROUGHTON, W. J.;HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDERLEYNDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. **Plant and Soil**. v.252, p.55–128. 2003.

CABRAL, P. D. S.; SOARES, T. C. B.; LIMA, A. B. P.; ALVES, D. S.; NUNES, J. A. Diversidade genética de acessos de feijão-comum por caracteres agronômicos. **Ciências Agronômicas**. v.42, n.4, p.898-905. 2011.

CAIXETA, E. T. **Caracterização da resistência genética à mancha-angular e desenvolvimento de marcadores microssatélites para regiões específicas do genoma do feijoeiro**. Viçosa, MG: UFV, 68p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, 2002.

CARVALHO, G. A.; PAULA JÚNIOR, T. J.; ALZATE-MARIN, A. L.; NIETSCHKE, S.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Herança da resistência da linhagem AND 277 de feijoeiro comum à raça 63-23 de *Phaeoisariopsis griseola* e identificação de marcador RAPD ligado ao gene de resistência. **Fitopatologia Brasileira**. v. 23, n.4, p.482-485. 1998.

CELIN, E. F. **Caracterização morfoagronômica de acessos do banco ativo de germoplasma de feijão da UFV**. Viçosa, MG: UFV, 42p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, 2011.

COLLARD, B. C. Y.; JAHUFER, M. Z. Z.; BROUWER, J. B.; PANG, E. C. K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. **Euphytica**. v.142, p.169-196. 2005.

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.

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_08\\_09\\_10\\_43\\_44\\_boletim\\_portugues\\_agosto\\_2013\\_port.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_08_09_10_43_44_boletim_portugues_agosto_2013_port.pdf). Acessado em: 02 de julho de 2013.

CORRÊA, A. M.; GONÇALVES, M. C. Diversidade genética em genótipos feijão-comum cultivados em Mato Grosso do Sul. **Ceres**. v.59, n.2, p.206-212. 2012.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicado ao melhoramento genético**. Viçosa: editora UFV. 4.ed. v.1, 514 p. 2012.

CRUZ, C. D.; SILVA, L. C. Análise de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (Eds.). **Marcadores moleculares**. Viçosa: editora UFV. v.2, p.307-374. 2006.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicado ao melhoramento genético**. Viçosa: editora UFV. 2.ed. v.2, 585 p. 2006.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, p.271-276. 2013.

ELIAS, H. T.; VIDIGAL, M. C. G.; GONELA, A.; VOGT, G. A. Variabilidade genética em germoplasma tradicional de feijão preto em Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.42, n.10, p.1443-1449. 2007.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa: editora UFV. 279p. 1987.

FALEIRO F. G.; SCHUSTER, I.; RAGAGNIN, V. A.; CRUZ, C. D.; CORRÊA, R. X., MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Caracterização de linhagens endogâmicas recombinantes e mapeamento de locos de características quantitativas associados ao ciclo e produtividade do feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. v.38, n.12, p.1387-1397. 2003.

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

FILHO, A. C.; RIBEIRO, N. D.; REIS, R. C. P.; SOUZA, J. R.; JOST, E. Comparação de métodos de agrupamento para o estudo da divergência genética em cultivares de feijão. **Ciência Rural**. v.38, n.8, p.2138-2145. 2008.

GALEANO, C. H.; FERNÁNDEZ, A. C.; GÓMEZ, M.; BLAIR, M. W. Single strand conformation polymorphism based SNP and indel markers for genetic mapping and synteny analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BioMed Central**. v.10, p.629. 2009.

GEPTS. P.; ARAGÃO, F. J. L.; BARROS, E.; BLAIR, M. W.; BRONDANI, R.; BROUGHTON, W.; GALASSO, I.; HERNÁNDEZ, G.; KAMI, J.; LARIGUET, P.; McCLEAN, P.; MELOTTO, M.; MIKLAS, P.; PAULS, P.; HARAND, A. P.; PORCH, T.; SÁNCHEZ, F.; SPARVOLI, F.; YU, K. Genomics of *Phaseolus* beans, a major source of dietary protein and micronutrients in the tropics. In: MOORE, P. H.; MING, R. (Eds.). **Genomics of Tropical Crop Plants**. Springer. 2008.

GEPTS, P.; NODARI, R.; TSAI, R.; KOINANGE, E. M. K.; LLACA, V.; GILBERTSON, R.; GUZMÁN, P. Linkage mapping in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. v.36, p.24-38. 1993.

JOHNSON, C. W.; GEPTS, P. The Role of epistasis in controlling seed yield and other agronomic traits in an Andean x Mesoamerican cross of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**. v.125, p.69-79. 2002.

JOHNSON, W.; GEPTS, P. Segregation for performance in recombinant inbred populations resulting from inter-gene pool crosses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**. v.106, n.1, p.45-56. 1999.

KOINANGE, E. M. K.; GEPTS, P. Hybrid weakness in wild *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Heredity**. v.83, p.135-139. 1992.

KRAUSE, W.; RODRUGUES, R.; GONÇALVES, L. S. A.; NETO, F. V. B.; LEAL, N. R. Genetic divergence in snap bean based on agronomic traits and resistance to bacterial wilt. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v.9, p.246-252. 2009.

LAMPRECHT, H. Weitere kopplungsstudien na *Phaseolus vulgaris* mitt einer über die koppelungsgruppens. **Agri Hortique Genetica**. v.9, p.319-332. 1961.

LIMA, M. S. **Caracterização morfoagronômicas, culinárias e de raízes de genótipos do banco de germoplasma de feijão da UFV**. Viçosa, MG: UFV, 62p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, 2010.

MACKILL, D. J.; BONMAN, J. M. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. **Phytopathology**. v.82, p.746-749. 1992.

MAPA. **Descritores mínimos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/protecao-cultivares/formularios-protecao-cultivares>. Acesso em 15 de agosto de 2012.



MARTIN, G. B.; WILLIAMS, J. G. K.; TANKSLEY, S. D. Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. **Genetics**. v.88, p.2336-2340. 1991.

MOURA, M. M.; CARNEIRO, P. C. S.; CARNEIRO, J. E. S.; CURZ, C. D. Potencial de caracteres na avaliação da arquitetura de plantas de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.48, n.4, p.417-425. 2013.

NODARI, R. O.; TSAI, S. M.; GUZMÁN, P.; GILBERTSON, R. L.; GEPTS, P. Towards an integrated linkage map of common bean: Mapping genetic factors controlling host–bacteria interactions. **Genetics**. v.134, p.341–350. 1993.

NODARI, R. O.; TSAI, S. M.; GILBERTSON, R. L.; GEPTS, P. Towards an integrated linkage map of common bean. II. Development of an RFLP-based linkage map. **Theoretical and Applied Genetics**. v.85, p.513-520. 1993.

OLIVEIRA, A. C. **Estratégias de seleção visando melhoramento da arquitetura do feijoeiro**. Viçosa, MG: UFV, 56p. Tese (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, 2012.

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**. CIAT, Cali, p.240-250. (Doc. de Trabajo, 113). 1992.

PATERSON, A. H. Making genetic maps. In: PATERSON, A. H. (Ed.). **Genome Mapping in Plants**. R. G. Landes Company, San Diego, California. Academic Press, Austin, Texas. p.23-39. 1996.

PEREIRA, A. C.; CELIN, E. F.; REZENDE, L. L. S.; CARNEIRO, V. Q.; LEHNER, M. S.; PAULA JÚNIOR, T. J.; CARNEIRO, P. C. S.; CARNEIRO, J. E. S. Alternative method for inoculation of *Colletotrichum Lindemuthianun* on common

beans. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. v.55, p.139-140. 2012.

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

RAGAGNIN, V. A.; ALZATE-MARIN, A. L.; SOUZA, T. L. P. O.; SANGLARD, D. A.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Use of molecular markers to pyramiding multiple genes for resistance to rust, anthracnose and angular leaf spot in the common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. v.48, p.94-95. 2005.

RAGAGNIN, V. A.; SOUZA, T. L. P. O.; SANGLARD, D. A.; ARRUDA, K. M. A.; COSTA, M. R.; ALZATE-MARIN, A. L.; CARNEIRO, J. E. S.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Development and agronomic performance of common bean lines simultaneously resistant to anthracnose, angular leaf spot and rust. **Plant Breeding**. v.28, p.156-163. 2009.

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 ao *Colletotrichum lindemuthianum*, *Uromyces appendiculatus* e *Phaeoisariopsis griseola*. **Fitopatologia Brasileira**. v.28, p.591-596. 2003.

RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. **Experimentação em Genética e Melhoramento de Plantas**. Lavras: editora UFLA. 3ed. 305 p. 2012a.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P.; SOUZA, E. A.; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. **Genética na Agropecuária**. Lavras: editora UFLA. 5ed. 565p. 2012b.

RAO, R.C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley. 390p. 1952.

RIBERIO, E. H.; PEREIRA, M. G.; COELHO, K. S.; JÚNIOR, S. P. F. Estimativas de parâmetros genéticos e seleção de linhagens endogâmicas recombinantes de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ceres**. v.56, n.5, p.580-590. 2009.

RIBERIO, N. D.; HOFFMANN JUNIOR, L.; POSSEBONS, B. Variabilidade genética para ciclo em feijão dos grupos preto e carioca. **Revista Brasileira Agrociência**. v.10, n.1, p.19-29. 2004.

ROCHA, G. S. **Causas de correlação entre caracteres e efeito de ambientes na predição do potencial de populações segregantes no melhoramento do feijoeiro**. Viçosa, MG: UFV, 90p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, 2012.

SANGLARD, D. A. **Melhoramento do feijoeiro para resistência à Mancha-angular: validação de marcadores moleculares SCAR, piramidação de genes, testes de alelismo e caracterização de linhagens elite**. Viçosa, MG: UFV, 109p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, 2010.

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

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**. v.30, n.3, p.507-512. 1974.

SEMAGN, K.; BJORNSTAD, A.; NDJIONDJOP, M. N. Principles, requirements and prospects of genetic mapping in plants. **African Journal of Biotechnology**. v.5, p.2569-2587. 2006.

SCHUSTER, I.; CRUZ, C. D. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados**. Viçosa: UFV. 568 p. 2004.

SILVA, L. C.; CRUZ, C. D.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Simulation of population size and genome saturation level for genetic mapping of recombinant inbred lines (RILs). **Genetics and Molecular Biology**. v.30, p.1101-1108. 2007.

SILVA, V. M. P. **Melhoramento genético do porte do feijoeiro**. Viçosa, MG: UFV, 60p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, 2011.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**. v.41, p.237-245. 1981.

SINGH, S.; MOLINA, A. Inheritance of crippled trifoliolate leaves occurring in interracial crosses of common bean and its relationship with hybrid dwarfism. **Journal of Heredity**. v.87, p.464-469. 1996.

TAR'AN, B.; MICHAELE, T. E.; PAULS, K. P. Genetic mapping of agronomic traits in common bean. **Crop Science**. v.42, p.544-556. 2002.

VALLEJOS, E. C.; SAKIYAMA, N. S.; CHASE, C. D. A molecular marker based linkage map of *Phaseolus vulgaris* L. **Genetics**. 131 : 733-740. 1992.

VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão**. Viçosa: editora UFV. 2.ed. 600p. 2006.

VOYSEST, O. V. **Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): legado de variedades de América Latina 1930-1999**. Cali, Colombia, CIAT. 195 p. 2000.