



LAÍS ANDRADE PEREIRA

**ESTRATÉGIAS DE CONDUÇÃO DE POPULAÇÕES SEGREGANTES
UTILIZANDO O MÉTODO BULK/F₂ OU S₀**

LAVRAS – MG

2018

LAÍS ANDRADE PEREIRA

**ESTRATÉGIAS DE CONDUÇÃO DE POPULAÇÕES SEGREGANTES
UTILIZANDO O MÉTODO BULK/F₂ OU S₀**

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

Orientador

Dr. Magno Antonio Patto Ramalho

LAVRAS – MG

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Pereira, Laís Andrade.

Estratégias de condução de populações segregantes utilizando o método BULK/F₂ ou S₀ : Estratégias de condução / Laís Andrade

Pereira. - 2018.

118 p.

Orientador(a): Magno Antonio Patto Ramalho.

.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Melhoramento Genético Vegetal. 2. Genética Quantitativa.
3. Phaseolus vulgaris. I. Ramalho, Magno Antonio Patto. . II. Título.

LAÍS ANDRADE PEREIRA

**ESTRATÉGIAS DE CONDUÇÃO DE POPULAÇÕES SEGREGANTES
UTILIZANDO O MÉTODO BULK/F₂ OU S₀**

**SEGREGATING POPULATION CONDUCTION STRATEGIES WHEN APPLYING
THE BULK/F₂ OR S₀ METHOD**

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

APROVADA em 18 de janeiro de 2018

Dra. Ângela de Fatima Barbosa Abreu	EMBRAPA
Dr. Adriano Teodoro Bruzi	UFLA
Dr. Édila Vilela de Resende Von Pinho	UFLA
Dr. José Eustáquio de Souza Carneiro	UFV

Magno Antonio Patto Ramalho
Orientador

LAVRAS – MG

2018

A Deus, que guia meus passos.

OFEREÇO

Para meus pais e irmãs, com amor.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre guiar e iluminar meu caminho.

Aos meus pais, Cláudio e Fábiana pelo apoio, incentivo e compreensão. Por não medirem esforços. Por serem os melhores sempre. Por me impulsionarem a batalhar pelo sucesso. E, sobretudo, por terem me ensinado a amar “do fundo do coração”.

Às minhas irmãs, Camila e Paula, por todo amor, amizade e paciência. Por conseguirem me fazer sentir mais leve nos momentos difíceis dessa jornada. Por estarmos sempre juntas! Cacá e Daniel, obrigada pelas férias de todos os anos em Brasília e Cristalina. Foram momentos de diversão e descanso essenciais. Amo muito vocês!

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade e incentivo.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Professor Magno A. P. Ramalho por ser, acima de tudo, uma inspiração. Por ser orientador e exemplo de profissional. Agradeço pela oportunidade, confiança, ensinamentos, conselhos e disponibilidade. Será sempre uma honra ter sido sua orientada.

À Dr^a. Ângela F. B. Abreu pela amizade, carinho e ajuda constantes. Pela sabedoria com que acalma e aconselha. Por não ter me abandonado nem no momento em que o meu experimento chegou à letra ‘Z’.

À Professora Édila V. R. Von Pinho por ter sido minha primeira orientadora. Pelo incentivo inicial, confiança, ensinamentos, amizade e disponibilidade. Por acompanhar minha trajetória.

Aos professores da Pós- Graduação por todo conhecimento e experiência transmitidos.

À equipe dos laboratórios do DBI, em especial, Lamartine, Miller, Paula e Larissa, pela paciência e ajuda.

Aos colegas e amigos do GEN por tornarem a rotina mais agradável.

Ao Getúlio e Matheus por me ajudarem a realizar a simulação computacional.

Aos amigos do feijão pelo trabalho em equipe, pelos incontáveis casos e risadas.

Às amigas queridas, Bruna, Cinthia, Jéssica, Marcela, Narjara, Scheila e Iolanda, pela amizade e carinho! O apoio de vocês continuará sendo fundamental.

Aos funcionários Léo, Zé Carlinho, Lindolfo, Zélia, Rafaela, Lilian, Dona Iron, por estarem sempre dispostos a ajudar.

À CAPES pela concessão da bolsa no exterior. À Purdue University e Dra. Katherine Martin Rainey pela oportunidade e experiência! Agradeço também ao Magno, Ângela, Scheila e amigos do feijão que cuidaram dos meus experimentos enquanto estive nos Estados Unidos. Sem vocês, essa experiência não teria sido possível.

A todos que fizeram parte dessa conquista, muito obrigada!

“ You can’t swim the same river twice”

“Everything flows”

Heraclitus

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	17
1 INTRODUÇÃO GERAL	17
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1 Métodos de condução das populações segregantes em plantas autógamas	19
2.2 O efeito da endogamia em populações segregantes.....	22
2.3 Simulação computacional no melhoramento de plantas	23
2.4 Multilinhas	25
2.5 Mancha Angular do feijoeiro	27
2.6 Antracnose do feijoeiro.....	30
REFERÊNCIAS	33
CAPÍTULO 2 IMPLICAÇÕES DA VARIÂNCIA GENÉTICA ENTRE E DENTRO DE PROGÊNIES COM O DECORRER DA ENDOGAMIA NA CONDUÇÃO DAS POPULAÇÕES SEGREGANTES EM PLANTAS AUTÓGAMAS	41
1 INTRODUÇÃO.....	44
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	55
CAPÍTULO 3 VARIABILIDADE PARA RESISTÊNCIA AOS PATÓGENOS CAUSADORES DA MANCHA ANGULAR (<i>Pseudocercospora griseola</i>) E ANTRACNOSE (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) DO FEIJOEIRO, ENTRE E DENTRO DE PROGÊNIES COM DIFERENTES NÍVEIS DE ENDOGAMIA.....	57
1 INTRODUÇÃO.....	60
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	61
2.1 Obtenção e condução das famílias e progênies.....	61
2.2 Obtenção do inóculo e preparo da suspensão de <i>P.griseola</i>	63

	10
2.3 Obtenção do inóculo e preparo da suspensão de <i>C. lindemuthianum</i>	63
2.4 Detalhes experimentais	63
2.5 Análises dos dados	65
3 RESULTADOS	66
4 DISCUSSÃO	72
5 CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS	76
CAPÍTULO 4ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E FENOTÍPICOS ENTRE E DENTRO DE PROGÊNIES COM DIFERENTES NÍVEIS DE ENDOGAMIA E ESTRUTURA GENÉTICA NO FEIJOEIRO.	
	79
1 INTRODUÇÃO.....	82
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	83
2.1 Local	83
2.3 Análises estatísticas e obtenção de estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos...	88
3 RESULTADOS	90
3.1 Avaliação das progênies do programa de Seleção Recorrente (SR).....	91
3.2 Avaliação das progênies do cruzamento biparental Pérola x Madrepérola (CB)	98
4 DISCUSSÃO.....	105
5 CONCLUSÕES.....	112
REFERÊNCIAS	113

RESUMO

Nos programas de melhoramento genético do feijoeiro e de outras espécies autógamas cultivadas no Brasil, o método do Bulk dentro de progênies F_2 ou S_0 (Bulk/ F_2) é amplamente utilizado. Embora o método tenha sido proposto há mais de sessenta anos, muito pouco tem sido discutido da sua base teórica, sobretudo a respeito do que ocorre em termo de frequência das diferentes combinações genotípicas, de variância genética e do efeito da seleção natural dentro das progênies ao longo das gerações de endogamia. Para responder inúmeras questões ainda pendentes com esse método, foi realizado o presente trabalho com os seguintes objetivos: utilizar os princípios Mendelianos, considerando um grande número de genes segregando, durante algumas gerações, para obter informações que possam auxiliar na racionalização da condução dos programas de seleção de plantas autógamas, por meio de simulação computacional. Verificar se existe variabilidade entre as plantas S_0 , e dentro das progênies dessas plantas com relação à resistência a *Pseudocercospora griseola* e *Colletotrichum lindemuthianum*; inferir se as plantas S_0 eram, ou não, heterozigotas para os possíveis locos de resistência aos dois patógenos; e verificar se a frequência das plantas resistentes varia em função do momento da abertura do bulk. Avaliar se a variação liberada dentro das progênies conduzidas pelo método do bulk/ F_2 ou S_0 é a mesma da que ocorre entre progênies; e verificar se a seleção natural atua para o caráter produtividade de grãos durante o avanço das gerações de endogamia. Para atingir esses objetivos foram conduzidos três atividades de pesquisa: a) Emprego da simulação para o entendimento do que ocorre entre e dentro das progênies em termos de frequência de locos em heterozigose ou homozigose e da variância genética. Para isso simulou-se um cruzamento bi-parental obtendo-se 2000 indivíduos na geração F_2 . A partir desses indivíduos foram obtidas 150 progênies $F_{2:3}$ com 100 indivíduos em cada. Foram realizadas 1000 simulações nas gerações F_2 , $F_{2:3}$, $F_{2:5}$ e $F_{2:8}$ considerando dois tipos de interação alélica: aditiva e dominância completa. A partir dessas simulações obteve-se a porcentagem de locos em homozigose e heterozigose, assim como a amplitude desse valores, considerando 10, 50, 100 e 200 locos para a população F_2 e 10, 50 e 100 locos para as progênies segregantes. b) Avaliar a existência de variação entre e dentro de progênies da seleção recorrente (SR) com relação à resistência à *P. griseola*, causador da mancha angular (MA) e *C. lindemuthianum* responsável pela antracnose (AT). Foram utilizadas progênies do décimo quarto ciclo (C.XIV) da SR. De cada uma das dez progênies $S_{0:2}$ identificadas como mais produtivas na geração $S_{0:1}$, foram colhidas dez plantas, progênies $S_{2:3}$, cujas sementes foram armazenadas em câmara fria. O restante das plantas continuaram sendo avançadas até $S_{0:5}$, quando foi aplicado o mesmo

procedimento anterior, sendo obtidas progênies $S_{5:6}$. As 100 progênies $S_{2:3}$ e as 100 $S_{5:6}$ foram multiplicadas por sucessivas gerações sendo obtidas progênies $S_{2:6}$ e $S_{5:8}$. Em experimentos separados para cada patógeno, os descendentes dessas progênies foram avaliados. As plântulas foram inoculadas com o isolado da raça 63-63 de *P. griseola* e da raça 65 de *C. lindemuthianum*. A partir das notas obtidas foram realizadas as análises de variância e estimados os parâmetros genotípicos e fenotípicos. c) Estimação de parâmetros genéticos e fenotípicos entre e dentro de progênies com diferentes níveis de endogamia e estrutura genética das populações para a produtividade de grãos no feijoeiro. Para isso foram utilizadas duas populações distintas, a primeira oriunda do décimo quarto ciclo do programa de seleção recorrente (SR) da UFLA (C.XIV), a segunda obtida a partir do cruzamento entre as linhagens Pérola e Madrepérola. Os procedimentos descritos para o experimento (b) foram aplicados também para a população biparental. Tendo como referência as três atividades, concluiu-se que: Como era esperado, a simulação computacional evidenciou com “n” genes o que ocorre quando se considera um gene. Cada planta F_2 tem, em média, a mesma frequência de locos em homozigose e heterozigose que é esperada entre as plantas da população F_2 . A amplitude de variação entre o esperado e o observado reduz com o aumento do número de genes. Desta forma, a variabilidade liberada entre os descendentes de uma planta F_2 é semelhante à existente entre plantas da população F_2 . Com um grande número de locos é impossível ter todos os genótipos esperados na descendência. Desse modo, fica evidente que a população F_2 não precisa ser muito grande, pois acima de 20 locos segregando, por exemplo, o número de indivíduos que deve ser manuseado é fora das possibilidades de qualquer programa de melhoramento. Depreende-se que quando se utiliza o método bulk dentro de F_2 , no final do processo, isto é, quando a frequência de locos em heterozigose tende para zero, tem-se uma mistura de linhagens com a mesma variabilidade da existente entre progênies e que foi explorada com a seleção. Desse modo, cabe ao melhorista decidir entre selecionar linhas puras dentro das progênies, ou se selecionar somente entre as progênies optando por uma mistura de linhas puras. Constatou-se que as progênies de SR da UFLA, C.XIV, têm variabilidade com relação à resistência aos dois patógenos avaliados, *P. griseola* e *C. lindemuthianum*. Essa variabilidade é detectada tanto entre plantas da população como entre descendentes de algumas plantas S_0 , indicando que estas provavelmente eram heterozigóticas. A frequência de progênies/plantas resistentes aos dois patógenos na população é alta, mesmo a seleção não tendo sido realizada especificamente para esses patógenos nos ciclos anteriores. O momento de abertura do bulk não altera expressivamente o resultado da severidade de ocorrência dos dois patógenos. Constatou-se que uma baixa precisão experimental associada a uma amostragem deficiente não possibilita obter estimativas da

variabilidade genética entre e dentro das progênies como é, teroricamente, esperado no método do bulk/F₂ ou S₀. Todavia, o fato da população segregante ter frequência alélica igual ou diferente de 0.5 não afeta o que se espera com a variação entre e dentro de progênies utilizando o método do bulk/F₂ ou S₀. Em princípio, mesmo com apenas duas ou três gerações de diferença, tem-se evidências que a seleção natural atuou no sentido de manter as plantas/progênies com maior produtividade de grãos. Quando se usa o método do bulk/F₂ ou S₀ para caracteres controlados por muitos genes, no final do processo, pode-se optar por selecionar linhas puras dentro das melhores progênies F₂ ou S₀ ou, usar a mistura das linhas como se fossem uma multilinha.

Palavras-chave: Melhoramento Genético Vegetal; Genética Quantitativa; *Phaseolus vulgaris*

ABSTRACT

In the breeding programs of bean and other autogamous species cultivated in Brazil, the Bulk method within F_2 or S_0 progenies (Bulk/ F_2) is widely used. Although the method has been proposed more than sixty years ago, very little has been discussed about its theoretical basis, especially regarding what occurs in frequency terms of the different genotypic combinations, genetic variance and the effect of natural selection within progenies along with generations of inbreeding. To answer many questions still pending with this method, the present work was carried out with the following objectives: to apply the Mendelian principles, using the bulk/ F_2 method, considering a large number of segregating genes, for some generations, to obtain information that can help in the autogamous plant selection programs; to verify if there is variability among S_0 plants, and within the progenies of these plants with when evaluating the resistance to *P. griseola* and *C. lindemuthianum*, to infer if the S_0 plants were or not heterozygous for the possible resistance to the two pathogens; and to verify if the resistant plants frequency varies as a function of the moment of bulk opening; was to show that the variation released within the progenies conducted by the bulk / F_2 or S_0 method is the same as that occurring among progenies, and to verify whether natural selection acts at grain yield as endogamy goes in the dry bean crop. To achieve these objectives, three research activities were carried out: a) Use of the simulation to understand what occurs between and within the progenies in terms of the frequency of loci in heterozygosis or homozygosis and genetic variance. A bi-parental crossing was made, obtaining 2000 individuals in the F_2 generation. From these individuals, 150 $F_{2:3}$ progenies with 100 individuals were obtained. A thousand simulations were performed in the F_2 , $F_{2:3}$, $F_{2:5}$ and $F_{2:8}$ generations considering two types of allele interaction: additive and complete dominance. From these simulations, the percentage of loci in homozygous and heterozygosis, as well as the amplitude of these values, considering 10, 50, 100 and 200 loci for the F_2 population and 10, 50 and 100 loci for the segregating progenies were obtained. b) Evaluate the existence of variation between and within SR progenies with respect to resistance to *Pseudocercospora griseola*, which causes angular leaf spot (ALS) and *Colletotrichum lindemuthianum* responsible for anthracnose (AT). Progenies from the fourteenth cycle (C.XIV) of RS were used. From each of the ten $S_{0:2}$ progenies identified as most productive in the $S_{0:1}$ generation, ten plants were harvested individually, progenies $S_{2:3}$, and stored in a cold chamber. The remaining plants continued to be advanced to $S_{0:5}$, when the same procedure was applied, and $S_{5:6}$ progenies were obtained. The 100 $S_{2:3}$ progenies and the 100 $S_{5:6}$ progenies were multiplied by successive generations and $S_{2:6}$ and $S_{5:8}$ progenies were

obtained. In separate experiments for each pathogen, the offspring of these progenies were evaluated. The seedlings were inoculated with the isolate of the race 63-63 of *P. griseola* and of the race 65 of *C. lindemuthianum*. c) Estimation of genetic and phenotypic parameters among and within progenies with different levels of inbreeding and genetic structure of populations for grain yield in common bean. For this, two distinct populations were used, the first one from the fourteenth cycle of the UFLA (C.XIV) recurrent selection program, the second obtained from the crossbreeding between the Pérola and Madrepérola lines. The procedures described for experiment (b) were also applied to the biparental population. With reference to the three activities, it was concluded that: As expected, computational simulation demonstrated with "n" genes what happens when a gene is considered. Each F₂ plant has, on average, the same frequency of loci in homozygosis and heterozygosis that is expected between plants of the F₂ population. The amplitude of variation between the expected and the observed reduces with the number of genes increase. Thus, the variability released among the offspring of an F₂ plant is similar to that between plants of the F₂ population. With a large number of loci it is impossible to have all the expected genotypes in the offspring. Thus, it is evident that the F₂ population don't need to be very large, since over 20 loci segregating, for example, the number of individuals that must be handled is out of the possibilities of any breeding program. It is understood that when using the bulk within F₂ method, at the end of the process, that is, when the frequency of loci in heterozygosity tends to zero, there is a mixture of lines with the same variability of the existing progenies has been explored with the selection. Thus, it is up to the breeder to decide between selecting pure lines within the progenies, or selecting only progenies by choosing a mixture of pure lines. It was found that the UFLA's RS progenies, C.XIV, have variability with regarding the resistance to the two evaluated pathogens, *P. griseola* and *C. lindemuthianum*. This variability is detected both among plants within populations and among descendants of some S₀ plants, indicating that they were probably heterozygous. The frequency of progenies / plants resistant to both pathogens in the population is high, even though the selection was not performed specifically for these pathogens in previous cycles. The opening moment of the bulk does not significantly affect the occurrence severity of the two pathogens. It was found that a low experimental precision associated with a poor sampling does not make it possible to obtain estimates of the genetic variability among and within the progenies as it is terorically expected in the bulk / F₂ or S₀ method. However, the fact that the segregating population has allelic frequency equal to or different from 0.5 does not affect what is expected with variation among and within progenies using the bulk / F₂ or S₀ method. In principle, even

with only two or three generations of difference, there is evidence that natural selection acted to maintain the plants/progenies with higher grain yield.

Key-words: Plant Breeding; Quantitative Genetics; *Phaseolus vulgaris*

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

As contribuições do melhoramento genético no Brasil em várias culturas, entre elas o feijoeiro, já foi realçada em algumas situações (VENCOVSKY; RAMALHO, 2006; RAMALHO; DIAS; CARVALHO, 2012; FARIA et al., 2017). O sucesso desses programas é resultado de boas estratégias de melhoramento, sobretudo no que diz respeito ao método de condução escolhido, ao número de progênies/linhagens avaliadas e intercruzadas e à seleção da melhor linhagem ao final do processo.

Descrições dos métodos de condução das populações segregantes em plantas autógamas são freqüentes na literatura (FEHR, 1987; ALLARD, 1999; BORÉM; MIRANDA, 2017). Dentre esses métodos, para o feijoeiro, destacam-se o bulk e o bulk dentro de progênies F_2 . Este último, proposto por Frey (1954) é empregado em alguns programas de melhoramento no Brasil, entre eles o da Universidade Federal de Lavras (UFLA) desde a década de setenta do século passado. Esse método tem como princípio a seleção/ colheita de plantas individuais na geração F_2 ou S_0 , e cada planta origina uma progênie $F_{2:3}$ ou $F_{3:4}$. Essas progênies são semeadas individualmente e posteriormente colhidas em bulk. Nas gerações seguintes repete-se o processo até atingir o nível de endogamia almejado. Esse método foi proposto visando a redução do efeito de amostragem que ocorre no bulk. Esse efeito é tanto menor quanto maior for o número de indivíduos dentro das progênies. Na UFLA esse método é utilizado desde o início da década de setenta do século passado de modo diferente do proposto originalmente. Ou seja, as progênies conduzidas em bulk são avaliadas em experimentos com repetições desde a primeira geração, isto é, $F_{2:3}$ ou $S_{0:1}$

Embora já muito utilizado, pouco tem sido discutido da sua base teórica. Sabe-se que com o avanço das gerações de endogamia a heterozigose nas plantas dentro de cada progênie reduz. Após $F_{2:8}$, por exemplo, as plantas dentro das progênies já devem possuir a maioria dos seus locos em homozigose. Todavia, ainda há dúvida se o que se espera com um loco segregando possa ser extrapolado para um maior número de locos. Adicionalmente, qual deve ser a estratégia utilizada no final do processo? Abrir os diferentes bulk's para obter linhas puras, ou manter a progênie como sendo uma mistura de linhagens? Na UFLA essa última alternativa é a que tem sido empregada.

Ainda outra dúvida é se as informações teóricas obtidas por meio de simulação podem ser extrapoladas para o que é obtido em condições de campo. Por exemplo, utilizando um

caráter como a produtividade de grãos, que é controlado, certamente, por muitos genes e é muito influenciado pelo ambiente. Essa informação pode ser generalizada para populações com qualquer estrutura genética, isto é, cruzamento biparental ou seleção recorrente (SR)? Comentários a esse respeito não foram encontrados na literatura.

Como as n progênies são conduzidas em bulk's, uma outra indagação é se a seleção natural atua sobre caracteres como resistência a patógenos e produtividade de grãos. Como ocorre no bulk tradicional e já foi comprovado em algumas situações (ALLARD, 1988; GONÇALVES et al., 2001; SILVA et al., 2004).

No programa de seleção recorrente (SR) da UFLA a seleção tem como ênfase, a produtividade e tipo de grãos. Seria importante verificar o que ocorre com relação a variabilidade para resistência aos patógenos mais importantes para a cultura na região, *Colletotrichum lindemuthianum* causador da antracnose e *Pseudocercospora griseola* responsável pela mancha angular, além do que ocorre quanto à produtividade de grãos. Pois, certamente, deve ocorrer variação nas progênies que são recombinadas nos diferentes ciclos.

A partir, principalmente, desses questionamentos, foi realizado o presente trabalho com os seguintes objetivos: utilizar os princípios Mendelianos, considerando um grande número de genes segregando, durante algumas gerações, para obter informações que possam auxiliar na racionalização da condução dos programas de seleção de plantas autógamas, por meio de simulação computacional. Verificar se existe variabilidade entre as plantas S_0 , e dentro das progênies dessas plantas com relação à resistência a *P. griseola* e *C. lindemuthianum*; inferir se as plantas S_0 eram, ou não, heterozigotas para os possíveis locos de resistência aos dois patógenos; e verificar se a frequência das plantas resistentes varia em função do momento da abertura do bulk. Avaliar se a variação liberada dentro das progênies conduzidas pelo método do bulk/ F_2 ou S_0 é a mesma da que ocorre entre progênies; e verificar se a seleção natural atua sobre o caráter produtividade de grãos durante o avanço das gerações de endogamia.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Métodos de condução das populações segregantes em plantas autógamas

Descrição dos métodos de condução das populações segregantes em plantas autógamas é freqüente na literatura (FEHR, 1987; ALLARD, 1999; BORÉM; MIRANDA, 2017). Esses métodos são agrupados em duas categorias, aqueles que praticam a seleção simultaneamente com o avanço das gerações, ou seja, os métodos genealógico e massal. E aqueles em que a seleção só é iniciada após algumas gerações de endogamia. Aqui estão os métodos bulk, bulk dentro de progênies e o single seed descendent (SSD). No momento o que se pretende é dar ênfase ao método do bulk dentro de progênies.

Esse método foi proposto inicialmente por Frey (1954). Sua forma original previa o início da seleção após algumas gerações de endogamia. O método tem como princípio a seleção/colheita de plantas individuais nas gerações F_2 ou F_3 , e cada planta origina uma progênie $F_{2:3}$ ou $F_{3:4}$. Essas progênies são semeadas individualmente e posteriormente colhidas em bulk. Na geração seguinte, $F_{2:4}$ ou $F_{3:5}$, adota-se o mesmo procedimento. Repete-se a operação por quatro a cinco gerações de endogamia. Esse método foi proposto visando a redução no efeito de amostragem que ocorre no bulk. Esse efeito é tanto menor quanto maior for o número de indivíduos dentro das progênies.

Na Universidade Federal de Lavras, esse procedimento é utilizado desde a década de setenta do século passado. Contudo, as progênies são avaliadas em experimentos com repetição desde a geração $F_{2:3}$. Assim, quando se atinge a homozigose as progênies já foram muito avaliadas. No início do processo a seleção é feita de maneira mais branda, devido à menor precisão experimental. No final a intensidade de seleção pode ser maior já que é possível realizar avaliações com parcelas maiores em diferentes locais, pois a quantidade de sementes produzidas é suficiente para conduzir vários experimentos (RAMALHO et al., 2012). No entanto, por realizar avaliações em todas as etapas é um método considerado mais trabalhoso (RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2001).

Um aspecto importante no método do bulk dentro de progênies F_2 ou F_3 é o possível efeito da seleção natural durante as gerações de endogamia. Não foi encontrado na literatura nenhum relato a esse respeito. Os trabalhos existentes foram realizados com o método do bulk, nesse caso evidentemente envolvendo todas as plantas da população. A pesquisa de maior duração a esse respeito foi realizado com cevada (ALLARD, 1988). O experimento iniciou em 1929 com um composto proveniente de um dialelo entre 28 cultivares, obtendo 387 híbridos

F₁, que foram misturados. A cada geração eram colhidas aproximadamente 400.000 sementes, sendo uma parte armazenada e a outra parte, com aproximadamente 15000 sementes, misturada para semeadura do ciclo seguinte. Foram avaliadas mais de 50 gerações e seus efeitos para vários caracteres foram comparados com uma cultivar testemunha. Entre os caracteres quantitativos, maior ênfase foi dada à produtividade de grãos. Nesse caso, por ação da seleção natural, o incremento na produtividade foi de, aproximadamente, 1% a 2% por geração. Ou seja, ganho comparável ao obtido com seleção artificial. O autor salientou que a seleção natural atuou preferencialmente sobre indivíduos com maior estabilidade de produção, isto é, aqueles indivíduos que mantiveram produtividade tanto em condições favoráveis quanto em condições menos favoráveis. Foram realizados também estudos com marcadores moleculares, isoenzimas, para acompanhar as trocas nesses marcadores com a ação da seleção natural. Em síntese, os estudos das mudanças nas frequências alélicas mostraram que a maioria dos locos esteve sob ação da seleção natural.

A ação da seleção natural em feijão vem sendo avaliada já há algum tempo. Em trabalho realizado por Hamblin (1977), envolvendo quatro populações segregantes avaliadas nas gerações F₂ a F₆, ocorreu aumento expressivo na produtividade de grãos nas populações segregantes com menor média. Segundo o autor isso ocorreu porque nas populações menos produtivas ocorreram indivíduos menos adaptados e a seleção natural pôde atuar com maior intensidade.

Em trabalho realizado na Universidade Federal de Lavras, avaliou-se a ação da seleção natural na produção de feijão (CORTE et al., 2002). Seis populações segregantes, a partir da geração F₂, foram avaliadas em experimentos com repetição, juntamente com os cinco genitores. A cada geração parte das sementes era armazenada e com o restante repetia-se a avaliação em três locais. Esse procedimento foi repetido por 17 gerações. Após esse tempo procedeu-se a análise conjunta das gerações utilizando as testemunhas como medida da variação ambiental. Constatou-se que a produtividade de grãos apresentou incremento médio de 2,5% por geração. Os autores ressaltaram, contudo, que existia uma grande variabilidade entre a população segregante, para caracteres relacionados à competição, como hábito de crescimento, tempo de maturação e tamanho da semente. A ação da seleção natural, talvez, não teria sido tão marcante se não existisse tamanha variabilidade para esses caracteres

Utilizando as sementes que estavam armazenadas, de três das populações avaliadas na etapa anterior, foram comparados simultaneamente treze ciclos seletivos. (GONÇALVES; RAMALHO; ABREU, 2001) Os seguintes caracteres foram avaliados: hábito de crescimento, produção de grãos, peso de 100 sementes. Estimou-se incremento de 4,8% por geração na média

dos três cruzamentos. O peso de 100 sementes diminuiu 2,8% por ciclo com o avanço das gerações. Quanto ao hábito de crescimento, a seleção natural age no sentido de eliminar plantas com hábito de crescimento determinado podendo-se inferir que plantas com esse tipo de crescimento são menos competitivas em misturas. Avaliou-se também, em laboratório, as treze gerações com relação à resistência ao *C. lindemuthianum*, observaram que para esse caráter não ocorreu ação da seleção natural. Argumentaram que provavelmente isso foi observado porque o patógeno não deve ter ocorrido durante o avanço das gerações.

Procurando verificar se a seleção natural identificava os indivíduos e/ou linhagens específicas para cada ambiente, isto é, se capitalizava os efeitos da interação dos genótipos X ambientes, Pirola et al. (2002) utilizaram a população proveniente do cruzamento de ESAL 686 X Carioca MG, avançadas pelo método do bulk até F₁₄, em três locais do estado de Minas Gerais, Lambari, Lavras e Patos de Minas. Da população de cada local retiraram-se 47 famílias F_{14:15}, que foram posteriormente multiplicadas, obtendo-se famílias F_{14:16}. Essas famílias juntamente com três testemunhas, foram avaliadas simultaneamente nos mesmos três locais onde ocorreu o avanço das gerações. Constatou-se que a variância da interação famílias X origem foi de grande magnitude, inclusive bem superior à variância genética entre as famílias. Ficou evidenciado que durante a condução das populações segregantes pelo método do bulk, a seleção natural atuou preservando os indivíduos mais adaptados para o ambiente em que ocorreu o avanço das populações. Assim, há a necessidade de os melhoristas avançarem as populações segregantes em ambientes diferentes, visando a obtenção de linhagens que associem bom desempenho e maior adaptação aos ambientes de cultivo em que se destacaram.

Com o objetivo de verificar se a seleção natural age no sentido de preservar plantas que são preferidas pelos melhoristas, aumentando assim a chance de se obter progênies com maior produtividade de grãos, Silva et al. (2004) realizaram experimento conduzido em dois locais. Uma população segregante obtida do cruzamento entre ESAL 686 e CARIOCA MG foi conduzida pelo método do bulk de F₂ até F₂₄. Foram obtidas progênies F_{2:3}, F_{8:9} e F_{24:25} as quais foram avaliadas quanto à produtividade em experimentos simultâneos. Os autores observaram que a média de produção das progênies F_{2:3} foram menores que das progênies F_{24:25}. Sendo assim, infere-se que a seleção natural preservou os indivíduos mais adaptados, ou seja, mais produtivos. Novamente a explicação seria a ação da seleção natural, sendo que sua ação utiliza a variabilidade liberada pela autofecundação, sendo que a média de produção aumenta e a variabilidade diminui. Foi observado que 60% das melhores linhagens vieram de plantas da geração F₂₄ e apenas 16,67% vieram de plantas F₂.

2.2 O efeito da endogamia em populações segregantes

Em plantas autógamas, o sistema reprodutivo predominante é a autofecundação. Nessa condição pode-se prever o que ocorre nas sucessivas gerações de endogamia. Seja por exemplo o cruzamento entre duas linhas puras, divergentes em alguns genes. Na geração F_1 o indivíduo será heterozigoto em todos os locos em que os genitores são divergentes. Na geração F_2 , para esses locos a heterozigose irá reduzir em 50%. Nas demais gerações a redução na frequência dos locos em heterozigose será sempre de 50% da proporção existente na geração anterior. Após algumas gerações a frequência dos heterozigotos será praticamente nula para a maioria dos locos (WRICKE; WEBER, 1986; RAMALHO et al., 2012)

A partir desse conhecimento pode-se prever o que ocorre com os componentes da variância genética nas sucessivas gerações. A variância genética foi decomposta em variância aditiva (V_A), variância de dominância (V_D) e variância epistática (V_I) por Fisher (1918). Considerando um loco, Bernardo (2010) mostra que $V_A = 2pq[a + d(q-p)]^2$ e $V_D = (2pqd)^2$ em que p e q são as frequências do alelo B e b respectivamente, a é o desvio do homozigoto em relação à média e d o desvio do heterozigoto em relação à média. Ressalta-se que a variância aditiva é a parte que é transmitida por meio dos gametas. Na ausência de dominância, V_D é igual a zero, nesta situação a variância genética dependerá apenas de V_A .

Os componentes da variância genética foram propostos por Fisher (1918) considerando uma população em equilíbrio, ou seja, para qualquer frequência alélica, porém, sem endogamia. Quando se tem plantas autógamas, a endogamia é máxima e portanto, a decomposição apresentada por Fisher só é válida quando as frequências alélicas são $p=q=0,5$. Com outras frequências alélicas e endogamia, há outros componentes além de V_A e V_D (COCKERHAM; WEIR, 1984; SOUZA -JUNIOR, 1989). Essa situação não será comentada aqui.

No momento, é importante ressaltar que considerando uma população segregante a partir do cruzamento de duas linhagens, os componentes de variância genética podem ser preditos ao longo das sucessivas gerações de endogamia. Um modo prático de se obter esses componentes nas sucessivas gerações segregantes, independente do método de condução das populações, foi proposto por Cockerham (1963). Em síntese, na geração F_2 , $V_G = V_A + V_D$. A cada geração de endogamia, como a frequência de heterozigotos diminui, a proporção de V_D é reduzida e de V_A é incrementada. Na F_∞ , quando não mais ocorrer heterozigotos, V_G entre as linhagens corresponderá a $2V_A$, ou seja, duas vezes a variância aditiva existente na geração F_2 .

Quando se conduz a população segregante pelo método do bulk dentro de progênies, por exemplo, a partir da geração F_2 , tem-se uma situação bem marcante no que se refere aos

componentes de variância genética. Como já enfatizado, em F_2 , $V_G = V_A + V_D$. Na $F_{2:3}$, a variância genética entre progênies será $V_{PF_{2:3}} = V_A + \frac{1}{4}V_D$. Com o decorrer dos ciclos, a proporção de V_A entre progênies permanece inalterada, porém dentro dela irá incrementando. Já a proporção de V_D irá reduzir tanto entre como dentro das progênies. Assim, em $F_{2:6}$, por exemplo, $V_{PF_{2:6}} = V_A + \frac{1}{256}V_D$ e $V_{GdF_{2:6}} = \frac{15}{16}V_A + \frac{30}{256}V_D$. Na F_∞ , fica fácil visualizar que entre progênies tem-se 1 V_A e dentro, também 1 V_A . Depreende-se que na F_∞ a mesma proporção da variância genética entre progênies é encontrada dentro.

Do exposto, quando se conduz a população segregante de plantas autógamas pelo método do bulk dentro de progênies, no final, quando só ocorrerem indivíduos homozigotos, a mesma eficiência da seleção entre progênies é esperada dentro. Se não for efetuada a seleção de linhas puras, a nova “cultivar” será uma mistura de linhas, que desconsiderando o efeito da seleção natural e de amostragem dentro das progênies, nas sucessivas gerações, tem-se a mesma proporção da variância genética aditiva que existia entre as plantas F_2 no início do processo.

2.3 Simulação computacional no melhoramento de plantas

Embora os métodos de melhoramento sejam antigos, e o conhecimento sobre o que ocorre com o avanço da endogamia também já esteja consolidado, inúmeros questionamentos são constantemente realizados. Tais como o que é preferível utilizar, mais populações em detrimento do número de indivíduos/progênies de cada população? Quantos indivíduos F_2 são necessários de cada população? E muitos outros questionamentos nos quais o conhecimento de Genética Mendeliana poderia ser aplicado. Como informações a esse respeito são ainda escassas, o que se constata é que as empresas de sementes realizam centenas de hibridações anualmente, e obtêm algumas dezenas de milhares de progênies. Então reduzem rápida e drasticamente esse número de progênies a serem avaliadas nos experimentos que decidem qual (is) linhagem (ens) serão recomendadas (BERNARDO, 2014). Pesquisas de campo para responder a esses questionamentos seriam impraticáveis devido ao enorme número de linhagens, cruzamentos, populações e gerações a serem avaliados. Limitações deste tipo podem ser contornadas com o emprego da simulação computacional.

A simulação consiste em imitar, por meio de programa de computador, o comportamento de um sistema real, para estudar seu funcionamento sob condições alternativas e viabilizar a extração de informações importantes, com baixo custo e rapidez, mediante alterações de interesse nos fatores envolvidos no fenômeno em estudo (DACHS, 1988;

FERREIRA, 2001). Os primeiros trabalhos com simulação surgiram com a utilização do método de Monte Carlo, por Von Neuman, em 1940, com a blindagem de reatores nucleares. Desde então, essa estratégia tem sido utilizada para os mais variados objetivos nas mais diversas áreas da ciência. Em genética e melhoramento de plantas, o primeiro trabalho com simulação computacional foi realizado por Fraser (1957a), que elaborou uma espécie de manual sobre como a simulação poderia ser aplicada na área de genética e quais fatores deveriam ser incluídos no modelo, e aplicou a técnica, de fato. Neste trabalho, foi avaliado o efeito da ligação nas taxas de ganho com a seleção massal e nos avanços dos ganhos genéticos (FRASER, 1957b)

A partir destes trabalhos, muitos outros foram conduzidos e as contribuições da simulação para a genética e melhoramento de plantas têm sido importantes tanto em áreas clássicas, como a genética quantitativa (ABREU et al., 2010), quanto em áreas mais novas como a genômica (DE LOS CAMPOS; SORENSEN; GIANOLA, 2015). Esse fato pode ser visualizado ao avaliar-se algumas aplicações recentes para responder aos questionamentos dos mais variados aspectos. Por exemplo, na avaliação da seleção recorrente (VIANA, 2007), na determinação do número e do tamanho de famílias a serem avaliadas (FOUILLOUX; BANNEROT, 1988; FERREIRA et al., 2000; BERNARDO, 2003; LEITE et al., 2009; SILVA, 2009), na verificação da eficiência de dialelos circulantes na escolha de genitores (VEIGA; FERREIRA; RAMALHO, 2000), na comparação de estratégias de melhoramento (JONES; COMPTON; GARDNER, 1971; KERR; DIETERS; TIER, 2004; NUNES; RAMALHO; FERREIRA, 2008; WANG et al., 2003), e em vários outros trabalhos estudando diferentes aspectos relacionados ao melhoramento genético de plantas (GERLOFF; SMITH, 1988; SIMMONDS; ROAD, 1991; SILVA; FERREIRA; PACHECO, 2000; SOUZA; PETERNELLI; BARBOSA, 2006).

Apesar de tantos exemplos de emprego da simulação, seu uso só é justificado quando: as soluções analíticas não existem ou o grau de dificuldade e o número de variáveis envolvidas não permitem a realização de inferências adequadas sobre o problema; pretende-se comparar a eficiência de um novo procedimento ou técnica em relação a outros já existentes e até mesmo consagrados e os métodos que são rotineiramente empregados em algumas etapas de um programa de melhoramento possam ser modificados para propiciar qualquer melhora ou aumento de sua eficiência. Fica claro que a visualização do que ocorre considerando um grande número de genes segregando, durante algumas gerações justifica o emprego da simulação computacional.

2.4 Multilinhas

Quando se conduz a população pelo método do bulk dentro de progênies, pelo que já foi comentado, após algumas gerações de endogamia tem-se uma mistura de linhagens dentro das progênies. Se essa progênie, mistura de linhas puras, for avaliada o que se tem é uma multilinha. O emprego de multilinhas tem sido proposto com alguns objetivos:

O mais propalado deles é com relação à maior durabilidade da resistência a determinados patógenos que contém várias raças. O argumento é que em havendo um mistura de linhagens contendo diferentes alelos de resistência, a pressão de seleção sobre o patógeno é menor. Nessa condição, mesmo ocorrendo alguma incidência do patógeno nas plantas suscetíveis, a mistura contendo linhagens resistentes poderá compensar não levando a redução expressiva na produtividade. Espera-se com essa estratégia que a cultivar possa permanecer por mais tempo em cultivo. Na literatura existem vários relatos a esse respeito.(NEWTON; SWANSTON, 1999; WOLFE, 2000; McDONALD, 2014). Aqui será dada ênfase em trabalho conduzido com a cultura do feijoeiro na UFLA.

O emprego de multilinhas em feijão foi avaliado por Botelho et al. (2011). O objetivo do trabalho foi verificar o potencial uso dessa estratégia com linhagens com grão tipo carioca para amenizar perdas devido à infecção por antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). Sete linhagens do banco de germoplasma da Universidade Federal de Lavras, com diferentes reações as diversas raças do Patógeno, e com demais características como hábito de crescimento e altura de plantas semelhantes, foram escolhidas para a condução dos experimentos. Dessas linhagens cinco eram resistentes a uma raça e duas suscetíveis à todas as raças do patógeno. As linhagens e uma mistura composta por iguais proporções delas foram avaliadas em duas safras. As plantas eram pulverizadas com suspensão de conídios de *C. lindemuthianum*, e a reação avaliada com escala de notas. As notas de avaliação mostraram que o patógeno se disseminou por todo o campo. Os autores observaram que a mistura das linhagens reduziu os danos causados pela antracnose, e sua média de notas foi similar àquelas obtidas pelas linhagens resistentes, mesmo que na constituição da mistura houvesse duas linhagens completamente suscetíveis. Quanto à produção, a média das multilinhas foi comparável à das linhagens mais produtivas. Sendo assim, os autores concluem que a estratégia de mistura de linhas puras controla o avanço de antraconose e assim, diminui a perda de produção quando comparada ao uso de linhas puras.

O outro enfoque da multilinha é que se ocorre uma mistura de linhagens, essas podem diferir na resposta ao estímulo ambiental. Isto porque quando a multilinha é avaliada em diferentes ambientes, a estabilidade provavelmente será maior que de uma única linha pura.

Aqui também a literatura apresenta vários relatos (NEWTON; SWANSTON, 1999; KIAER; SKOGAARD; OSTERGARD, 2009; BAROT et al., 2017). Contudo, aqui só será relatado a pesquisa conduzida por Bruzi et al. (2007)

Em trabalho objetivando verificar se populações constituídas de uma linha pura, uma mistura de linhas puras e população com maioria dos locos em heterozigose diferiam em estabilidade e como essa informação poderia ser utilizada em programas de melhoramento do feijoeiro (BRUZI et al., 2007) Para isso, foram conduzidos experimentos em 20 ambientes (considerando safras e locais). Foram utilizadas oito linhagens com grãos cariocas, as quais diferiam na resistência à mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) e antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). Avaliou-se o desempenho das oito linhagens individualmente, uma mistura proporcional delas, além da geração F₂ de híbrido múltiplo entre essas linhagens. Os autores observaram que a multilinha e o híbrido múltiplo contibuíram menos para a interação genótipos X ambientes, sendo mais estáveis do que as linhagens individualmente, confirmando a teoria proposta por Allard (1961). O uso da multilinha apresentou produção semelhante à linhagens comerciais, como a cultivar ‘Pérola’ e superior à linhagem ‘Talismã’. Os autores concluíram que o sucesso do uso de multilinhas de feijão no Brasil é possível devido ao grande número de cultivares com características comerciais semelhantes, como cor do grão, possibilitando a mistura sem afetar o aspecto comercial.

O terceiro objetivo da multilinha é que quando da recomendação de uma nova cultivar, constituída de uma única linha pura, pode ser que a cultivar selecionada não seja realmente a melhor. A explicação é que a herdabilidade da caráter, no caso produtividade de grãos, não é alta e assim pode ocorrer erro na seleção. Com a mistura esse erro é atenuado.

Enfim, o uso de multilinhas apresenta diversas vantagens. No entanto, para a proteção de uma cultivar, essa deve apresentar homogeneidade e estabilidade. A proteção de mistura de linhas puras, ou cultivares com variação residual pode ser dificultada.

De acordo com o Artigo 3º, inciso IV, da Lei de Proteção de Cultivares uma cultivar seria: “*a variedade de qualquer gênero ou espécie vegetal superior que seja claramente distinguível de outras cultivares conhecidas por margem mínima de descritores, por sua denominação própria, que seja homogênea e estável quanto aos descritores através de gerações sucessivas e seja de espécie passível de uso pelo complexo agroflorestal, descrita em publicação especializada disponível e acessível ao público.*” (BRASIL, 1997)

Descritores são um conjunto predefinido de características com as quais a cultivar pode ser inicialmente descrita, permitindo determinar quais delas diferenciam a nova cultivar de outras conhecidas. O SNPC determina um conjunto mínimo de descritores (margem mínima),

suficiente para diferenciar uma nova cultivar ou uma cultivar essencialmente derivada das demais já conhecidas.

Para regulamentar a proteção de uma nova cultivar, essa deve ser submetida ao teste de DHE (distinção, homogeneidade, estabilidade), em que:

Cultivar distinta: aquela que se distingue claramente de qualquer outra cuja existência seja reconhecida na data do pedido de proteção.

Cultivar Homogênea – aquela que, utilizada em plantio, apresente variabilidade mínima quanto aos descritores que a identifiquem, segundo critérios estabelecidos pelo órgão competente.

Cultivar Estável- a cultivar é considerada estável, se as expressões fenotípicas de suas características essenciais não se modificarem após reproduções ou multiplicações sucessivas ou, no caso de um ciclo particular de reproduções ou multiplicações, no fim de cada ciclo.

No caso de multilinha, pode-se selecionar plantas que sejam homogêneas para caracteres associados à arquitetura, tipo de grãos, porém heterogêneas para outras características e portanto elas poderiam ser protegidas sem afetar o conceito pressuposto no DHE.

2.5 Mancha Angular do feijoeiro

A mancha angular, causada pelo fungo *Pseudocercospora griseola*, é uma importante doença do feijoeiro no Brasil. Sua ocorrência e consequências são relatadas em todas as regiões produtoras da cultura no país (BOREL et al., 2011; PAULA JÚNIOR et al., 2015). A infecção e o desenvolvimento da doença é especialmente importante em regiões onde temperaturas moderadas são acompanhadas por períodos de alta umidade intercaladas de períodos secos com temperatura média de 24°C (BIANCHINI et al., 2005). Características da safra da seca, semeadura em Fevereiro, sendo esta a safra de maior incidência do patógeno em regiões com mais de uma safra por ano.

No passado, por ser uma doença que se mostrava severa apenas após o florescimento, acreditava-se que ela não era responsável por muitas perdas de produtividade, sendo considerada de menor importância, quando comparada com a antracnose do feijoeiro, por exemplo (FERRAZ, 1980; RAVA et al., 1985; PASTOR-CORRALES; JARA, 1995).

A principal forma de disseminação dos conídios de *Pseudocercospora griseola* é pelo vento, sementes e restos de culturas anteriores (SINGH; SCHWARTZ, 2010). A lesão

característica é delimitada pelos feixes vasculares, na coloração marrom nas partes aéreas da planta. A necrose no formato angular nas folhas originou o nome da doença. O patógeno pode ser observado nos ramos, caules, vagens e folhas, mas ataca com maior severidade as folhas (provocando queda) e as vagens (LIEBENBERG; PRETORIUS, 1997; BOREL et al., 2010). Nos caules as lesões têm formato alongado, e nas vagens são superficialmente marrons com o centro avermelhado (BIANCHINI et al., 2005; BOREL et al., 2011; RAMALHO; ABREU; GUILHERME, 2014).

Por ser uma doença considerada de final de ciclo, pesquisadores indicam, para a identificação de plantas resistentes, a avaliação no fim do ciclo, próximo a colheita. (SARTORATO; RAVA, 1985; BIANCHINI et al., 2005; REZENDE et al., 2014). Contudo, há controvérsias a respeito dessa informação, acredita-se que as condições ambientais e a intensificação da cultura favoreceram o aparecimento da doença mais precocemente, o que tem efeito na estimativa das perdas de produtividade. Atualmente, a metodologia utilizada é mais rápida já que a inoculação e avaliação da severidade da doença, por escala de notas, são feitas já nos estádios primários (estádio V2) (PEREIRA et al., 2011; LIBRELON et al., 2015). Essa estratégia tem sido empregada nos programas de melhoramento visando a resistência ao patógeno.

Os principais trabalhos de resistência à mancha angular no Brasil foram feitos por programas de melhoramento das instituições públicas utilizando acessos do banco de germoplasma em experimentos tanto em campo como casas de vegetação. Algumas dessas instituições são: Universidade Federal de Viçosa, Universidade Federal de Lavras, Embrapa Arroz e Feijão, Instituto Agronômico do Paraná.

A utilização de cultivares resistentes é vantajosa, no entanto, a existência de diferentes raças e imensa variabilidade de *P. griseola* causam complicações nos programas de melhoramento, pois cultivares consideradas resistentes, podem apresentar sintomas de susceptibilidade a outras raças (GUTTMAN; MCHARDY; SCHULZE-LEFERT, 2014). Desta maneira, a cada nova raça, cultivares antes resistentes podem tornar-se suscetíveis.

A variabilidade entre isolados de *P. griseola* vem sendo estudada desde início da década de 50 do século passado. Para a identificação das diversas raças do patógeno, em 1995 foi proposto um conjunto de 12 cultivares diferenciadoras (PASTOR-CORRALES; JARA, 1995). A partir dessas diferenciadoras 54 raças deste patógeno já foram identificadas no país (SILVA et al., 2008). Dessas raças, a 63-63 é a mais frequente na região do sul de Minas Gerais. O patótipo 63-63 quebra a resistência de todas as cultivares diferenciadoras, sendo assim, identificado em vários levantamentos de raças que têm sido realizados no Brasil

(SARTORATO, 2002; NIETSCHE et al., 2001; SARTORATO; ALZATE-MARÍN, 2004; GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2016). Isso indica uma limitação do conjunto de cultivares diferenciadoras. Pereira et al. (2015) estudando isolados de *P.griseola* detectou grande variabilidade entre isolados da raça 63-63, a qual o uso de cultivares diferenciadoras não é capaz de estimar. Dessa forma, expressando que as cultivares diferenciadoras necessitam de uma revisão.

Além de estudos sobre a variabilidade do patógeno, trabalhos visando o controle genético da resistência à mancha angular são essenciais para os programas de melhoramento. Pesquisas mostraram que os alelos dominantes conferem a resistência contra o fungo causador da mancha angular, contudo, alguns trabalhos demonstraram que alguns alelos recessivos também conferem resistência (SANTOS FILHO; FERRAZ; VIEIRA, 1976; CORRÊA et al., 2001).

Por meio de testes de alelismo e mapeamento de QTLs foram identificados 5 genes de resistência à Mancha Angular em diferentes fontes de resistência: Pgh-1 , Pgh-2, Pgh-3, Pgh-4 e Pgh-5. (CAIXETA et al., 2005; SOUZA et al., 2016) Portanto, verificou-se que a resistência é controlada por muitos genes, sendo a resistência um carácter quantitativo. Outra evidência foi observada durante testes de progênies para o carácter de resistência, que teve alto efeito ambiental, típico de um carácter quantitativo, que é muito influenciado pelo ambiente (AMARO et al., 2007).

A resistência a doenças controlada por herança monogênica é atrativa aos melhoristas por sua facilidade em ser manipulada e pela rápida obtenção de resultados, podendo ser facilmente introduzida em cultivares susceptíveis por meio de retrocruzamentos sucessivos (OLIVEIRA et al., 2004). A resistência vertical, conferida por um ou poucos genes, é considerada não duradoura, por isso os programas de melhoramento buscam obter cultivares poligênicas para o carácter de resistência ao *P. griseola*, através da piramidação de alelos. Essa característica da resistência horizontal ou duradoura, portanto, é preferível, uma vez que o patógeno possui enorme variabilidade e terá maiores dificuldades na quebra da resistência. (SARTORATO et al., 2000; NIETSCHE et al., 2001; MIKLAS et al., 2006; PEREIRA et al., 2015). O patógeno terá maiores dificuldades em “quebrar” a resistência pois ele terá que conter todos os genes de virulência correspondentes aos genes de resistência da planta.

Do exposto, o desafio para se conseguir uma cultivar resistente à mancha angular é grande, e para um cenário desses, a seleção recorrente se torna a alternativa mais viável. Na UFLA são conduzidos alguns programas de seleção recorrente do feijoeiro com diferentes

objetivos. Um deles é conduzido em parceria com a EMBRAPA, foi iniciado em 1998 e visa a resistência à mancha angular.

2.6 Antracnose do feijoeiro

A antracnose é uma das doenças mais agressivas e de maior importância para a cultura do feijoeiro, podendo provocar perda total da produção quando são utilizados cultivares susceptíveis e sementes contaminadas, sob condições climáticas favoráveis à epidemia (KIMATI et al., 1997; BARBOSA; GONZAGA, 2012). Além disso, em ataques mais severos, a doença pode ocasionar manchas nos grãos, depreciando a qualidade do produto final e tornando-os indesejáveis ao consumo (PAULA JÚNIOR et al., 2006). Trata-se de uma doença cosmopolita, sendo encontrada em todas as regiões onde o feijoeiro é cultivado, no entanto, é mais pronunciada em regiões tropicais e subtropicais, com temperaturas amenas associadas à alta umidade relativa do ar (MIKLAS et al., 2006).

O agente causal da antracnose, *Colletotrichum lindemuthianum*, é um fungo hemibiotrófico, ou seja, apresenta uma fase inicial biotrófica, em que extrai nutrientes das células vivas do hospedeiro e uma segunda fase, necrotrófica, em que se nutre do tecido morto (PERFECT; GREEN; O'CONNELL, 2001). Seus sintomas são de fácil reconhecimento e dependendo da intensidade da doença, podem se manifestar em toda parte aérea da planta a partir do sétimo dia da infecção. Os sintomas típicos da doença são lesões necróticas de coloração marrom escura nas nervuras da parte abaxial das folhas. Em infestações mais severas, as lesões estendem-se ao limbo foliar, resultando em necrose de parte do tecido vegetal. As lesões produzidas no caule e nos pecíolos são alongadas, escuras e deprimidas, podendo apresentar cancrios. Já nas vagens, as lesões são circulares, deprimidas, de coloração marrom, com os bordos escuros e salientes, circundados por um anel pardo avermelhado. Em condições favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, uma massa rósea de esporos pode ser observada no centro das lesões. As sementes infectadas podem apresentar desde uma leve descoloração até lesões escuras e deprimidas, as quais são mais facilmente visualizadas em sementes de tegumentos claros (BARBOSA; GONZAGA, 2012; CARBONELL et al., 2012).

As doenças de origem fúngica podem ser disseminadas a longas distâncias por sementes infectadas e por correntes aéreas a longas distâncias, assim como por insetos, chuva e restos de culturas na área de plantio, e pelo homem, a curtas distâncias (JÚNIOR et al., 2015; COSTA et al., 2017). No caso da antracnose, a propagação do fungo ocorre principalmente por sementes

infectadas. As condições preteríveis ao seu desenvolvimento estão fortemente presentes em regiões com alta umidade relativa do ar e temperaturas moderadas – acima de 91% UR e 15-27°C (COSTA et al., 2017; JÚNIOR et al., 2015).

A antracnose é endêmica na África, Ásia e Austrália, e registrada em diversos países da América Latina e da Europa (MAHUKU; RIASCOS, 2004; NKALUBO et al., 2009). No Brasil, os estados do Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais (Sul de Minas e Zona da Mata) e São Paulo são os com registros mais significativos da ocorrência da doença (PAULA JÚNIOR et al., 2015).

A ampla variabilidade genética do fungo *C. lindemuthianum* é o maior desafio para a obtenção de cultivares com resistência durável à doença, visto que a quebra da resistência por este patógeno é frequente. Essa variabilidade genética é proporcionada por diversos mecanismos de recombinação que permitem o aumento da diversidade, dentre eles ciclo sexual e parasexual, transposons (ISHIKAWA; SOUZA; DAVIDE, 2008; DOLATABADIAN et al., 2017). São relatadas mundialmente mais de 100 raças de *C. lindemuthianum* sendo que, cerca de 50 já foram registradas no Brasil (RIBEIRO et al., 2016; ZUIDERVEEN et al., 2016). As raças 65, 73, 77, 81 e 89 são as mais frequentes (COSTA et al., 2017; JÚNIOR et al., 2015; SILVA; SOUZA; ISHIKAWA, 2007). Em muitos trabalhos de levantamento de raças, a raça 65 vem se destacando, apresentando os maiores níveis de ocorrência e ampla distribuição geográfica. (ISHIKAWA; RAMALHO; SOUZA, 2011; CARBONELL et al., 2012; PINTO et al., 2012). Além da diversidade de raças do patógeno, têm-se verificado que também ocorre variabilidade dentro das raças, o que dificulta ainda mais a obtenção de cultivares de feijão com resistência duradoura ao patógeno (COSTA et al., 2017; PÁDUA; RAMALHO; ABREU, 2015).

A herança da resistência do feijoeiro à antracnose foi primeiro estudada por meio de análises genéticas clássicas, baseadas na interpretação de resultados obtidos a partir de uma população segregante F₂ (BURKHOLDER, 1918). O autor encontrou 362 plantas F₂ resistentes e 111 plantas suscetíveis, sugerindo que um gene com alelo dominante, mais tarde denominado *Co-1*, estava envolvido na resistência à esta raça. A partir de então, em várias oportunidades, o controle genético da resistência de cultivares de feijoeiro às mais diversas raças começou a ser estudado, prevalecendo até os dias atuais (COSTA et al., 2015; FERREIRA; CAMPA; KELLY, 2013; LACANALLO; GONÇALVES-VIDIGAL, 2015; SOUSA et al., 2015).

Até o momento já foram identificados 23 genes *Co*'s (COELHO et al., 2013; GONZÁLEZ et al., 2015). Entre eles, 13 foram identificados em cultivares mesoamericanas e 10, em cultivares andinas. Com exceção do gene *Co-8*, identificado na cultivar AB136, no qual

a resistência é relatada como sendo controlada por um alelo recessivo, nos demais genes, o alelo dominante é o responsável pela resistência. Modo de ação complementar, entre dois genes de resistência independentes, também tem sido descrito, sendo necessária a presença de ambos os alelos dominantes dos dois genes para a expressão da resistência (CAMPA et al., 2011; CAMPA et al., 2014). González et al. (2015) também identificaram interações epistáticas entre os alelos de genes de resistência à antracnose.

Análises genéticas clássicas assumem que a resistência à diferentes raças/isolados pode ser controlada por um mesmo gene e que os diferentes espectros de resistência em cultivares portadoras do mesmo gene é devido à diferentes alelos do mesmo gene (FERREIRA; CAMPA; KELLY, 2013). Dessa forma, alelismo múltiplo também tem sido identificado nos locos *Co-1*, *Co-3*, *Co-4* e *Co-5* (SOUSA et al., 2014).

Mais recentemente, Costa et al. (2017), ao estudar o controle genético da resistência das cultivares diferenciadoras da raça 65, propostas por Ishikawa, Ramalho e Souza (2011) à seis diferentes isolados pertencentes a esta raça, verificou a presença de 12 genes, sendo genes duplicados conferindo resistência a um isolado específico, cujos alelos dominantes são responsáveis pela resistência. Esses resultados evidenciam que a especificidade ocorre em nível de isolado, ou seja, embora seja um caractere qualitativo, para se obter resistência durável à antracnose, a cultivar ou linhagem de feijoeiro deve conter muitos genes com alelos que conferem resistência à vários isolados das mais diversas raças do patógeno.

Depreende-se que assim como para a mancha angular, os desafios para se conseguir uma cultivar resistente à antracnose são enormes. Diante deste fato, e da enorme importância da doença para a cultura na região, a constante avaliação das progênies quanto a reação ao patógeno é de extrema importância.

REFERÊNCIAS

- ABREU, G. B. et al. Strategies to improve mass selection in maize. **Maydica**, v. 55, n. 3/4, p. 219–255, 2010.
- ALLARD, R.W. **Principles of plant breeding**. (2 Ed.) New York: John Willey e Sons, 1999. 254p.
- ALLARD, R.W. Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. **Journal of heredity**, v. 79, p.225-238, 1988.
- AMARO, G. B.; ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P. Phenotypic recurrent selection in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with carioca-type grains for 22 resistance to the fungi *Phaeoisariopsis griseola*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 3, p. 584-588, 2007.
- BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. de O. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2012.
- BAROT, S. et al. Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. **Agron. Sustain. Dev.**, v.37, n.13, 2017.
- BERNARDO, R. **Essentials of Plant Breeding**. Woodbury:Stemma Press, 2014. 252 p.
- BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. 2 Ed. Woodbury: Stemma Press. 2010. 400p.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia. Doenças das Plantas Cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 4.ed., v.2, 2005. 663p.
- BOREL, J. C. et al. Genetic control of the angular leaf spot reaction in common bean leaves and pods. **Sci Agric**. v.68, p.661–664, 2011.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. 6 Ed. UFV, 2017. 523p.
- BOTELHO, F. B. S. et al. Multiline as a Strategy to Reduce Damage Caused by *Colletotrichum lindemuthianum* in Common Bean. **J Phytopathol** v.159, p.175–180, 2013.
- BOREL, J. C. et al. Inheritance of resistance to angular leaf spot in the bean pods. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, v. 53, p. 230-231, 2010.
- BRASIL. Institui a Lei de Proteção de Cultivares. [S.l.], *Lei n° 9.456, de 25 de abril de 1997*. 1997. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9456.htm> . Acesso em 21/12/2017.

BRUZI, A. T. et al. Homeostasis of common bean populations with different genetic structures. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** v. 7, p. 111-116, 2007.

BURKHOLDER, W. H. The production of an anthracnose-resistant white marrow bean. **Phytopathology**, v. 8, p. 353–359, 1918.

CAIXETA, E. T. et al. Allelic relationships for genes that confer resistance to angular leaf spot in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 145, n. 3, p. 237-245, 2005.

CAMPA, A.; GIRALDEZ, R.; FERREIRA, J. J. Genetic analysis of the resistance to eight anthracnose races in the common bean differential cultivar Kaboon. **Phytopathology**, v.101, p. 757–764, 2011.

CAMPA, A. et al. Genetic analysis of the response to eleven *Colletotrichum lindemuthianum* races in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BMC plant biology**, v. 14, p. 12, 2014.

CARBONELL, S. A. M. et al. Antracnose. In: PAULA – JUNIOR, T.J.; WENDLAND, A. **Melhoramento genético do feijoeiro-comum e prevenção de doenças**. 1ed. Viçosa: Empresa Agropecuária de Minas Gerais, p. 1-158, 2012.

COCKERHAM, C.C.; WEIR, B.S. Covariances of relatives stemming from a population undergoing mixed self and random mating. **Biometrics**, v.40, p.157-164, 1984.

COCKERHAM, C.C. Estimation of genetic variance. In: HANSON, W.D.; ROBINSON, H.F. (Eds) **Statistical genetics and plant breeding**, Washington, p.53-93, 1963.

COELHO, R. T. et al. Characterization of the anthracnose resistance gene in the mesoamerican common bean cultivar Crioulo 159. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 56, p. 43–44, 2013.

CORRÊA, R. X. et al. Herança da resistência à mancha-angular do feijoeiro e identificação de marcadores moleculares flanqueando o loco de resistência. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 27-32, 2001.

CORTE, H.R. et al. Natural selection for grain yield in dry bean populations bred by the bulk method. **Euphytica** .v. 123, p. 387–393, 2002.

COSTA, J. G. C. da et al. Reação de Variedades Tradicionais de Feijão-Comum (*Phaseolus vulgaris*) Coletadas no Estado do Paraná aos Patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/Embrapa Arroz e Feijão**, 2015. 15p.

COSTA, L.C. et al. Are duplicated genes responsible for anthracnose resistance in common bean? **PLoS ONE**. v. 12, n. 3, p. e0173789. 2017.

DACHS, J. N. W. **Estatística computacional**: uma introdução ao Turbo Pascal. Rio de Janeiro: LTC, 1988. 236 p.

DE LOS CAMPOS, G.; SORENSEN, D.; GIANOLA, D. Genomic heritability: what is it? **PLoS genetics**, v. 11, n. 5, p. e1005048, 2015.

DOLATABADIAN A. et al. Copy number variation and disease resistance in plants. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 130, p. 2479-2490, 2017.

FARIA, L.C. et al. Genetic Gain in Common Bean with Black Grain by Indirect Estimation Methods. **Crop Sci.** v. 57, p. 1308-1314, 2017.

FEHR, W.R. **Principles of cultivar development. Theory and technique.** v. 1. New York: Macmillan.1987. 525p.

FERRAZ, S. Angular leaf spot. In: SCHWARTZ, H. F.; GÁLVEZ, G. E. (eds.). Bean production problems: disease, insect, soil and climatic constrains of *Phaseolus vulgaris*. **Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)**, Cali, Colombia. p. 55-64. 1980.

FERREIRA, J. J.; CAMPA, A.; KELLY, J. D. Organization of Genes Conferring Resistance to Anthracnose in Common Bean. In: VARSHNEY, R. K.; TUBEROSA, R. (Eds.); **Translational Genomics for Crop Breeding.** 1st ed., p.151–176, 2013.

FERREIRA, D. F. Simulação no melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C.; MELO, I. S. de.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas.** Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 858.

FERREIRA, W. D. et al. Family number in common bean selection. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 2, p. 403–409, 2000.

FISHER, R.A. The correlation between relatives on the supposition of mendelian inheritance. **Trans. Royal Soc.**, v.5, p.399-433, 1918.

FOUILLOUX, G.; BANNEROT, H. Selection methods in the common bean (*phaseolus vulgaris*). In: **Genetic resources of Phaseolus Beans: their maintenance, domestication, evolution and utilization.** Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1988. 613p.

FRASER, A. S. Simulation of genetics systems by automatic digital computers. I: introduction. **Australian Journal of Biological Science**, Melbourne, v. 10, p. 484-491, 1957.

FRASER, A. Simulation of genetics systems by automatic digital computers ii: Effect of linkage on rates of advance under selection. **Australian Journal of Biological Science**, v. 10, p. 492–499, 1957.

FREY, K.J. The use of F₂ lines in predicting the performance of F₃ selections in two barley crosses. **Agronomy Journal**, v. 46, p.541-544, 1954.

GERLOFF, J. E.; SMITH, O. S. Choice of method for identifying germplasm with superior alleles. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 76, p. 209–216, 1988.

GONÇALVES, F.M.A.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Natural selection in four common bean traits. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 3, p. 213-220, 2001.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Virulence and genetic diversity of *Pseudocercospora griseola* isolates from Paraná state, Brazil. **Annual Report of The Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 1, n. 59, p.41- 42, 2016.

GONZÁLEZ, A. M. et al. Uncovering the genetic architecture of *Colletotrichum lindemuthianum* resistance through QTL mapping and epistatic interaction analysis in common bean. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 13, 2015.

GUTTMAN, D.; MCHARDY, A. C.; SCHULZE-LEFERT, P. Microbial genome-enabled insights into plant-microorganism interactions. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, n. 12, p. 797–813, 2014.

HAMBLIM, J. Plant breeding interpretations of the effects of bulk breeding on four populations of beans (*Phaseolus vulgaris*). **Euphytica**, v. 26, n.1, p. 157-168, 1977.

ISHIKAWA, F. H.; SOUZA, E. A. de; DAVIDE, L. M. C. Genetic variability within isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* belonging to race 65 from the state of Minas Gerais, Brazil. **Biologia**, v. 63, n. 2, p. 156–161, 2008.

ISHIKAWA, F. H.; RAMALHO, M. A. P.; SOUZA, E. A. Common bean lines as potential differential cultivars for race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Journal of Plant Pathology**, v. 93, n. 2, p. 461–464, 2011.

JONES, L. P.; COMPTON, W. A.; GARDNER, C. O. Comparison of Full and Half-Sib Reciprocal Recurrent Selection. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 41, p. 36–39, 1971.

JÚNIOR, T. J. DE P. et al. Doenças do feijoeiro: estratégias integradas de manejo. Em: CARNEIRO, J. E.; JÚNIOR, T. J. DE P.; BORÉM, A. **Feijão: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015. 384p.

KIAER, L.P.; SKOGAARD, I. B. M.; OSTERGARD, H. Grain yield increase in cereal variety mixtures: A meta-analysis of field trials. **Field Crops Research** v.114, p. 361–373, 2009.

KERR, R.; DIETERS, M.; TIER, B. Simulation of the comparative gains from four different hybrid tree breeding strategies. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 34, n. 1, p. 209–220, 2004.

KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas**. 3rd ed. 1997. 774p.

LACANALLO, G. F.; GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. Mapping of an andean gene for anthracnose resistance (*Co-13*) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Jalo Listras Pretas landrace. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 5, p. 394–400, 2015.

- LEITE, M. et al. Sample size for full sib evaluation in sugarcane. **Pesq. agropec. bras.**, v. 44, n. 12, p. 1562–1574, 2009.
- LIBRELON, S. S et al. Diagrammatic scale to evaluate angular leaf spot severity in primary leaves of common bean. **Australasian Plant Pathology**. v. 44, p.385-395, 2015.
- LIEBENBERG, M. M.; PRETORIUS, Z. A. A review of angular leaf spot of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **African Plant Protection**, v. 3, n. 2, p. 81-106, 1997.
- MAHUKU, G. S.; IGLESIAS, A. M.; JARA, C. Genetics of angular leaf spot resistance in the Andean common bean accession G5686 and identification of markers linked to the resistance genes. **Euphytica**, Wageningen. v. 167, n. 3, p.381-396, 2009.
- MAHUKU, G. S.; RIASCOS, J. J. Virulence and molecular diversity within *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Andean and Mesoamerican bean varieties and regions. **European Journal of Plant pathology**, v. 110, n. 3, p. 253–263, 2004.
- McDONALD, B.A. Using dynamic diversity to achieve durable disease resistance in agricultural ecosystems. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 3, p.191-196, 2014.
- MIKLAS, P. N.; KELLY, J. D.; BEEBE, S. E.; BLAIR, M. W. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. **Euphytica**, v. 147, n. 1-2, p. 105–131, 2006.
- NEWTON, A.C; SWANSTON, J.S. Cereal variety mixtures reduce inputs and improve yield and quality - why isn't everybody growing them? In: **Scottish Crop Research Institute**. Annual Report- 1998/99.1999.
- NIETSCHKE, S. et al. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in the state of Minas Gerais, Brazil. **Euphytica**, v. 117, n. 1, p. 77-84, 2001.
- NKALUBO, S. T. et al. Genetic analysis of anthracnose resistance in common bean breeding source germplasm. **Euphytica**, v. 167, n. 3, p. 303–312, 2009.
- NUNES, J.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F. Inclusion of genetic relationship information in the pedigree selection method using mixed models. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 1, p. 73–78, 2008.
- OLIVEIRA, E. J. et al. Reação de cultivares de feijoeiro comum a quatro raças de *Phaeoisariopsis griseola*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 220-223, 2004.
- PASTOR-CORRALES, M. A.; JARA, C. La evolucion de *Phaeoisariopsis griseola* com el frijol comum en America Latina. **Fitopatologia Colombiana**, v. 19, n. 1, p. 15-22, 1995.
- PAULA JÚNIOR, T. J. de et al. Doenças do Feijoeiro: Estratégias Integradas de Manejo. In: CARNEIRO, J. E; PAULA JÚNIOR, T. J. de; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão: do plantio à colheita**. Viçosa, Mg: Editora UFV. 2015. 384p.

- PEREIRA, R. et al. Aggressiveness of *Pseudocercospora griseola* strains in common bean genotypes and implications for genetic improvement. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 2, p. 5044-5053, 2015.
- PEREIRA, R.; ABREU, M.J.; SOUZA, E. A. Alternative method to assess the reaction of common bean lines to pseudocercospora griseola. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins. v. 54, p. 104-105, 2011.
- PERFECT, S. E.; GREEN, J. R.; O'CONNELL, R. J. Surface characteristics of necrotrophic secondary hyphae produced by the bean anthracnose fungus, *Colletotrichum lindemuthianum*. **European Journal of Plant pathology**, v. 107, n. 8, p. 813–819, 2001.
- PINTO, J. M. A. et al. Investigating phenotypic variability in *Colletotrichum lindemuthianum* populations. **Phytopathology**, v. 102, n. 5, p. 490–497, 2012.
- RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B.; GUILHERME, S.R. (Ed): **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central Brasileira: 2015:2017**. 1 ed. Lavras: UFLA, 2014. 168p.
- RAMALHO, M.A.P. et al. **Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**. (Ed.)UFLA. 2012. 522p.
- RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B.; SANTOS, J.B. Melhoramento de espécies autógamas. In: NASS,L.L.**Recursos Genéticos e Melhoramento – Plantas**. 2001. 1183p.
- RAMALHO, M.A.P.; DIAS, L.A. dos S.; CARVALHO, B.L. Contributions of plant breeding in Brazil – progress and perspectives. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v. 2, p. 111-120, 2012.
- RAVA, C. A.; SARTORATO, A.; CARVALHO, J. R. P. Yield losses in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) caused by angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 28, p. 5-6, 1985.
- REZENDE, B. A. et al. Severity Evaluation Methods in Common Bean Recurrent Selection Programme for Resistance to Angular Leaf Spot. **Journal of Phytopathology**, v.162, n.10, p.643-649. 2014.
- RIBEIRO, T. et al. Classification of *Colletotrichum lindemuthianum* races in differential cultivars of common bean. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 2, p. 179–184, 2016.
- SANTOS FILHO, H. P.; FERRAZ, S.; VIEIRA, C. Resistencia à mancha-angular (*Isariopsis griseola* Sacc.) no feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, MG. v. 23, n. 127, p. 226-230. 1976.
- SARTORATO, A. Identification of *Phaeoisariopsis griseola* pathotypes from five states of Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v. 27, n. 1, p. 78-81. 2002.
- SARTORATO, A.; ALZATE-MARIN, A.L. Analysis of the pathogenic variability of *Phaeoisariopsis griseola* in Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins. v. 47, p. 235-237, 2004.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A. Especialização fisiológica de *Isariopsis griseola* Sacc. em *Phaseolus vulgaris* L. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 10, n. 1, p. 58-59, 1985.

SARTORATO, A. et al. RAPD and SCAR markers linked to resistance gene to angular leaf spot in common beans. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n.4, p. 637-642, 2000.

SIMMONDS, N. W.; ROAD, W. M. Selection for local adaptation in a plant breeding programme. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 82, p. 363-367, 1991.

SINGH, S. P.; SCHWARTZ, H. F. Breeding common bean for resistance to diseases: a review. **Crop Science**, Madison, v. 50, p. 2199-2223, 2010.

SILVA, G.; VIEIRA, J.; VILLELA, M. Tamanho de amostra para avaliação de caracteres de cenoura em sistemas de cultivo agroecológico. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 166-170, 2009.

SILVA, H.; FERREIRA, D. F.; PACHECO, C. A. P. Avaliação de quatro alternativas de análise de experimentos em látice quadrado, quanto à estimação de componentes de variância. **Bragantia**, v. 59, n. 1, p. 117-123, 2000.

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

SILVA, N.O. et al. Performance of common bean families after different generations under natural selection. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 4, p. 574-578, 2004.

SILVA, K. J. D. E; DE SOUZA, E. A.; ISHIKAWA, F. H. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from the state of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 155, n. 4, p. 241-247, 2007.

SOUZA-JÚNIOR, C.L. **Componentes de variância genética e suas implicações no melhoramento vegetal**. Piracicaba: FEALQ, 1989. 134p.

SOUZA, E. F. M.; PETERNELLI, L.; BARBOSA, M. Design and model effects definitions in the initial stage of a plant breeding program. **Pesq. agropec. bras.**, v. 41, n. 3, p. 369-375, 2006.

SOUZA, D. A et al. Reaction of common bean progenies to white mold derived from recurrent selection. **Ciência Rural**, v. 44, p. 583-587, 2014.

SOUZA, L. L. et al. Genetic Characterization and Mapping of Anthracnose Resistance of Common Bean Landrace Cultivar Corinthiano. **Crop Science**, v. 55, n. 5, p. 1900-1910, 2015.

SOUZA, T. L. P. O. et al. Major loci controlling resistance to the angular leaf spot of common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Prosser, v. 59, 2016.

VEIGA, R. D.; FERREIRA, D. F.; RAMALHO, M. Eficiência dos dialelos circulantes na escolha de genitores. **Pesq. agropec. bras.**, v. 35, n. 7, p. 1395–1406, 2000.

VENCOVSKY, R.; RAMALHO, M.A.P. Contribuições do melhoramento de plantas no Brasil. In: PATERNIANI, E. (Ed.) **Ciência, Agricultura e Sociedade**, Brasília: EMBRAPA, p.41-74. 2006.

VIANA, J. M. S. Breeding strategies for recurrent selection of maize. **Pesq. agropec. bras.**, v. 42, n. 10, p. 1383–1391, 2007.

ZUIDERVEEN, G. H. et al. Genome-Wide association study of anthracnose resistance in andean beans (*Phaseolus vulgaris*). **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, 2016.

WANG, J. et al. Comparison of Two Breeding Strategies by Computer Simulation. **Crop Science**, v. 43, p. 1764–1773, 2003.

WOLFE, M.S. Crop strength through diversity. **Nature**. v. 406, 2000.

WRICKE, G.; WEBER, W.E. **Quantitative genetics and selection in plant breeding**. New York: Walter de Gruyter, 1986. 406p.

**CAPÍTULO 2 IMPLICAÇÕES DA VARIÂNCIA GENÉTICA ENTRE E DENTRO DE
PROGÊNIES COM O DECORRER DA ENDOGAMIA NA
CONDUÇÃO DAS POPULAÇÕES SEGREGANTES EM PLANTAS
AUTÓGAMAS**

RESUMO

O que ocorre durante o avanço das gerações de uma planta autógama é bem conhecido quando se trata de um loco. No entanto, quando se consideram vários locos ainda necessita de mais informações. Para que essa informação possa ser obtida a principal alternativa é o uso da simulação computacional. O presente trabalho foi realizado utilizando os princípios Mendelianos, empregando o método bulk/ F_2 , considerando um grande número de genes segregando, durante algumas gerações, para se obter informações que possam auxiliar na condução dos programas de seleção de plantas autógamas. Para isso simulou-se um cruzamento bi-parental obtendo-se 2000 indivíduos na geração F_2 . A partir desses indivíduos foram obtidas 150 progênies $F_{2:3}$ com 100 indivíduos em cada. Foram realizadas 1000 simulações nas gerações F_2 , $F_{2:3}$, $F_{2:5}$ e $F_{2:8}$ considerando dois tipos de interação alélica: aditiva e dominância completa. A partir dessas simulações obteve-se a porcentagem de locos em homozigose e heterozigose, assim como a amplitude desses valores, considerando 10, 50, 100 e 200 locos para a população F_2 e 10, 50 e 100 locos para as progênies segregantes. Como era esperado, a simulação computacional evidenciou que, com “n” genes o que ocorre é semelhante ao já comprovado com um gene. Cada planta F_2 tem, em média, a mesma frequência de locos em homozigose e heterozigose que é esperada entre as plantas da população F_2 . A amplitude de variação entre o esperado e o observado reduz com o aumento do número de genes. Desta forma, a variabilidade liberada entre os descendentes de uma planta F_2 é semelhante à existente entre plantas da população F_2 . Com um grande número de locos é impossível ter todos os genótipos esperados na descendência. Desse modo, fica evidente que a população F_2 não precisa ser muito grande, pois acima de 20 locos segregando que é número muito pequeno, por exemplo, o número de indivíduos que deve ser manuseado é fora das possibilidades de qualquer programa de melhoramento. Depreende-se que quando se utiliza o método bulk dentro de F_2 , no final do processo, isto é, quando a frequência de locos em heterozigose tende para zero, tem-se uma mistura de linhagens com a mesma variabilidade da existente entre progênies e que foi explorada com a seleção. Desse modo, cabe ao melhorista decidir entre selecionar linhas puras dentro das progênies, ou selecionar somente entre as progênies optando por uma mistura de linhas puras.

Palavras-chave: Simulação Computacional; Genética Quantitativa; Bulk/ F_2

ABSTRACT

What occurs during generations advancement of an autogamous plant is well known when it comes to one locus. However, what happens when considering several loci still requires more information. To obtain this information, the main alternative is the use of computational simulation. The present work was carried out applying the Mendelian principles, using the bulk / F₂ method, considering a large number of segregating genes, for some generations, to obtain information that can help in the autogamous plant selection programs. A bi-parental crossing was made, obtaining 2000 individuals in the F₂ generation. From these individuals, 150 F_{2:3} progenies with 100 individuals were obtained. 1000 simulations were performed in the F₂, F_{2:3}, F_{2:5} and F_{2:8} generations considering two types of allele interaction: additive and complete dominance. From these simulations, the percentage of loci in homozygous and heterozygosis, as well as the amplitude of these values, considering 10, 50, 100 and 200 loci for the F₂ population and 10, 50 and 100 loci for the segregating progenies were obtained. As expected, computational simulation demonstrated with "n" genes what happens when a gene is considered. Each F₂ plant has, on average, the same frequency of loci in homozygosis and heterozygosis that is expected between plants of the F₂ population. The amplitude of variation between the expected and the observed reduces with the number of genes increase. The variability released among the offspring of an F₂ plant is similar to that between plants of the F₂ population. With a large number of loci it is impossible to have all the expected genotypes in the offspring. Thus, it is evident that the F₂ population don't need to be very large, since over 20 loci segregating, for example, the number of individuals that must be handled is out of the possibilities of any breeding program. It is understood that when using the bulk within F₂ method, at the end of the process, that is, when the frequency of loci in heterozygosity tends to zero, there is a mixture of lines with the same variability of the existing progenies has been explored with the selection. Thus, it is up to the breeder to decide between selecting pure lines within the progenies, or selecting only progenies by choosing a mixture of pure lines.

Key words: Computer Simulation, Quantitative Genetics, Bulk/F₂

1 INTRODUÇÃO

O melhoramento de plantas autógamas teve, ao longo dos anos, enorme sucesso em um grande número de espécies cultivadas (VENCOVSKY; RAMALHO, 2006; RAMALHO; DIAS; CARVALHO, 2012; GORNICKI; FARIS, 2014). O maior desafio, contudo, é continuar tendo sucesso igual ou superior ao anteriormente obtido, considerando que a produtividade das linhagens, atualmente, já é relativamente grande. Por essa razão os melhoristas têm que procurar outras alternativas para ampliar a eficiência de seus programas de melhoramento. Algumas opções estão sendo implementadas, sobretudo utilizando marcadores moleculares. Contudo, o histórico do melhoramento de plantas tem evidenciado ser possível ter sucesso utilizando os métodos convencionais de melhoramento desde que a eficiência seja ampliada.

O melhorista de plantas autógamas utiliza métodos que foram propostos há mais de 100 anos, que são o Bulk e o Genealógico (JESSEN, 1988). A partir desses métodos, outras variantes foram sugeridas há algum tempo, tais como: o Bulk dentro de progênies F_2 (FREY, 1954) e o descendente de uma única semente – single seed descendent-SSD (GOULDEN, 1939). Mais recentemente algumas estratégias, principalmente de análise dos dados, têm sido apresentadas visando a obtenção de mais sucesso com a seleção utilizando sobretudo, a análise com modelos mistos (NUNES et al., 2008; RESENDE et al., 2015; RESENDE et al., 2016).

Embora os métodos de melhoramento sejam antigos, inúmeros questionamentos são constantemente realizados, tais como: o que é preferível utilizar, mais populações em detrimento do número de indivíduos/progênies de cada população? Quantos indivíduos F_2 são necessários de cada população? E muitos outros questionamentos nos quais o conhecimento de Genética Mendeliana poderia ser aplicado. Como informações a esse respeito são ainda escassas, o que se constata é que as empresas de melhoramento realizam centenas de hibridações anualmente, e obtêm algumas dezenas de milhares de progênies. Então reduzem rápida e drasticamente esse número de progênies a serem avaliadas nos experimentos que decidem qual (is) linhagem (ens) serão recomendadas (BERNARDO, 2014). Evidentemente poder-se-ia argumentar se não teria como reduzir esse número de progênies no início sem sacrificar o sucesso com a seleção.

Nos programas de melhoramento do feijoeiro no Brasil, um dos métodos mais empregados da condução das populações segregantes é o Bulk dentro de progênies $F_{2:3}$ ou $F_{3:4}$ (RAMALHO et al., 2012). Ter informações mais detalhadas do que ocorre devido à amostragem, sobretudo dentro das progênies, com o avanço da endogamia poderá auxiliar os

melhoristas no gerenciamento mais criterioso da condução das progênes por esse procedimento.

Para responder alguns desses questionamentos uma das alternativas é utilizar-se da simulação. Nesse caso, pode-se avaliar as possíveis alternativas do melhorista em um curto espaço de tempo, o que é inviável utilizando a experimentação de campo. Do exposto, esse trabalho tem por objetivo utilizar os princípios Mendelianos, considerando um grande número de genes segregando, durante algumas gerações, utilizando simulação computacional, para se obter informações que possam auxiliar na racionalização da condução dos programas de seleção de plantas autógamas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização da simulação computacional foi utilizado o software R (R CORE TEAM, 2016) e simulado um cruzamento entre duas linhagens P_1 e P_2 homocigotas e contrastantes. Foram obtidas as gerações F_1 e F_2 . Na geração F_2 foram obtidos 2000 indivíduos. A partir destes indivíduos, foram abertas 150 progênes $F_{2:3}$, sendo cada progênie composta por 100 indivíduos. As progênes foram escolhidas aleatoriamente. As progênes foram conduzidas até $F_{2:8}$ (Figura 1). A simulação foi realizada considerando 10, 50, 100 e 200 loci envolvidos no controle genético do caráter. Para cada loco foram considerados dois graus de dominância, sem dominância e com dominância completa. Para cada evento foram realizadas 1000 simulações utilizando o simulador de Monte Carlo.

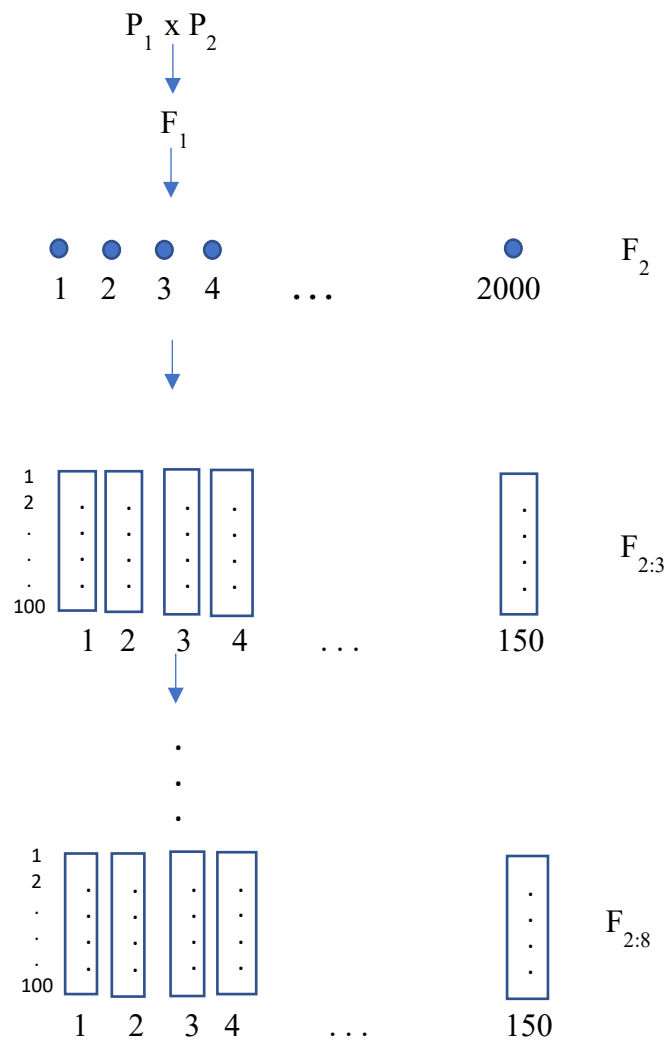
No caso da F_2 foi considerado para cada planta o número de locos em heterocigose e os dois respectivos homocigotos. Com esses números foi obtida a média das 1000 simulações e os valores máximo e mínimo para cada constituição genotípica.

Quando se utilizaram progênes derivadas de plantas F_2 , o procedimento foi semelhante ao mencionado anteriormente. Sendo obtida a porcentagem média, máxima e mínima de cada classe genotípica. No caso de progênes também foram estimadas as variâncias entre e dentro das progênes. Nesse caso, para se obter as variâncias foi utilizado o seguinte procedimento: cada indivíduo, em cada geração, tem seu genótipo armazenado, sendo que o valor 0 representa bb , o valor 1 Bb e 2 BB , em que b e B são, respectivamente, os alelos desfavorável e favorável para um dado loco. Os valores genotípicos do i -ésimo indivíduo foi obtido por:

$$g_i = \sum_m^g a_m + \sum_m^g d_m$$

em que a_m representa o efeito aditivo do m -ésimo loco, e d_m é o efeito de dominância para o m -ésimo loco. Foram consideradas duas situações para interações alélicas, ausência de dominância ($d_m = 0$) e dominância completa ($d_m = 1$). Para cada situação, os valores de d_m , ao longo dos g locos foram todos iguais. A frequência alélica foi sempre igual a 0,5.

Figura 1- Esquema de obtenção e condução das progênies conduzidas pelo método do bulk/ F_2 , considerando 2000 plantas F_2 e 150 progênies por geração.



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando do cruzamento de duas linhagens contrastantes em um único gene B, por exemplo, na geração F₂ é esperado ocorrência de 50% dos locos em homozigose (25%BB + 25%bb) e 50% dos locos em heterozigose (Bb). Quando se considera distribuição independente esse mesmo raciocínio é válido quando se tem maior número de locos segregando. Contudo, com o incremento do número de locos segregando é praticamente impossível obter todas as combinações genotípicas. Por exemplo, se estiverem segregando 50 locos, o número de genótipos diferentes em F₂ será de 3⁵⁰ e a ocorrência, por exemplo, de uma planta com todos os alelos favoráveis em homozigose é de (¼)⁵⁰. Número este que foge da imaginação dos melhoristas. Assim, constantemente é questionado qual seria o número de plantas para se ter uma boa representatividade genética em F₂.

Também, muitas vezes passa despercebido para muitos melhoristas que a variabilidade potencial (devido aos locos em heterozigose) de uma planta F₂ é, em média, a mesma que ocorre entre plantas nessa geração. Na simulação realizada esse fato foi comprovado (Tabela 1). Inicialmente observa-se que a inferência a ser realizada independe da interação alélica, ou seja, do grau médio de dominância (gmd). Portanto, todos os comentários serão focados na ausência de dominância (gmd=0).

Tabela 1- Porcentagem média de locos em homozigose e heterozigose na geração F₂ e suas amplitudes considerando diferentes números de locos e frequência alélica aigual a 0,5 Estimativas provenientes de 1000 simulações de uma população F₂ com 2000 indivíduos.

gmd=0			
Número de Locos	bb	Bb	BB
10	27,23	45,46	27,31
	(0 – 74,8) ¹	(0,15 – 95,16)	(0 – 75,18)
50	25,53	49	25,47
	(6,85 – 47,7)	(25,22 – 72,77)	(6,87 – 47,63)
100	25,26	49,50	25,23
	(11,52 – 40,82)	(32,48 – 66,56)	(11,43 – 40,75)
200	25,12	49,75	25,12
	(15,17 – 35,99)	(37,67 – 61,80)	(15,18 – 36,01)
gmd=1			
Número de Locos	bb	Bb	BB
10	27,20	45,46	27,34
	(0 – 75,44)	(0,17 – 95,19)	(0 – 75,10)
50	25,49	49,02	25,50
	(6,87 – 47,66)	(25,33 – 72,88)	(6,93 – 47,64)
100	25,22	49,51	25,28
	(11,44 – 40,71)	(32,54 – 66,6)	(11,48 – 40,89)
200	25,12	49,75	25,13
	(15,08 – 35,95)	(37,71 – 61,89)	(15,12 – 35,99)

¹ Valores referentes à amplitude de variação das estimativas.

Observa-se na Tabela 1 que o número médio de locos em heterozigose em cada planta é bem próximo do esperado quando se tem apenas um loco segregando, como já comentado. Isto é, 50% dos locos em cada planta são esperados em heterozigose. A estimativa se aproxima cada vez mais do esperado com o incremento no número de genes. Com dez locos a média é de 45,46, já com 200 locos passa para 49,75.

Observa-se também que com o aumento do número de locos segregando, a amplitude de variação da porcentagem de locos em heterozigose ou em homozigose diminui acentuadamente. Depreende-se que quanto maior o número de locos segregando, não só se aproxima mais do esperado, como o efeito de amostragem vai se reduzindo. Assim, cada planta F_2 tem o mesmo potencial de variabilidade que entre plantas desta geração como já mencionado, e essa observação mais se aproxima do que é esperado com o incremento dos locos segregando.

Supondo que o alelo favorável seja o B, na F_2 , $\frac{3}{4}$ dos indivíduos terão esse alelo. Com o aumento do número de locos segregando a proporção de plantas com pelo menos um dos alelos favoráveis em todos os locos diminui. Seja, novamente, 50 locos segregando, a proporção de plantas com o alelo desejável será de $(\frac{3}{4})^{50}$, isto é, um indivíduo em 1.765.780,9 na população F_2 .

Deve-se lembrar, novamente, que foram consideradas duas mil plantas, repetidas mil vezes, ou seja, em dois milhões (2000 x 1000) de oportunidades não ocorreu nenhuma planta sem locos do tipo bb. É preciso salientar que a probabilidade de 1 em 1.765.780,9 é a esperada, ao passo que a apresentada na tabela 1 é a frequência observada. Se for considerada a probabilidade do evento de ter todos os locos com pelo menos um alelo favorável, com 95% de probabilidade de ocorrer, esse número passa a ser 5,28 milhões de plantas, bem superior a dois milhões que foi a amostragem realizada na simulação. O comentário realizado anteriormente fica ainda mais evidente que é impossível obter uma população F_2 que tenha, pelo menos, um indivíduo com todos os alelos favoráveis nos 50 locos.

Os melhoristas, evidentemente, devem estar cientes que, se o caráter é controlado por muitos genes, o melhoramento deverá ser realizado por etapas. Todo o sucesso obtido no melhoramento genético das plantas, do início da domesticação até os dias atuais é uma prova de que o melhoramento é uma acumulação de vantagens nos sucessivos ciclos seletivos (RAMALHO et al., 2012; BERNARDO, 2010; CARVALHO et al., 2014). Existem estimativas que durante os mais de 10000 anos de domesticação/melhoramento genético o homem conseguiu “manusear” em uma espécie como o milho, que foi muito selecionada ao longo do tempo, aproximadamente 2000 genes (MEYER; PURUGGNAN, 2013). Ou seja, menos de 10% dos locos que a espécie possui.

Se a probabilidade para manter os indivíduos B_+ é pequena já na geração F_2 , nas demais gerações de endogamia é ainda menor (BOS; CALIGARI, 1995; RAMALHO et al., 2012). Do exposto, mesmo que se use uma população enorme em F_2 , esse número será insuficiente em gerações futuras. Assim, não adianta imaginar ser possível trabalhar e ter sucesso com um

número de locos superior a 20, por exemplo. Nessa situação a população F_2 não precisa ser grande. Ela deve gradualmente crescer nas gerações futuras.

Poder-se-ia argumentar que com uma maior população F_2 teria chance de ser realizada seleção massal. A literatura mostra que a seleção massal em gerações precoces só funciona para caracteres de alta herdabilidade (BERNARDO, 1991). Nesse caso, o número de locos segregando deve ser pequeno. Além do mais, se a seleção é realizada em F_2 , a chance de que o indivíduo selecionado seja heterozigoto para a maioria dos locos é grande, sobretudo se o caráter tiver alguma dominância. Assim, no contexto da seleção de linhagens, o avanço com essa seleção precoce seria desprezível.

Do exposto, não adianta a população F_2 ser muito grande porque a chance de se obter uma planta já com todos os locos com alelo favorável, só é viável para um pequeno número de genes. Deve ficar explícito que se a planta F_2 não tem todos os alelos favoráveis é evidente que nenhuma das 2000 plantas utilizadas para representar a população também não terão todos os locos com pelo menos um dos alelos favoráveis.

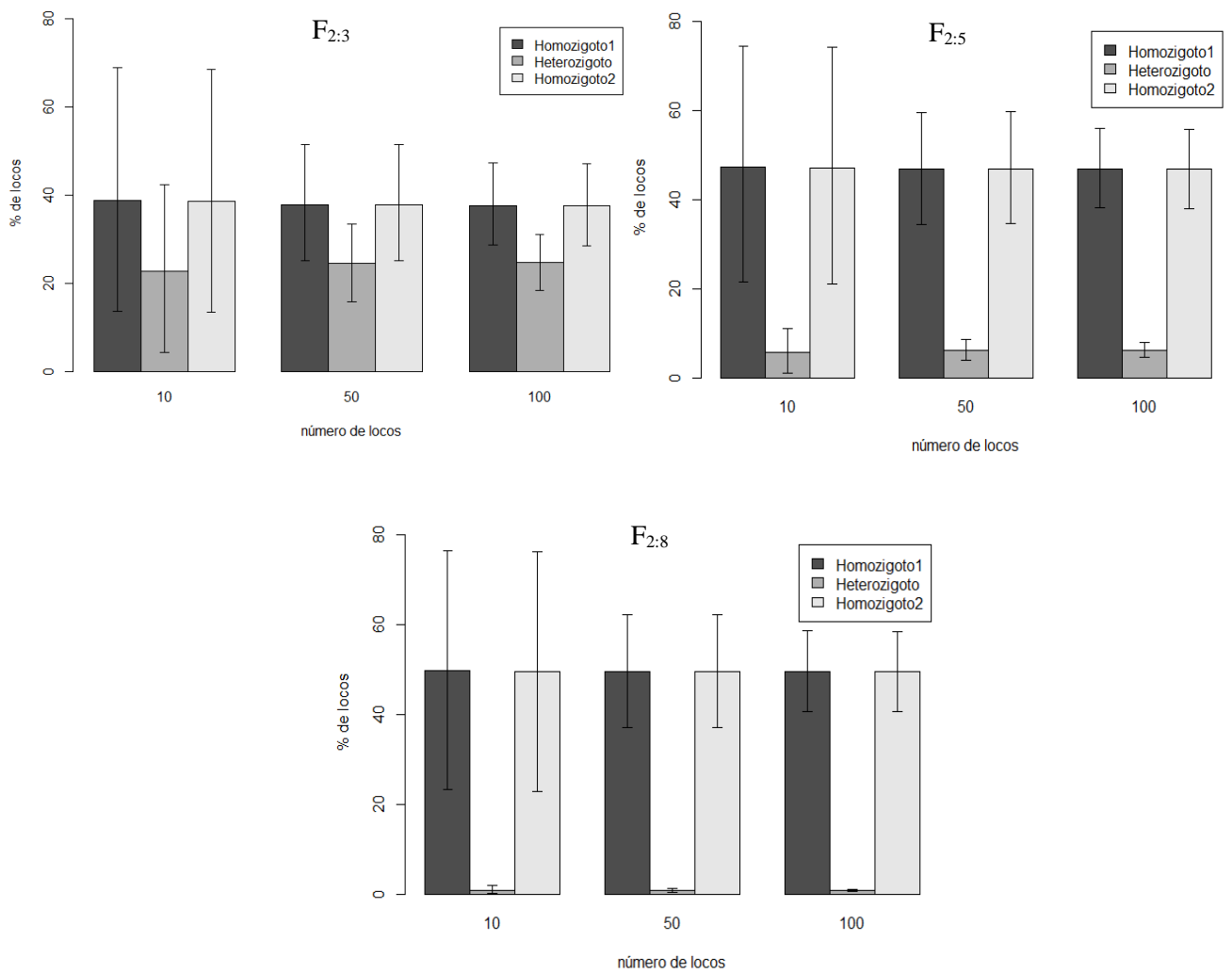
Os melhoristas, de modo geral, estão conscientes, pelo menos em princípio, dos resultados obtidos com a simulação na geração F_2 . Cooper (1988) no programa de melhoramento de soja, menciona que realizava 100 cruzamentos/ano e de cada cruzamento utilizava 300 plantas na geração F_2 . Contudo, avançava 30 progênies/cruzamento com 1 repetição, parcela útil de 2,5m, ou seja, aproximadamente 750 plantas por população na geração F_3 . Em princípio, essa última amostragem é mais drástica do que a da geração F_2 . Mais recentemente, há relatos de que os grandes programas de melhoramento de soja avaliam 200 populações F_2 , avança-se em bulk até F_4 e avalia-se em média 350 progênies/cruzamento (BERNARDO, 2014). O que também é uma amostragem mais drástica. Esse procedimento, assim como o SSD, se preocupa muito com a amostragem entre plantas F_2 e praticamente despreza, como já mencionado, a variabilidade potencial dentro da planta que é igual à entre, como mostrado na tabela 1 e Figura 2.

No caso do programa de Seleção Recorrente conduzido na Universidade Federal de Lavras (UFLA), para produtividade de grãos no feijoeiro, na população segregante " F_2 "= S_0 , o número de indivíduos é grande, aproximadamente 2000 e posteriormente são retiradas de 300 a 500 progênies $F_{2,3}$, que são avaliadas em experimentos com duas repetições e 30 plantas/parcela, ou seja, de 18000 a 30000 plantas, número grande de plantas para representar a população do ciclo de seleção recorrente (RAMALHO et al., 2012).

Quando se avalia a porcentagem de locos em heterozigose dentro das progênies, o mesmo comportamento de liberação da variabilidade é observado. Ou seja, a porcentagem de

locos em heterozigose vai diminuindo com o decorrer da endogamia. Além disso a amplitude de variação também diminui com o aumento do número de locos avaliados (figura 2).

Figura 2- Porcentagem de locos em homozigose e heterozigose e suas amplitudes de variação dentro de progênies $F_{2:3}$, $F_{2:5}$ e $F_{2:8}$, considerando 10, 50 e 100 locos segregando e frequência alélica de 0,5. Estimativas provenientes de 1000 simulações, 150 progênies e 100 indivíduos por progênie.



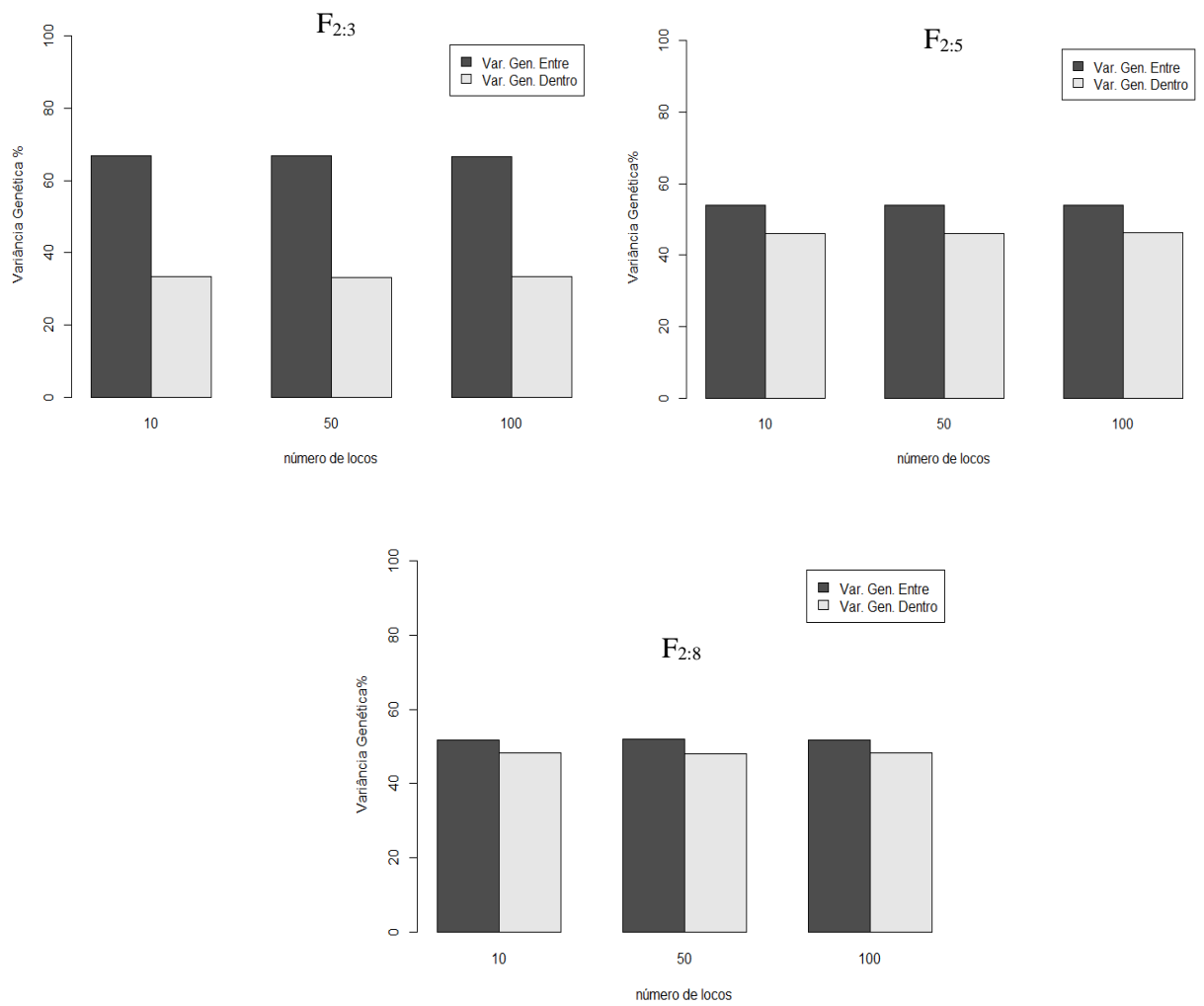
Com o decorrer da endogamia, outro fato que vale ser ressaltado é que, com a liberação da variabilidade, a variância genética média entre e dentro de progênies tende a se igualar, considerando uma amostragem semelhante. A partir de $F_{2.5}$ a variabilidade genética média dentro das progênies foi equivalente ao que ocorre entre as progênies (Figura 3). Depreende-se que quando se utiliza o método bulk dentro de F_2 , no final do processo, isto é, quando a frequência de locos em heterozigose tende para zero, tem-se uma mistura de linhagens com a mesma a variabilidade da existente entre progênies e que foi explorada com a seleção. É como se o melhorista tivesse conduzido cada população F_2 utilizando n bulks diferentes, ou seja, a variabilidade entre e dentro é muito mais explorada.

Como já mencionado, por esse método, cada progênie corresponde a um bulk, pelas razões já expostas. A cada geração são identificados os melhores bulk's de progênies. Após $F_{2.6}$ ou $F_{2.7}$ irá restar um pequeno número de progênies identificadas como de melhor performance. Mais recentemente tem sido proposto o emprego de metodologias, sobretudo usando modelos mistos, para selecionar as progênies utilizando todas as gerações. Assim procedendo, não só a escolha dos bulk's de progênies é mais criteriosa, pois envolverá além do parentesco entre gerações, número maior de repetições na estimativa das médias. Adicionalmente, o efeito da interação por ambiente/safra pode ser mitigada (RESENDE et al., 2015; RESENDE, 2016; SILVA et al., 2017; PEREIRA et al., 2017). Depreende-se que se for destinado igual recurso ao direcionado à seleção entre progênies na gerações anteriores, à seleção dentro a partir das gerações $F_{2.6}$ ou $F_{2.7}$, o ganho certamente será maior, pois, a média dos bulk's mantidos deve ser mais alta.

É possível visualizar que a variação dentro das progênies na $F_{2.X}$, sendo X uma geração mais avançada, como por exemplo F_6 ou F_7 , que é comum no programa de melhoramento do feijoeiro (AMARO et al., 2007; SILVA et al., 2010; RESENDE et al., 2015) tem-se variabilidade maior que a existente entre, porque nesse caso, a seleção entre é normalmente realizada a cada geração de endogamia. Mesmo que seja aplicada uma pequena intensidade de seleção em cada geração, como por exemplo, 50% de seleção, na geração $F_{2.7}$ a intensidade de seleção total será de $(1/2)^4 = 1/16$, ou seja, 6,25%. Assim, desde que os experimentos sejam precisos, certamente os bulk's de progênies que ficarem deverão ser os com melhor desempenho. Adicionalmente, deve-se considerar a possível ocorrência da seleção natural dentro de cada bulk. Esse fato tem sido constatado quando se conduz as populações utilizando o método bulk tradicional para alguns caracteres como produtividade (ALLARD, 1988, GONÇALVES et al., 2001; CORTE et al., 2002; PIROLA et al., 2002). Depreende-se que a

variabilidade deve ser maior dentro do que entre, associado a uma maior média para a seleção entre as linhagens dentro de cada bulk/progênie.

Figura 3- Estimativas da variância genética entre e dentro de progenies $F_{2:3}$, $F_{2:5}$ e $F_{2:8}$ ($gmd=0$), para 10, 50 e 100 locos, considerando 150 progênies e 100 indivíduos por progênie.



4 CONCLUSÕES

A simulação computacional evidenciou com “n” genes o que é esperado quando se considera um gene. Cada planta F_2 tem, em média, a mesma frequência de locos em homozigose e heterozigose que é esperada entre as plantas da população F_2 . A amplitude de variação entre o esperado e o observado reduz com o aumento do número de genes. Desta forma, a variabilidade que será liberada entre os descendentes de uma planta F_2 é semelhante à existente entre plantas da população F_2 .

Com um grande número de locos é impossível ter todos os genótipos esperados na descendência. Desse modo, fica evidente que a população F_2 não precisa ser muito grande, pois acima de 20 locos segregando, por exemplo, o número de indivíduos que deve ser manuseado é fora das possibilidades de qualquer programa de melhoramento.

Depreende-se que quando se utiliza o método bulk dentro de F_2 , no final do processo, isto é, quando a frequência de locos em heterozigose tende para zero, tem-se uma mistura de linhagens com a mesma a variabilidade da existente entre progênies e que foi explorada com a seleção. Desse modo, cabe ao melhorista decidir entre selecionar linhas puras dentro das progênies, ou se selecionar somente entre as progênies optando por uma mistura de linhas puras (multilinha).

REFERÊNCIAS

- ALLARD, R.W. Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. **Journal of heredity**, v. 79, p.225-238, 1988.
- AMARO, G. B. et al. Phenotypic recurrent selection in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with carioca-type grains for the resistance to the fungi *Phaeoisariopsis griseola*. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 3, p. 584-588, 2007.
- BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Woodbury: Stemma Press, 2010. 390 p.
- BERNARDO, R. **Essentials of Plant Breeding**. Woodbury:Stemma Press, 2014. 252 p.
- BERNARDO, R. Correlation between tests cross performance of lines at early and last selfing generation. **Theoretical Applied Genetics**, v.82, p.17-21,1991.
- BOS, I.; CALIGARI, P. **Selection methods in plant breeding**. London: Chapman e Hall, 1995. 34 p.
- CARVALHO, B. L. et al. **Síndrome da domesticação das plantas cultivadas**. Ed1.Lavras, FUNDECC, 2014. 42p.
- COOPER, R. L. Mejoramento por rendimento em soya: prueba generacion temprana y adaptacion especifica a ambientes de alto rendimento versus ambientes de bajo rendimento. In S. Bebes (Ed.) **Temas actuales en mejoramento del frijol**, Cali: CIAT, 1988, 323 p.
- CORTE, H. R. et al. Natural selection for grain yield in dry bean populations bred by the bulk method. **Euphytica**, v.123, p. 387–393, 2002.
- FREY, K. J. The use of F₂ lines in predicting the performance of F₃ selections in two barley crosses. **Agronomy Journal**, v. 46, p. 541-544, 1954.
- GONÇALVES, F. M. A.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Natural selection in four common bean traits. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 3, p. 213-220, 2001.
- GORNICK, P; FARIS, J. D. Rewiring the wheat reproductive system to harness heterosis for the next wave of yield improvement. **PNAS**, v.11, n. 25, 2014.
- GOULDEN, C. H. Problems in plant selection. In: **Proceedings of the Seventh International Genetics Congress**, Cambridge University Press, 1939. 133p.
- JENSEN, N. F. **Plant breeding methodology**. John Wiley & Sons, Inc., 1988.
- MEYER, R. S.; PURUGGANAN. M. D.; Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. **Nature reviews genetics** n. 12, v.14 p.840-852, 2013.

NUNES, J. A. R.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; Inclusion of genetic relationship information in the pedigree selection method using mixed models. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, n. 31, v. 1, p. 73-78, 2008.

PEREIRA F. C. Et al Implications of the population effect in the selection of soybean progeny. *Plant Breed*, v. 136, p.679–687, 2017.

PIROLA, L.H.; RAMALHO, M.A.P.; CARNEIRO, J.E.S.; ABREU, A.F.B. Natural selection and family X location interaction in the common (dry)bean plant. **Genetics and Molecular Biology**, v.25, n. 3, p.343-347, 2002.

R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL<https://www.R-project.org/>.

RAMALHO, M.A.P. et al. **Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**.(Ed.)UFLA, 2012. 522 p.

RAMALHO, M.A.P.; DIAS, L.A. dos S.; CARVALHO,B.L. Contributions of plant breeding in Brazil – progress and perspectives. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** v.S2, p.111-120, 2012.

RESENDE, M. D. V. et al. Multigeneration index in the within-progenies bulk method for breeding of self-pollinated plants. **Crop Science**, v. 55, p. 1202, 2015.

RESENDE, M.D.V. et al. Selection index with parents, populations, progenies and generations effects in autogamous plant breeding. **Crop Science**, v. 56, p. 530-546, 2016.

SILVA,F. et al. **Melhoramento da soja**. Viçosa, (MG): Ed. UFV,2017. 563p.

SILVA, G. S. et al. Estimation of genetic progress after eight cycles of recurrent selection for common bean grain yield. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 351-356, 2010.

VENCOVSKY,R.; RAMALHO, M.A.P. Contribuições do melhoramento de plantas no Brasil. In: PATERNIANI,E. (Ed.) **Ciência, Agricultura e Sociedade**, Brasília: EMBRAPA, p.41-74, 2006.

CAPÍTULO 3 VARIABILIDADE PARA RESISTÊNCIA AOS PATÓGENOS CAUSADORES DA MANCHA ANGULAR (*Pseudocercospora griseola*) E ANTRACNOSE (*Colletotrichum lindemuthianum*) DO FEIJOEIRO, ENTRE E DENTRO DE PROGÊNIES COM DIFERENTES NÍVEIS DE ENDOGAMIA.

RESUMO

No programa de seleção recorrente (SR) do feijoeiro conduzido pela Universidade Federal de Lavras (UFLA), a seleção é sempre direcionada para a produtividade e aspecto de grãos. Não se tem informações a respeito da variação entre e dentro de progênies com relação aos dois patógenos mais importantes da cultura na região, *Pseudocercospora griseola*, causador da mancha angular (MA) e *Colletotrichum lindemuthianum* responsável pela antracnose (AT). Os objetivos com esse trabalho foram verificar se existe variabilidade entre as plantas S_0 , e dentro das progênies dessas plantas com relação à resistência a *P. griseola* e *C. lindemuthianum*; inferir se as plantas S_0 eram, ou não, heterozigotas para os possíveis locos de resistência aos dois patógenos; e verificar se a frequência das plantas resistentes varia em função da geração da abertura do bulk. Essas informações são fundamentais para definir a estratégia na condução dos futuros ciclos de seleção recorrente. Foram utilizadas progênies do décimo quarto ciclo (C.XIV) da SR. De cada uma das dez progênies $S_{0:2}$ identificadas como mais produtivas na geração $S_{0:1}$, foram colhidas dez plantas, progênies $S_{2:3}$, que foram armazenadas em câmara fria. O restantes das plantas continuaram sendo avançadas até $S_{0:5}$, quando foi aplicado o mesmo procedimento anterior, sendo obtidas progênies $S_{5:6}$. As 100 progênies $S_{2:3}$ e as 100 $S_{5:6}$ foram multiplicadas por sucessivas gerações sendo obtidas progênies $S_{2:7}$ e $S_{5:9}$. Em experimentos separados para cada patógeno, os descendentes dessas progênies foram avaliados. As plântulas foram inoculadas com o isolado da raça 63-63 de *P. griseola* e da raça 65 de *C. lindemuthianum*. A partir das notas obtidas foram realizadas as análises de variância e estimados os parâmetros genotípicos e fenotípicos. Constatou-se que as progênies de SR da UFLA, C.XIV, têm variabilidade com relação à resistência aos dois patógenos avaliados, *P. griseola* e *C. lindemuthianum*. Essa variabilidade é detectada tanto entre plantas da população como entre descendentes de algumas plantas S_0 , indicando que elas, provavelmente eram heterozigóticas. A frequência de progênies/plantas resistentes aos dois patógenos na população é alta, mesmo a seleção não tendo sido realizada especificamente para esses patógenos nos ciclos anteriores. O momento de abertura do bulk não altera expressivamente a variabilidade para reação aos dois patógenos.

Palavras-chave: Mancha Angular; Antracnose; Seleção Recorrente

ABSTRACT

In the recurrent bean selection (RS) program conducted by UFLA, the selection is always directed to productivity and grain type. There is no information about the variation among and within progenies concerning the two most important pathogens of the culture in the region, *Pseudocercospora griseola*, causing the angular leaf spot (ALS) and *Colletotrichum lindemuthianum* responsible for anthracnose (AT). The objectives with this work were to verify if there is variability among S_0 plants, and within the progenies of these plants with when evaluating the resistance to *P. griseola* and *C. lindemuthianum*, to infer if the S_0 plants were or not heterozygous for the possible resistance to the two pathogens; and to verify if the resistant plants frequency varies as a function of the moment of bulk opening. This information is essential as a strategy in the future recurrent selection cycles conduction. Progenies from the fourteenth cycle (C.XIV) of RS were used. From each of the ten $S_{0:2}$ progenies identified as most productive in the $S_{0:1}$ generation, ten plants were harvested individually, progenies $S_{2:3}$, and stored in a cold chamber. The remaining plants continued to be advanced to $S_{0:5}$, when the same procedure was applied, and $S_{5:6}$ progenies were obtained. The 100 $S_{2:3}$ progenies and the 100 $S_{5:6}$ progenies were multiplied by successive generations and $S_{2:}$ and $S_{5:8}$ progenies were obtained. In separate experiments for each pathogen, the offspring of these progenies were evaluated. The seedlings were inoculated with the isolate of the race 63-63 of *P. griseola* and of the race 65 of *C. lindemuthianum*. The analyzes of variance were performed and the genotypic and phenotypic parameters were estimated. It was found that the RS progenies, C.XIV, have variability with regarding the resistance to the two evaluated pathogens, *P. griseola* and *C. lindemuthianum*. This variability is detected both among plants within populations and among descendants of some S_0 plants, indicating that they were probably heterozygous. The frequency of progenies / plants resistant to both pathogens in the population is high, even though the selection was not performed specifically for these pathogens in previous cycles. The opening moment of the bulk does not significantly affect the occurrence severity of the two pathogens.

Key words: Angular Leaf Spot, Anthracnose; Recurrent Selection

1 INTRODUÇÃO

Entre os estresses bióticos que ocorrem na cultura do feijoeiro, a mancha angular (MA), causada pelo fungo *Pseudocercospora griseola*, e a antracnose (AT), fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, se destacam reduzindo acentuadamente a produtividade de grãos (BARBOSA; GONZAGA, 2012; GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2016). A principal forma de controle dessas doenças é o uso de cultivares resistentes (MIKLAS et al., 2006; COSTA et al., 2017). Contudo, a obtenção dessas cultivares é dificultada pela existência de variabilidade nos dois patógenos (SARTORATO; ALZATE-MARIN, 2004; PEREIRA et al., 2015; RIBEIRO et al., 2016; ZUIDERVEEN et al., 2016; COSTA et al., 2017). Especialmente no caso de *C. lindemuthianum*, o controle genético vem sendo muito estudado e mostra que estão envolvidos vários genes (COELHO et al., 2013; FERREIRA; CAMPA; KELLY, 2013; GONZÁLEZ et al., 2015; COSTA et al., 2017). Para *P. griseola*, informações sobre o controle genético são mais escassas, mas as evidências disponíveis apontam que o controle genético é, também, devido a muitos genes (SILVA et al., 2008; MAHUKU et al., 2009; PEREIRA et al., 2015; SOUZA et al., 2016).

Na região do Sul de Minas Gerais/Campo das Vertentes, é conduzido um programa de seleção recorrente para a produtividade e tipo de grãos do feijoeiro desde 1990 (SILVA et al., 2010). Nesse programa, as progênies são avaliadas nas gerações $S_{0:1}$ e $S_{0:2}$ e recombinadas as melhores na geração $S_{0:3}$. Na recombinação, além das melhores progênies, são incluídas algumas cultivares/linhagens que se destacaram em outros programas de seleção, em função do aspecto do grão, do tipo de planta e também da resistência a patógenos. Nas avaliações realizadas, a ocorrência de patógeno não tem sido rotineiramente utilizada como critério seletivo. Assim, não se tem informação do comportamento da população dos últimos ciclos, com relação à resistência à *P. griseola* e *C. lindemuthianum*. Também não se tem informação se a frequência das plantas resistentes e suscetíveis ocorre de acordo com o esperado, pela segregação.

Na condução das populações segregantes é utilizado o método do Bulk/ F_2 ou S_0 . Mesmo após a recombinação, as progênies derivadas das plantas S_0 continuam sendo avaliadas. As melhores progênies passam então para os experimentos de Valor de Cultivo e Uso (VCU). Como o método é o do Bulk/ S_0 , a cultivar recomendada é, provavelmente, constituída por uma mistura de linhas puras.

Do exposto, foi realizado o presente trabalho com o objetivo de verificar se existe variabilidade entre as plantas S_0 , e dentro das progênies dessas plantas com relação à resistência

a *P. griseola* e *C. lindemuthianum*; inferir se as plantas S_0 eram, ou não, heterozigotas para os possíveis locos de resistência aos dois patógenos; e verificar se a frequência da plantas resistentes varia em função do momento da abertura do bulk. Essas informações são fundamentais como estratégia na condução dos futuros ciclos de seleção recorrente.

2 MATERIAL E MÉTODOS

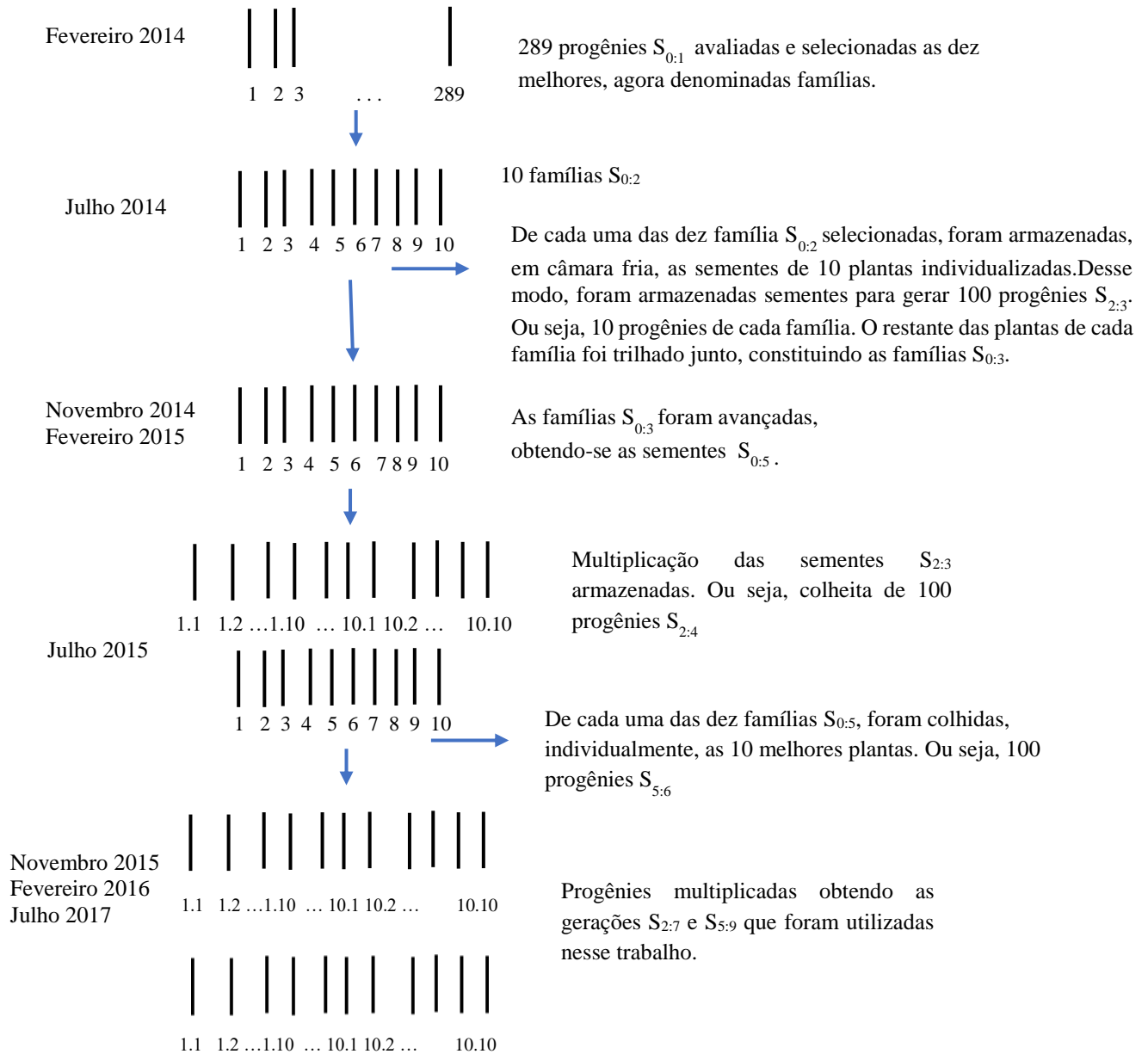
2.1 Obtenção e condução das famílias e progênies

Foi utilizada uma população segregante oriunda do programa de seleção recorrente (SR) para a produtividade de grãos do tipo carioca conduzido pela UFLA. Os detalhes de como foi obtida a população original e conduzidos onze ciclos de seleção são apresentados por Silva et al. (2010). Para a obtenção do CXIV, foram recombinadas vinte progênies, sendo dez do programa de seleção recorrente para produtividade, cinco do programa de seleção recorrente para porte ereto e cinco de seleção recorrente para resistência à mancha angular. Todos esses programas de SR são conduzidos pela UFLA. Essas 20 progênies foram cruzadas em um sistema semelhante ao de “Topcross”. As sementes híbridas obtidas foram misturadas, constituindo a população S_0 do CXIV. Dessa população S_0 foram colhidas 289 plantas individualmente, progênies $S_{0:1}$, que foram avaliadas na safra seguinte, semeadura em fevereiro de 2014, em Lavras.

Em julho de 2014 foram avaliadas 100 progênies $S_{0:2}$, entre elas, as dez progênies (famílias) mais produtivas foram escolhidas para a condução deste trabalho. No campo, de cada uma dessas dez progênies selecionadas foram colhidas, individualmente, 10 plantas, progênies $S_{2:3}$. O restante foi misturado, progênies $S_{0:3}$. As 100 progênies $S_{2:3}$ foram armazenadas e as $S_{0:3}$ continuaram sendo avaliadas. Esse procedimento foi repetido até a geração $S_{0:5}$. Após a geração $S_{0:5}$, foram retiradas 10 plantas dentro de cada progênie, ou seja, progênies $S_{5:6}$. As sementes das progênies “ $S_{2:3}$ ” que estavam armazenadas foram multiplicadas, durante a última safra da condução do bulk (Figura 1).

As 100 progênies $S_{2:4}$ juntamente com as 100 progênies $S_{5:6}$ foram multiplicadas por três safras, até chegar em progênies $S_{2:6}$ e $S_{5:8}$. Seus descendentes, progênies $S_{2:7}$ e $S_{5:9}$ foram avaliadas quanto à resistência a mancha angular e antracnose (Figura 1).

Figura 1- Etapas realizadas até a obtenção das sementes das progêneses $S_{2:7}$ e $S_{5:9}$ utilizadas nas avaliações dos patógenos.



Para facilitar o entendimento, os indivíduos oriundos das plantas S_0 foram denominados de famílias. As plantas colhidas individualmente dentro de cada família foram denominadas de progêneses dentro da família (progêneses/família_n).

2.2 Obtenção do inóculo e preparo da suspensão de *P. griseola*

Para o preparo da suspensão de conídios, discos de micélio da colônia do isolado de *P. griseola* da raça 63-63, uma das mais importantes na região, foram replicados para tubos de ensaio contendo meio BDA (batata- dextrose- ágar) e mantidos à temperatura de 24°C na incubadora (BOD), por um período de 12 dias, com fotoperíodo de 12 horas. Para a obtenção da suspensão de conídios raspou-se a superfície da colônia formada na placa com o auxílio de um pincel e água destilada estéril. Em seguida, a suspensão foi filtrada através de uma camada de gaze. A partir desta suspensão os conídios foram contados em câmara de Neubauer para padronização da concentração de inóculo para 2×10^4 conídios/ml (PEREIRA et. al., 2011).

2.3 Obtenção do inóculo e preparo da suspensão de *C. lindemuthianum*

Isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*, raça de maior frequência na região, foram utilizados na inoculação artificial do patógeno nas plantas de feijoeiro. Para a obtenção dos esporos foi seguida a metodologia descrita por Costa et al. (2017), sendo cada isolado crescido em meio de cultura M3S em placas de Petri e replicados em tubos de ensaio contendo vagens parcialmente imersas em meio ágar, já previamente autoclavados. Os tubos foram incubados de 10 a 15 dias, à temperatura de 22°C em BOD.

A preparação do inóculo foi realizada com adição de água destilada nos tubos e posterior raspagem da superfície de cada vagem com alça de platina. Em seguida, a suspensão dos conídios foi filtrada com gaze e feita a contagem dos conídios através de uma câmara de Neubauer em microscópio de luz. A concentração do inóculo foi padronizada para $1,2 \times 10^5$ conídios ml^{-1} , sendo esta uma concentração satisfatória para ocorrência da antracnose, como comprovado por Davide e Souza (2009).

2.4 Detalhes experimentais

Tanto para avaliação de *P. griseola* como de *C. lindemuthianum*, foram adotados os mesmos procedimentos experimentais. As sementes S_{2:7} e S_{5:9} foram semeadas em bandejas de poliestireno contendo substrato. O delineamento experimental adotado foi blocos casualizados com duas repetições. Cada parcela foi constituída por nove plântulas. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação com umidade controlada.

Em ambos os casos testemunhas resistentes e suscetíveis foram incluídas. No caso de mancha angular, a linhagem ‘MAIII-16.159’ (MAIII), como padrão de resistência, e a cultivar ‘Rosinha’ como padrão de suscetibilidade, além das cultivares ‘Pérola’ e ‘Carioca’, que são rotineiramente utilizadas como testemunhas. Para a antracnose, a cultivar ‘Ouro Negro’ foi referência de resistência e a ‘Pérola’ e ‘Carioca’ foram utilizadas como cultivares suscetíveis.

No experimento de MA, as plântulas foram inoculadas com o isolado da raça 63-63 de *P. griseola*, após a expansão das folhas cotiledonares (estágio V2), pulverizando-se ambas as faces das folhas até o ponto de escorrimento. Posteriormente, as bandejas foram levadas para casa de vegetação. Após quinze dias da inoculação, as plântulas foram avaliadas visualmente quanto à severidade de mancha-angular. Foi utilizada uma escala descritiva de notas de 1 a 9 proposta por Librelon et al., 2015. De acordo com a escala de notas: 1- ausência de lesões; 2 - 0,1 a 0,5% de área com lesões; 3 - 0,6 a 4,0% de área com lesões; 4 - 4,1 a 7,0% de área com lesões; 5 - 7,1 a 16% de área com lesões; 6 - 16,1 a 26% de área com lesões; 7 - 26,1 a 32% de área com lesões; 8 - 32,1 a 38% de área com lesões; 9 - 38,1 a 60% de área com lesões.

No experimento com AT, as suspensões de conídios foram inoculadas após a expansão completa das folhas cotiledonares, pulverizando-se ambas as faces das folhas e os talos com borrifador até o ponto de escorrimento. Após as inoculações, as plantas foram mantidas em câmara de nebulização a 22°C com 95% de umidade e fotoperíodo de 12 horas por 48 horas. Posteriormente, as bandejas foram levadas para casa de vegetação e após sete dias, cada planta foi avaliada visualmente de acordo com a escala descritiva de notas de 1 a 9 proposta por Schoonhoven e Pastor-Corrales (1987). As plantas foram classificadas como resistentes (notas de 1 a 3) e suscetíveis (notas de 4 a 9).

2.5 Análises dos dados

As médias das notas por parcela, por geração, foram submetidas à análise de variância segundo procedimento apresentado por Steel, Torrie e Dickey (1997). Adotou-se o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + b_j + e_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} : é o valor observado relativo à parcela que recebeu o tratamento i no bloco j .

μ : é a média geral;

t_i : é o efeito do tratamento (progênes) i ($i = 1, 2, \dots, T$), sendo que os tratamentos foram desdobrados entre famílias e entre progênes dentro de cada família;

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

e_{ij} : é o erro experimental ($e_{ij} \sim n(0 \text{ e } \sigma^2)$);

Para cada caso foi estimada a acurácia seletiva (r_{gg}) pela seguinte expressão (RESENDE, 2007):

$$r_{gg} = \sqrt{1 - \frac{1}{F}}$$

em que:

F: Valor do teste F de Snedecor para o efeito de tratamentos na análise de variância.

Para estimativa da herdabilidade (h^2) para a seleção na média das progênes a partir da análise de variância, utilizou-se o seguinte estimador (RAMALHO et al., 2012):

$$h^2 = \frac{QMP - QME}{QMP}$$

Em que, QMP e QME correspondem às estimativas dos quadrados médios de progênes e do erro experimental, respectivamente, obtidas nas análises de variância dos dados.

Os erros associados à estimativa de h^2 foram estimados utilizando a expressão de Knapp et al.(1985):

$$LI = \left\{ 1 - \left[\left(\frac{Q_1}{Q_2} \right) F_{1-\alpha/2} (GL_{ERRO}; GL_{Prog\hat{e}nie}) \right]^{-1} \right\}$$

$$LS = \left\{ 1 - \left[\left(\frac{Q_1}{Q_2} \right) F_{\alpha/2} (GL_{ERRO}; GL_{Prog\hat{e}nie}) \right]^{-1} \right\}$$

Sendo, LI: Limite inferior, LS: Limite superior; Q_1 : Quadrado Médio de progênie; Q_2 : Quadrado Médio do erro; α : nível de probabilidade (5%); F : valor tabelado.

3 RESULTADOS

Os resumos das análises de variância (ANAVAs) das notas de severidade dos dois patógenos – *P. griseola* e *C. lindemuthianum* – são apresentadas na Tabela 1. As estimativas da acurácia ($r_{gg'}$) foram superiores a 0,96, indicando uma alta precisão experimental na avaliação dos dois patógenos. Diferenças significativas entre os tratamentos ocorreram para os dois patógenos, condição essa indispensável para o que se propunha nessa pesquisa. Como era esperado, em ambos os casos, foi detectada diferença significativa entre as testemunhas, pois foram escolhidas em função da divergência de reação ao patógeno.

Tabela 1 – Resumo das Análises de Variância das notas de severidade dos agentes causais da Mancha Angular e Antracnose, nas gerações S_{2:7} e S_{5:9} do programa de seleção recorrente. Lavras, 2017.

FV	GL	Mancha Angular		Antracnose	
		S _{2:7}	S _{5:9}	S _{2:7}	S _{5:9}
		QM	QM	QM	QM
Repetição	1	0,03	0,42	4,21	0,56
Tratamento	101 ^a ;100	3,30**	3,26**	18,55**	25,15**
Entre Testemunhas	3 ^a ;2	17,59**	16,84**	39,78**	42,00**
Test. Vs Progênes	1	8,11**	8,94**	0,25	6,16
Entre Progênes ^b	97	2,80**	2,79**	18,30**	25,00**
Entre Famílias	9	23,15**	19,23**	98,04**	162,37**
Entre Progênes/Família 1	9	3,32**	6,00**	15,66**	8,82**
Entre Progênes/Família 2	8	0,07	0,08	14,07**	26,39**
Entre Progênes/Família 3	9	0,10	3,15*	7,84**	11,90**
Entre Progênes/Família 4	9	1,33**	0,87*	8,09**	6,90**
Entre Progênes/Família 5	9	0,70**	0,20	16,62**	17,80**
Entre Progênes/Família 6	9	0,18	0,04	6,29**	14,80**
Entre Progênes/Família 7	9	0,32	0,11	20,16**	20,00**
Entre Progênes/Família 8	8	0,11	0,04	0,66	3,56**
Entre Progênes/Família 9	9	0,10	0,04	7,00**	0,10
Entre Progênes/Família 10	9	0,85*	0,29	4,43**	0,12
Erro	101 ^a ;100	0,23	0,15	1,56	1,25
r _{gg} '		0,96	0,98	0,96	0,98

^aNúmero de GL para o experimento com mancha angular; ^b Consideram-se todas as progênes de todas as famílias. **Teste F significativo ao nível de 1% de probabilidade. * Teste F significativo ao nível de 5% de probabilidade

Os resultados mais expressivos foram a diferença significativa entre as famílias ($P \leq 0,01$) e também o fato de que a resposta entre progênes dentro de cada família, nas duas gerações avaliadas, nem sempre foi significativa. Entretanto, quando se considera um mesmo patógeno, a coincidência na significância entre as duas gerações de avaliação foi alta. Por exemplo, para Mancha Angular (MA), tanto em S_{2:7} como em S_{5:9}, o teste de F foi significativo entre progênes das famílias 1 e 4 e não significativo no caso das famílias 2, 6, 7, 8 e 9. Ou seja, só não houve coincidência nas famílias 3, 5 e 10. Para Antracnose (AT), a concordância da significância entre gerações ocorreu entre progênes/famílias 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7.

Os resultados dos testes F das ANAVAS são confirmados por meio das estimativas de herdabilidade (h^2). Veja que para ambos os patógenos, a fonte de variação entre famílias foi significativa. As estimativas de h^2 , para seleção entre média das famílias, foram elevadas, acima de 98% (Tabelas 2 e 3). Adicionalmente, entre progênes as estimativas de h^2 diferiram entre as famílias, conforme foi constatado pelo teste F. Constatou-se que, como esperado, as famílias

que apresentaram significância no teste F entre progênies, também apresentaram estimativas de herdabilidade diferentes de zero.

Para a Antracnose, as significâncias e estimativas de herdabilidade foram sempre concordantes, ou seja, aquelas que foram não significativas para o teste F, apresentaram estimativas de h^2 iguais a zero (Tabela 3). Em algumas situações, como por exemplo com a MA, em que a estimativa de h^2 entre média de progênies, para uma mesma família, não foi coincidente entre as gerações, o intervalo de confiança de h^2 obtido permite inferir que elas podem ser iguais, como ocorreu na família 7. Por outro lado, também com a MA, o resultado de h^2 entre progênies/família 3, foi muito discrepante entre as gerações, na S_{2:7} $h^2=0$ e na S_{5:9}, $h^2=95,3\%$, o que não era esperado (Tabela 2).

Tabela 2- Estimativas de herdabilidade (h^2) para as notas de severidade de *P.griseola* e seus respectivos intervalos de confiança (LI: limite inferior e LS: limite superior) nas gerações S_{2:7} e S_{5:9}. Lavras, 2017.

FV	S _{2:7}			FV	S _{5:9}		
	LI (%)	h^2 (%)	LS (%)		LI (%)	h^2 (%)	LS (%)
Entre Progênies	87,7	91,7	94,4	Entre Progênies	92,2	94,7	96,5
Entre Famílias	97,7	99,0	99,7	Entre Famílias	98,3	99,2	99,8
Prog/Família 1	84,3	93,0	97,9	Prog/Família 1	94,5	97,5	99,3
Prog/Família 2	-645,2	0	14,1	Prog/Família 2	-318,7	0	51,7
Prog/Família 3	-404,6	0	33,9	Prog/Família 3	89,5	95,3	98,6
Prog/Família 4	60,8	82,5	94,9	Prog/Família 4	62,2	83,1	95,0
Prog/Família 5	25,1	66,6	90,2	Prog/Família 5	-65,1	26,4	78,4
Prog/Família 6	-196,6	0	61,1	Prog/Família 6	-832,5	0	0
Prog/Família 7	-61,9	27,8	78,8	Prog/Família 7	-196,8	0	61,1
Prog/Família 8	-374,5	0	45,3	Prog/Família 8	-827,6	0	0
Prog/Família 9	-432,3	0	30,2	Prog/Família 9	-761,2	0	0
Prog/Família 10	38,7	72,7	92,0	Prog/Família 10	-15,2	48,6	84,9

Tabela 3- Estimativas de herdabilidade (h^2) para notas de severidade de *C. lindemuthianum* e seus respectivos intervalos de confiança (LI: limite inferior e LS: limite superior) nas gerações S_{2:7} e S_{5:9}. Lavras, 2017.

FV	S _{2:7}			FV	S _{5:9}		
	LI (%)	h^2 (%)	LS (%)		LI (%)	h^2 (%)	LS (%)
Entre Progênes	87,3	91,5	94,3	Entre Progênes	92,6	95,0	96,7
Entre Famílias	96,4	98,4	99,5	Entre Famílias	98,3	99,2	99,8
Prog/Familia 1	77,6	90,0	97,1	Prog/Familia 1	68,3	85,9	95,8
Prog/Familia 2	74,2	88,9	97,0	Prog/Familia 2	89,0	95,3	98,7
Prog/Familia 3	55,3	80,1	94,1	Prog/Familia 3	76,5	89,5	96,9
Prog/Familia 4	56,6	80,7	94,3	Prog/Familia 4	59,5	81,9	94,7
Prog/Familia 5	78,9	90,6	97,2	Prog/Familia 5	84,3	93,0	97,9
Prog/Familia 6	44,2	75,1	92,7	Prog/Familia 6	81,1	91,6	97,5
Prog/Familia 7	82,6	92,2	97,7	Prog/Familia 7	86,0	93,8	98,2
Prog/Familia 8	-450,1	0,0	36,6	Prog/Familia 8	18,6	65,0	90,6
Prog/Familia 9	49,9	77,7	93,4	Prog/Familia 9	-2637,7	0,0	0,0
Prog/Familia 10	20,8	64,7	89,6	Prog/Familia 10	-2330,5	0,0	0,0

Quando se considerou a média das famílias, os resultados entre famílias para MA e AT foram bem divergentes em ambas as gerações (Tabelas 4 a 7). No caso de MA, as médias das famílias diferiram relativamente pouco, o que não ocorreu com a AT. Nessa última situação, na geração S_{2:7}, por exemplo, a menor média foi obtida pela família 1(2,76), já a maior pela família 8 (8,51).

As notas de severidade do patógeno causador da MA das progênes/famílias 1 e 4, nas duas gerações avaliadas, foram bem diversificadas. Observa-se, por exemplo, a família 1, geração S_{2:7}, a média das progênes variou de 1,58, resistente a 6,02, suscetível. Na geração S_{5:9}, o resultado foi praticamente idêntico (Tabelas 4 e 5), o que concorda com as estimativas de h^2 obtidas.

Tabela 4- Médias das notas da severidade da ocorrência de *P. griseola* entre famílias e progênies/famílias da geração S_{2:7}. Lavras, 2017.

Progênies	Famílias									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	5,33	1,63	1,72	2,80	2,94	1,59	1,54	1,92	1,57	3,37
2	6,02	2,13	1,75	1,58	3,00	1,81	1,63	1,27	1,43	2,72
3	4,88	2,06	2,06	1,21	2,56	2,16	1,78	1,17	1,80	3,06
4	1,58	-	2,00	1,50	2,33	1,47	2,84	1,58	1,34	1,61
5	5,11	1,69	2,22	1,28	3,16	2,11	1,78	1,24	1,94	3,13
6	5,22	1,78	2,08	1,78	1,88	2,06	1,61	1,38	1,42	3,89
7	5,72	1,81	2,50	3,69	2,50	1,56	1,55	1,56	1,29	3,50
8	6,00	1,62	2,11	1,23	3,25	2,28	1,86	1,58	1,28	3,04
9	4,78	2,00	1,93	1,39	2,51	2,13	2,02	-	1,54	3,83
10	5,67	1,73	1,93	1,40	1,36	2,14	1,44	1,64	1,39	3,44
Médias Gerais	5,03	1,83	2,03	1,78	2,55	1,93	1,80	1,48	1,50	3,16
Testemunhas	MAIII	2,33	Rosinha	7,77	Pérola	1,74	Carioca	1,56		

Tabela 5- Médias das notas da severidade da ocorrência de *P. griseola* entre famílias e progênies/famílias da geração S_{5:9}. Lavras, 2017.

Progênies	Famílias									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	6,44	1,83	1,94	1,80	1,78	1,78	1,72	1,75	2,00	2,78
2	6,94	1,60	2,08	1,82	2,06	1,78	1,94	1,87	1,67	2,73
3	6,18	2,18	3,47	3,18	1,61	1,76	2,06	1,61	2,00	2,35
4	3,53	-	5,92	1,73	2,33	1,69	1,50	1,94	1,82	2,47
5	5,54	1,71	2,13	2,06	2,29	1,79	2,19	1,71	2,07	2,92
6	4,41	1,53	2,76	3,13	2,50	2,00	1,71	1,65	1,80	2,44
7	6,24	1,88	1,41	1,71	1,81	1,94	1,61	1,82	2,00	3,31
8	5,53	1,83	1,83	1,50	1,88	1,88	1,76	1,83	1,87	3,25
9	1,53	1,93	2,41	1,43	2,06	2,13	2,18	-	1,69	3,19
10	3,30	1,93	1,88	1,44	1,56	1,94	1,71	1,45	1,81	2,29
Médias Gerais	4,6	1,82	2,58	1,98	1,99	1,87	1,84	1,74	1,87	2,77
Testemunhas	MAIII	2,33	Rosinha	7,79	Pérola	1,86	Carioca	1,80		

Para a AT, as notas médias de severidade das progênies/famílias 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, nas duas gerações avaliadas, foram também bem diversas (Tabelas 6 e 7). Por exemplo, na família 1 observou-se progênie com nota media variando de 1,28 a 8,56. Ou seja, ocorreram desde progênies muito suscetíveis a bem resistentes na mesma família. Esse resultado reforça o comentário anterior que as plantas S₀ eram mais divergentes para AT do que para MA. Algumas devem ser homozigóticas para o gene, ou genes, de resistência e outras, heterozigóticas.

Tabela 6- Médias das notas da severidade da ocorrência de *C. lindemuthianum* entre famílias e progenies da geração S_{2:7}. Lavras, 2017

Progênes	Famílias									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1,28	4,39	1,89	5,06	9,00	7,67	7,72	8,33	8,61	1,22
2	1,33	6,39	8,11	9,00	9,00	4,33	9,00	8,83	9,00	3,44
3	1,33	9,00	3,89	9,00	8,61	3,33	9,00	7,61	8,94	2,33
4	8,56	-	5,00	9,00	9,00	5,44	1,44	7,61	9,00	1,50
5	2,00	5,11	2,44	9,00	9,00	9,00	9,00	9,00	9,00	2,83
6	1,50	3,06	1,93	9,00	7,28	6,11	2,94	8,94	3,00	3,89
7	1,33	8,56	2,67	3,56	1,83	8,50	9,00	8,94	8,11	2,44
8	1,28	2,28	3,61	9,00	2,11	7,17	2,50	8,83	9,00	6,39
9	7,50	8,50	1,54	9,00	8,00	6,61	8,83	-	8,94	1,83
10	1,44	9,00	2,44	9,00	4,83	5,94	8,89	8,94	9,00	3,06
Médias Gerais	2,76	5,91	3,35	8,06	6,87	6,41	6,83	8,51	8,26	2,89
Testemunhas	Ouro Negro	1,02	Carioca	9,00	Pérola	8,56				

Tabela 7- Médias das notas da severidade da ocorrência de *C. lindemuthianum* entre famílias e progenies da geração S_{5:8}. Lavras, 2017

Progênes	Famílias									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1,22	9,00	1,00	9,00	1,11	9,00	1,78	9,00	9,00	1,67
2	1,06	1,17	1,63	9,00	1,50	9,00	1,28	9,00	9,00	1,44
3	1,00	1,33	1,22	5,22	5,22	9,00	9,00	9,00	9,00	1,06
4	7,72	-	1,56	9,00	6,11	8,83	3,11	9,00	9,00	1,44
5	1,06	9,00	1,33	5,44	5,06	9,00	8,56	5,00	9,00	1,07
6	1,06	1,17	1,11	4,83	9,00	4,94	8,50	9,00	9,00	1,11
7	1,00	2,00	9,00	9,00	8,67	2,00	8,94	9,00	9,00	1,00
8	1,17	3,78	1,44	9,00	4,83	9,00	8,56	9,00	8,39	1,56
9	1,06	9,00	1,50	9,00	2,39	3,83	6,67	-	8,56	1,44
10	1,17	2,00	1,06	9,00	9,00	5,00	8,56	9,00	9,00	1,17
Médias Gerais	1,75	4,56	2,08	7,85	5,29	6,96	6,49	8,50	8,89	1,30
Testemunhas	Ouro Negro	1,06	Carioca	9,00	Pérola	9,00				

4 DISCUSSÃO

Durante a realização de um experimento de avaliação da resistência de plantas à patógenos, sobretudo quando o objetivo é um programa de seleção recorrente, a principal dificuldade é ter um ambiente de avaliação que possibilite a classificação dos indivíduos/progênes. Esse ambiente de avaliação envolve a concentração ideal do patógeno, a umidade e temperatura ambiente e os estágios de inoculação e de avaliação dos sintomas. Ao que tudo indica, nesse trabalho, as condições foram boas, pois as duas linhagens utilizadas como testemunhas, para MA, a “Rosinha”, suscetível, e MAIII, resistente, cujos desempenhos já eram conhecidos, confirmaram essa performance. Isto é, a Rosinha apresentou as maiores notas e a MAIII, estava entre os tratamentos com maior resistência. No caso da AT, a mesma observação é válida, as testemunhas suscetíveis, ‘Pérola’ e ‘Carioca’, foram as de maiores notas de severidade, e a testemunha resistente, ‘Ouro Negro’ apresentou nota bem inferior. A metodologia utilizada já foi empregada em outras oportunidades e mostrou o mesmo comportamento obtido nesse trabalho (COSTA et al., 2017).

Uma outra dificuldade na avaliação da severidade da doença é com relação à habilidade visual dos avaliadores em atribuir as notas. Sobretudo em uma condição como a desse trabalho, em que o avaliador teve 3600 plantas para serem avaliadas individualmente, considerando as duas gerações utilizadas. O parâmetro que melhor possibilita inferir a respeito da habilidade do avaliador é a acurácia experimental. Isto é, a coincidência na nota de severidade das mesmas progênes/famílias em repetições diferentes. Nesse trabalho, as estimativas de acurácia foram superiores a 0,96, o que indica uma ótima precisão experimental (RESENDE; DUARTE, 2007). Do exposto, sob o ponto de vista da condição experimental, as progênes foram bem avaliadas, o que possibilita ter segurança nas inferências a serem feitas, a partir dos resultados obtidos.

A população em que foram retiradas as progênes é proveniente do ciclo XIV de um programa de seleção recorrente. Para a obtenção dessa população, além das progênes identificadas como superiores para produtividade e tipo de grãos, foram incluídas cinco progênes provenientes de um outro programa de seleção recorrente visando resistência à *P. griseola* (REZENDE et al., 2014) já que na população dos ciclos anteriores, a suscetibilidade a esse patógeno era grande. Sendo assim, era esperado ocorrer variação para resistência à esse patógeno, o que foi confirmado pelos resultados obtidos.

Por outro lado, nos últimos ciclos do programa de SR não foi incluída nenhuma fonte de resistência conhecida ao *C. lindemuthianum*. Nenhuma avaliação para a severidade da AT, em campo ou em casa de vegetação, foi realizada com as progênes da SR. Assim, a grande

variabilidade observada para esse patógeno, pelo menos em princípio, não era esperada. Deve ser salientado que, em muitas gerações de ciclos anteriores, o patógeno causador da AT ocorreu e, provavelmente, na seleção realizada considerando a produtividade de grãos, inconscientemente, foram incluídas progênes resistentes. Na literatura existem alguns relatos de trabalhos conduzidos na região que a seleção de progênes para produtividade de grãos tem boa eficiência na seleção para a resistência a AT (ABREU *et al.*, 2003; PÁDUA; RAMALHO; ABREU, 2015).

Quando se conduz populações segregantes pelo método do bulk dentro de progênes F_2 ou S_0 , é esperado, em gerações avançadas, que ocorra variação tanto entre, como dentro de progênes (RAMALHO *et al.*, 2012; PEREIRA, 2018, Capítulo 2). Esse fato foi comprovado para os dois tipos de progênes avaliadas, $S_{2:7}$ e $S_{5:9}$. Vale salientar que a planta original de cada progênie foi a mesma planta S_0 (Figura 1). Assim, foi utilizado o termo família para representar a variação observada entre as plantas S_0 e progênes/famílias, para mostrar a variação dentro de cada planta S_0 . Tanto as estimativas de h^2 como das médias confirmam a variação entre as plantas S_0 para AT e MA. De modo análogo, os resultados entre progênes/famílias confirmam a existência de variação dentro das famílias, isto é, que provavelmente, a maioria das plantas S_0 amostradas eram heterozigóticas para os genes de resistência, especialmente para MA.

Para ambos os patógenos foi utilizado apenas um isolado das raças 65 para AT e 63-63 para MA. Essas raças foram empregadas por serem as mais frequentes na região. As informações existentes na literatura apontam que no controle genético da AT, existem vários genes. Ao estudar o controle genético da resistência das cultivares diferenciadoras da raça 65, propostas por Ishikawa, Ramalho e Souza (2011) à seis diferentes isolados pertencentes a esta raça, verificaram a presença de 12 genes, sendo genes duplicados conferindo resistência a um isolado específico, cujos alelos dominantes são responsáveis pela resistência (COSTA *et al.*, 2017).

No caso da MA, o número de genes já descritos é menor, e pelas razões já comentadas, era esperado estar envolvido apenas um gene para o isolado da raça 63-63. Se essa inferência fosse verdadeira era de se esperar, considerando que a planta S_0 fosse heterozigótica para o gene de resistência de cada patógeno, que, especialmente na geração $S_{5:9}$, iriam ocorrer apenas duas classes de nota de severidade, ou resistente, ou suscetível. Para muitas progênes esse fato não foi constatado (Tabela 5). A resposta continuada para a resistência a MA por meio de inúmeros ciclos de seleção recorrente (REZENDE *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*, 2015;), permite inferir que, embora alguns trabalhos indiquem a presença de um único gene de resistência para uma determinada raça, devem existir vários outros genes. Uma provável

explicação é que esse gene de resistência possui mais de uma cópia no genoma (DOLATABADIAN et al., 2017). Assim, com as sucessivas autofecundações ocorreria recombinação e em consequência, a segregação seria diferente da esperada.

Em se tratando da AT, não foi encontrado relato de resultado de seleção recorrente para poder inferir sobre a possível existência de mais genes com alelos de resistência provavelmente de menor efeito. Contudo, observando as médias entre progênies dentro de cada família, pelo menos em alguns casos, como por exemplo as famílias 1, 2 e 3 na geração $S_{5:9}$, ocorreram progênies resistentes e suscetíveis bem distintas, porém não na proporção esperada de 1:1. Na família 1 foram nove resistentes para uma suscetível, na família 2 foram seis para três. Considerando que foram apenas dez progênies amostradas por família, poder-se-ia argumentar que o erro de amostragem poderia explicar esses resultados. Ocorreram casos, por exemplo, famílias 4, 8 e 9, em que a suscetibilidade foi praticamente 100% e a família 10, 100% resistente. Assim, para esse patógeno, as plantas S_0 não deveriam ser todas heterozigóticas, como já mencionado.

Um fato a ser ressaltado é que, no caso da resistência a patógenos, o que tem sido feito em feijão, na UFLA, é que ao chegar no final do processo, gerações $F_{2:7}$ ou $F_{2:8}$ ($S_{0:6}$ ou $S_{0:8}$) as progênies não são abertas para a recomendação. Ou seja, ainda existe enorme variação dentro das progênies, sobretudo para caracteres que são controlados por mais genes e cuja expressão fenotípica não afeta a aceitação pelos agricultores/consumidores. As novas cultivares de feijão obtidas pelo método do bulk/ F_2 devem ser, então, constituídas por uma mistura de linhas puras, multilinhas.

O emprego de multilinhas como estratégia de resistência duradoura a patógenos tem sido recomendado em algumas situações (BOTELHO et al., 2011). Como nesse trabalho foi utilizado apenas um isolado dos dois patógenos, não se pode comprovar a existência de várias fontes de resistência misturadas. Mas os resultados obtidos, considerando apenas um isolado, mostram que há variação na suscetibilidade ao patógeno e que essa variação poderá contribuir para a maior vida útil de uma cultivar resistente aos dois patógenos simultaneamente.

5 CONCLUSÕES

As progênies do CXIV do programa de SR da UFLA, C.XIV, têm variabilidade com relação à resistência à *P. griseola* e *C. lindemuthianum*. Essa variabilidade é detectada tanto entre plantas da população como entre descendentes de algumas plantas S₀, indicando que elas, provavelmente eram heterozigóticas.

A frequência de progênies/plantas resistentes à *P. griseola* e *C. lindemuthianum* na população do CXIV da SR é alta, mesmo a seleção não tendo sido realizada especificamente para esses patógenos nos ciclos anteriores.

O momento de abertura do bulk não altera expressivamente a variabilidade para reação à antracnose e mancha angular.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A.F.B.et al. Utilização da produtividade de Grãos na seleção para resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.2, p.363-369, 2003.
- BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. DE O. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2012.
- BOTELHO, F. B. S. et al. Multiline as a Strategy to Reduce Damage Caused by *Colletotrichum lindemuthianum* in Common Bean. **J Phytopathol**, v.159, p.175–180, 2011.
- BRUZI, A. T. et al. Homeostasis of common bean populations with different genetic structures. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.7, p.111-116, 2007.
- COELHO, R. T. et al. Characterization of the anthracnose resistance gene in the mesoamerican common bean cultivar Crioulo 159. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 56, p. 43–44, 2013.
- COSTA, L.C.et al. Are duplicated genes responsible for anthracnose resistance in common bean? **PLoS ONE** , v.12, n. 3, p.: e0173789. 2017.
- DAVIDE, L. M. C.; SOUZA, E. A. DE. Pathogenic variability within race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum* and its implications for common bean breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 9, p. 23–30, 2009.
- DOLATABADIAN A. et al. Copy number variation and disease resistance in plants. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 130, p. 2479-2490, 2017.
- FERREIRA, J. J.; CAMPA, A.; KELLY, J. D. Organization of Genes Conferring Resistance to Anthracnose in Common Bean. In: R. K. Varshney; R. Tuberosa (Eds.); **Translational Genomics for Crop Breeding**. 1st ed., p.151–176, 2013.
- GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Virulence and genetic diversity of *Pseudocercospora griseola* isolates from paraná state, brazil. **Annual Report Of The Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 1, n. 59, p.41- 42, 2016.
- GONZÁLEZ, A. M. et al. Uncovering the genetic architecture of *Colletotrichum lindemuthianum* resistance through QTL mapping and epistatic interaction analysis in common bean. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 13, 2015.
- ISHIKAWA, F. H.; RAMALHO, M. A. P.; SOUZA, E. A. Common bean lines as potential differential cultivars for race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Journal of Plant Pathology**, v. 93, n. 2, p. 461–464, 2011.
- KNAPP, S. J.; STROUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Sci**, v. 25, p.192-194, 1985.

- LIBRELON, S. S. et al. Diagrammatic scale to evaluate angular leaf spot severity in primary leaves of common bean. **Australasian Plant Pathology**, v. 44, p.385-395, 2015.
- MAHUKU, G. S.; IGLESIAS, A. M.; JARA, C. Genetics of angular leaf spot resistance in the Andean common bean accession G5686 and identification of markers linked to the resistance genes. **Euphytica**, Wageningen, v. 167, n. 3, p.381-396, 2009.
- MIKLAS, P. N. et al. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. **Euphytica**, v. 147, n. 1-2, p. 105–131, 2006.
- PÁDUA, J.M.V.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Implications of early selection for resistance to anthracnose in genetic breeding of common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.15, p.169-174, 2015.
- PEREIRA, R. et al. Aggressiveness of *Pseudocercospora griseola* strains in common bean genotypes and implications for genetic improvement. **Genetics And Molecular Research**. Ribeirão Preto, p. 5044-5053, 2015.
- PEREIRA, R.; ABREU, M.J.; SOUZA, E. A. Alternative method to assess the reaction of common bean lines to *pseudocercospora griseola*. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 54, p. 104-105, 2011.
- PIRES, L.P.M. et al. Recurrent mass selection for upright plant architecture in common bean. **Sci. Agric**, v. 71, p.240-243, 2014.
- RAMALHO, M.A.P. et al. **Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**.(Ed.)UFLA, 2012. 522 p.
- RIBEIRO, T. et al. Classification of *Colletotrichum lindemuthianum* races in differential cultivars of common bean. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 2, p. 179–184, 2016.
- RESENDE, M.D.V. de. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: EMBRAPA Florestas. 2007. 561p.
- RESENDE, M.D.V. de; DUARTE, J.B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.3, n. 37, p.182-194, 2007.
- REZENDE, B.A. et al. Severity Evaluation Methods in Common Bean Recurrent Selection Programme for Resistance to Angular Leaf Spot. **Journal of Phytopathology**, v. 162, n. 10, p. 643-649, 2014.
- SARTORATO, A.; ALZATE-MARIN, A.L. Analysis of the pathogenic variability of *Phaeoisariopsis griseola* in Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 47, p. 235-237, 2004.
- SCHOONHOVEN, A.; PASTOR-CORRALES, M. A. **Standard system the evaluation of bean germoplasm**. Cali: CIAT, 1987. 54 p.

SILVA, G.S. et al. Estimation of genetic progress after eight cycles of recurrent selection for common bean grain yield. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.10, p.351-356, 2010.

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

SOUZA, T. L. P. O. et al. Major loci controlling resistance to the angular leaf spot of common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Prosser, v. 59, 2016.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H.; DICKEY, D. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 3. ed. Boston: McGraw Hill, 1997. 672p.

ZUIDERVEEN, G. H. et al. Genome-Wide association study of anthracnose resistance in andean beans (*Phaseolus vulgaris*). **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, 2016.

CAPÍTULO 4 ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E FENOTÍPICOS ENTRE E DENTRO DE PROGÊNIES COM DIFERENTES NÍVEIS DE ENDOGAMIA E ESTRUTURA GENÉTICA NO FEIJOEIRO.

RESUMO

O emprego do método do bulk/ F_2 ou S_0 é comum nos programas de melhoramento do feijoeiro conduzidos no Brasil. Sendo assim, objetivou-se avaliar se a variação liberada dentro das progênies conduzidas pelo método do bulk/ F_2 ou S_0 é a mesma que ocorre entre progênies, e verificar se a seleção natural atua com o decorrer da endogamia para o caráter produtividade de grãos na cultura do feijoeiro. Para isso foram utilizadas duas populações distintas: a primeira oriunda do décimo quarto ciclo (C.XIV), do programa de seleção recorrente (SR) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e a segunda obtida a partir do cruzamento entre as cultivares Pérola e Madrepérola. As progênies SR foram obtidas da seguinte maneira: de cada uma das dez progênies $S_{0:2}$ identificadas como mais produtivas na geração $S_{0:1}$, foram colhidas dez plantas, progênies $S_{2:3}$, e as sementes foram armazenadas em câmara fria. As plantas restantes continuaram sendo avançadas até $S_{0:5}$, quando foi aplicado o mesmo procedimento anterior, sendo obtidas progênies $S_{5:6}$. As 100 progênies $S_{2:3}$ e as 100 $S_{5:6}$ foram multiplicadas por mais algumas gerações sendo obtidas progênies $S_{2:6}$ e $S_{5:8}$ que foram avaliadas por três gerações sucessivas. Os procedimentos descritos foram aplicados também para a população biparental de forma que, ao final, pode-se avaliar as seguintes gerações simultaneamente: $F_{3:5}$ e $F_{6:7}$, $F_{3:6}$ e $F_{6:8}$, $F_{3:7}$ e $F_{6:9}$. O caráter avaliado foi a produtividade de grãos. Foram estimados parâmetros genéticos e fenotípicos a partir das análises de variância individuais e conjuntas. Constatou-se que a baixa precisão experimental associada à provável amostragem deficiente não possibilita obter estimativas da variabilidade genética entre e dentro das progênies como é, teroricamente, esperado no método do bulk/ F_2 ou S_0 . Todavia, o fato de a população segregante ter frequência alélica igual ou diferente de 0,5 não afeta o que se espera com a variação entre e dentro de progênies utilizando o método do bulk/ F_2 ou S_0 . Em princípio, mesmo com apenas duas ou três gerações de diferença, tem-se evidências que a seleção natural atuou no sentido de manter as plantas/progênies com maior produtividade de grãos.

Palavras-chave: Seleção Recorrente, bulk/ F_2 , Genética Quantitativa

ABSTRACT

The use of the bulk / F_2 or S_0 method is common in bean breeding programs conducted in Brazil. Thus, the objective of this study was to show that the variation released within the progenies conducted by the bulk / F_2 or S_0 method is the same as that occurring among progenies, and to verify whether natural selection acts at grain yield as endogamy goes in the dry bean crop. For this, two distinct populations were used, the first one from the fourteenth cycle (C.XIV) of the Universidade Federal de Lavras (UFLA) recurrent selection (RS) program, the second obtained from the cross between the Pérola and Madrepérola lines. The RS progenies were obtained as follows: From each of the ten $S_{0:2}$ progenies identified as most productive in the $S_{0:1}$ generation, ten plants were harvested individually, progenies $S_{2:3}$, and stored in a cold chamber. The remaining plants continued to be advanced to $S_{0:5}$, when the same procedure was applied, and $S_{5:6}$ progenies were obtained. The 100 $S_{2:3}$ progenies and the 100 $S_{5:6}$ progenies were multiplied by successive generations and $S_{2:6}$ and $S_{5:8}$ progenies were obtained. These procedures were also applied to the biparental population so that, in the end, the following generations could be evaluated simultaneously: $F_{3:5}$ and $F_{6:7}$, $F_{3:6}$ and $F_{6:8}$, $F_{3:7}$ and $F_{6:9}$. Genetic and phenotypic parameters were estimated from the individual and joint analyzes of variance. It was found that a low experimental precision associated with a poor sampling does not make it possible to obtain estimates of the genetic variability among and within the progenies as it is theoretically expected in the bulk / F_2 or S_0 method. However, the fact that the segregating population has allelic frequency equal to or different from 0.5 does not affect what is expected with variation among and within progenies using the bulk / F_2 or S_0 method. In principle, even with only two or three generations of difference, there is evidence that natural selection acted to maintain the plants / progenies with higher grain yield.

Key-words: Recurrent Selection; Bulk/ F_2 ; Quantitative Genetics

1 INTRODUÇÃO

O melhoramento genético do feijoeiro no Brasil tem sido realizado predominantemente pelo setor público. As instituições públicas que apresentam programa formal de melhoramento não são muitas. Nesses programas a condução das populações segregantes é realizada utilizando diferentes métodos, contudo, muitos utilizam o método do bulk/ F_2 ou S_0 (MOREIRA et al., 2010).

Esse método foi proposto por Frey (1954) visando atenuar os problemas de amostragem do bulk tradicional. Na proposta original, a partir da geração F_2 , as plantas são colhidas individualmente e semeadas em linhas, progênies $F_{2:3}$. Na colheita essas progênies são colhidas individualmente. Uma mistura de sementes é utilizada para obtenção da geração seguinte. Desse modo, cada progênie é avançada em bulk e o processo se repete até $F_{2:6}$ ou mais gerações. Na Universidade Federal de Lavras, desde a década de setenta do século passado, esse método é utilizado. Contudo, diferentemente da proposta original, as progênies são avaliadas em experimentos com repetição desde a geração $F_{2:3}$. Assim, quando se chega em $F_{2:6}$ ou em $F_{2:7}$, as progênies que permanecerem já foram avaliadas por cinco ou mais gerações em alguns locais. Mesmo sendo avaliadas, o princípio da proposta de Frey (1954) é mantido, isto é, não é realizada nenhuma seleção dentro de progênies.

Quando se utiliza o bulk dentro de progênies por algumas gerações, é esperado que a seleção natural atue dentro de cada progênie. Não foi encontrado nenhum relato a esse respeito. Todavia, no método do bulk tradicional o efeito da seleção natural tem sido comprovado para alguns caracteres, entre eles, a produtividade de grãos (ALLARD, 1988; GONÇALVES; RAMALHO; ABREU, 2001; SILVA et al., 2004).

Com o avanço das gerações de endogamia no método do bulk/ F_2 , a heterozigose nas plantas dentro de cada progênie reduz. Após $F_{2:8}$, por exemplo, os indivíduos dentro das progênies, já possuem a maioria dos seus locos em homozigose. Assim, cada bulk/ F_2 é constituído por uma mistura de linhas puras. No final do processo, cada progênie é, em realidade, uma multilinha. Desde que ela não apresente variação muito evidente para caracteres morfológicos e tipo de grãos, essa mistura pode ser comercializada como uma cultivar. O emprego de multilinha em uma espécie como o feijoeiro tem algumas vantagens, tais como: maior estabilidade de produção e maior durabilidade da resistência aos patógenos (BRUZI et al., 2007; BOTELHO et al., 2011).

Considerando que cada planta F_2 tem, em média, a mesma frequência de locos em heterozigose que a população como um todo (PEREIRA, 2018, capítulo2), é esperado que a

variabilidade dentro de cada bulk F_2 seja semelhante ao que ocorre entre as progênies. Esta constatação teórica ainda não foi comprovada sob condições de campo.

Como já mencionado, o método do bulk/ F_2 é usado em vários programas de melhoramento. Nesses programas não é feita distinção em termos de estratégia de condução, sendo a população segregante oriunda de um cruzamento biparental ou de um programa de SR. Como a estrutura genética dessas populações, pelo menos em princípio, pode ser diferente, é questionável se o que ocorre dentro das progênies conduzidas em bulk independe da população segregante que está sendo avançada.

Do exposto, foi realizada a presente pesquisa com o objetivo de: verificar se a variação liberada dentro das progênies conduzidas pelo método do bulk/ F_2 ou S_0 é a mesma da que ocorre entre progênies, e se a seleção natural atua para o caráter produtividade de grãos durante o avanço das gerações de endogamia, quando da avaliação das progênies em campo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

Os experimentos foram conduzidos na área experimental do Centro de Desenvolvimento Tecnológico da Universidade Federal de Lavras (UFLA), situado na região Sul do estado de Minas Gerais, a 919 metros de altitude, 21°14' de latitude Sul e 45° de longitude Oeste.

2.2 Tratamentos Genéticos

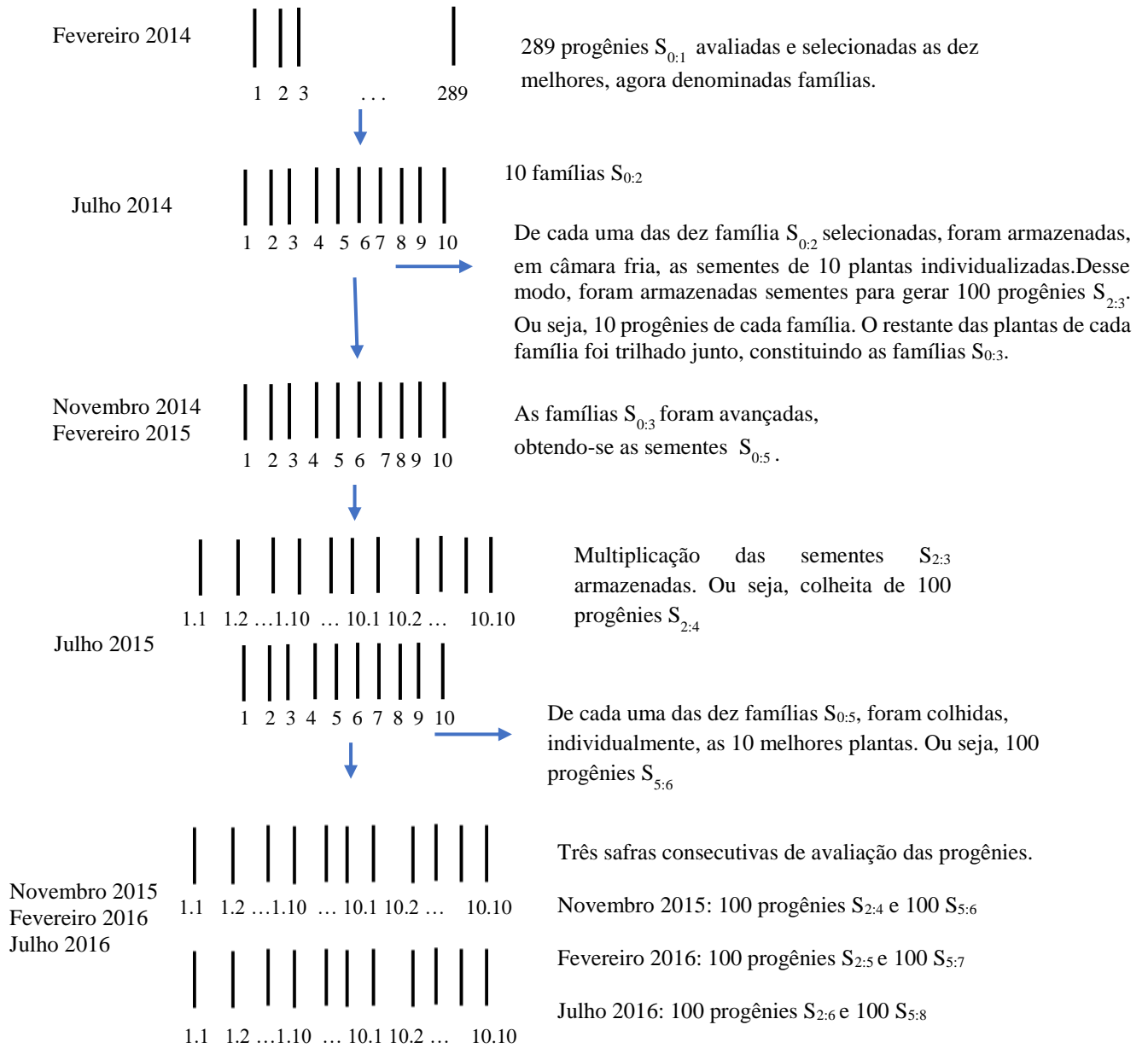
Foram utilizadas duas populações segregantes: a primeira oriunda do programa de SR para a produtividade de grãos do tipo carioca conduzido pela UFLA. A segunda foi uma população segregante proveniente do cruzamento das linhagens BRSMG Madrepérola x Pérola. A obtenção dessas duas cultivares está descrita na literatura (CARNEIRO et al., 2012; YOKOYAMA, 1999) e são linhagens não aparentadas, portanto, com possibilidade de gerar progênies do tipo carioca também, e com ampla variação. A partir de agora, a cultivar 'BRSMG Madrepérola' será denominada apenas por Madrepérola.

2.2.1 Progênies do programa de Seleção Recorrente (SR)

Os detalhes de como foi obtida a população original e conduzidos alguns ciclos de seleção são apresentados por Silva et al.(2010).Para obtenção do décimo quarto ciclo (C.XIV) foram recombinadas vinte progênies provenientes de três diferentes programas de seleção recorrente conduzidos pela UFLA. Sendo dez, as melhores do C. XIII do programa de seleção recorrente para produtividade, cinco do programa de seleção recorrente para porte ereto e cinco de seleção recorrente para resistência à mancha angular. Essas 20 progênies foram inter cruzadas em sistema semelhante ao de “Topcross”, isto é, cada progênie foi cruzada com as outras 19. As sementes híbridas obtidas foram misturadas, constituindo a população S_0 do C.XIV. Dessa população S_0 foram colhidas 289 plantas individualmente, progênies $S_{0:1}$, que foram avaliadas na safra de semeadura em fevereiro de 2014 em Lavras. A partir desse experimento foram identificadas 100 progênies, que foram avaliadas em Julho de 2014, ou seja, foram avaliadas progênies $S_{0:2}$. De cada uma dessas dez progênies selecionadas foram colhidas, individualmente, dez plantas, isto é, 100 novas progênies $S_{2:3}$ cujas sementes foram armazenadas em câmara fria. O restante das progênies selecionadas foi colhida em bulk pra continuar o processo. Esse procedimento foi repetido até a geração $S_{0:5}$. Após a geração $S_{0:5}$, foram retiradas ,novamente, dez plantas dentro de cada progênie, ou seja, progênies $S_{5:6}$. As sementes das progênies “ $S_{2:3}$ ”que estavam armazenadas foram multiplicadas, em Julho de 2015, obtendo as progênies $S_{2:4}$ (Figura 1). Para facilitar o entendimento, os indivíduos oriundos das plantas S_0 serão denominados de famílias. As plantas colhidas individualmente dentro de cada família serão denominadas de progênies dentro de famílias (progênies/família_n). O esquema mostrado na figura 1 fornece os detalhes de como foi realizado e as épocas de cada etapa.

As progênies $S_{2:4}$ juntamente com as $S_{5:6}$ foram avaliadas por três safras consecutivas (Figura 1). Vale salientar que duas progênies não tiveram sementes suficiente para serem avaliadas, uma na família 2 e uma na família 8. Desta forma, foram avaliadas 98 progênies $S_{2:4}$ e 98 $S_{5:6}$. Essas progênies mais duas testemunhas, as cultivares Pérola e Carioca, foram avaliadas em experimentos contíguos no delineamento látice simples 10x10. Nas duas safras seguintes o processo foi repetido, exceto que o número de repetições passou a ser três. As parcelas foram sempre constituídas por uma linha de dois metros e o caráter avaliado foi a produtividade de grãos. O manejo foi sempre o mesmo, seguindo a recomendação existente para a cultura na região (RAMALHO; ABREU; GUILHERME, 2014). A cultura foi irrigada, especialmente nas safras cuja semeadura foi realizada em julho.

Figura 1- Esquema de obtenção e condução das famílias/ progênes do programa de Seleção Recorrente, C.XIV.

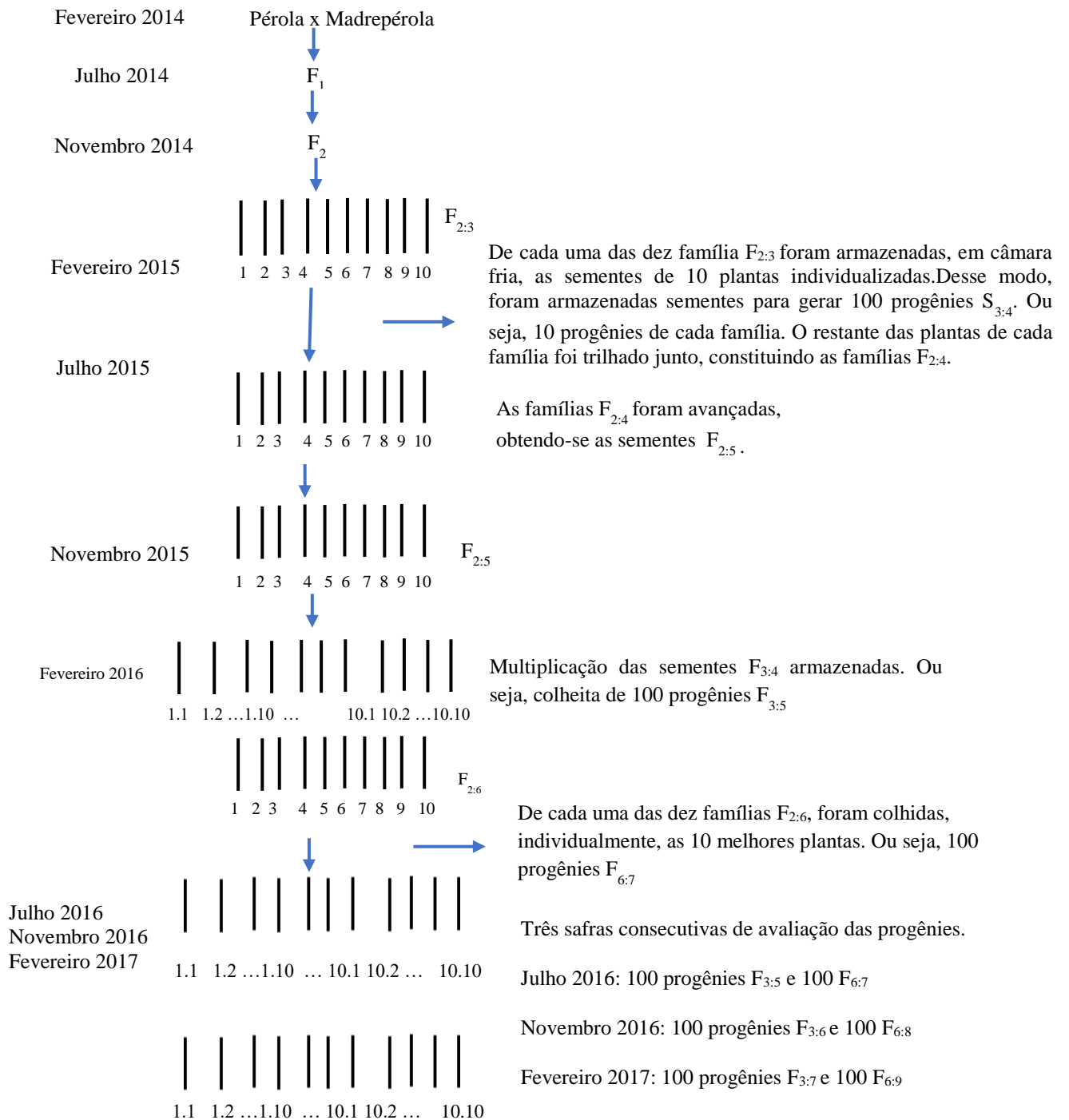


2.2.2 Progênes do cruzamento Pérola x Madrepérola (CB)

Em fevereiro de 2014, foi realizado o cruzamento entre a cultivar Madrepérola e a cultivar Pérola. Os descendentes do cruzamento foram multiplicados em bulk até que, em Novembro de 2014, dez plantas foram colhidas individualmente, ou seja, dez famílias $F_{2:3}$ (Figura 2). O processo foi semelhante ao descrito para a SR e está detalhado na figura 2.

Assim, como para a população SR, adotou-se um látice 10x10 com duas repetições na primeira safra de avaliação (Julho 2016), e com três repetições nas demais safras. As parcelas também foram compostas por uma linha de dois metros e o caráter avaliado foi a produtividade. As condições de manejo foram idênticas às descritas para a SR.

Figura 2 - Esquema de obtenção e condução das famílias/ progênes do cruzamento biparental Pérola x Madrepérola



2.3 Análises estatísticas e obtenção de estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos

As médias de produtividade (g/parcela) foram submetidas à análise de variância individual segundo procedimento apresentado por Steel, Torrie e Dickey (1997). Todos os efeitos do modelo foram considerados como aleatórios, exceto a média. Como o delineamento em Lattice não foi eficiente, as análises foram apresentadas considerando o delineamento em blocos casualizados.

Para cada caso foi estimada a acurácia seletiva (r_{gg}) pela seguinte expressão (RESENDE, 2007):

$$r_{gg} = \sqrt{1 - \frac{1}{F}}$$

em que:

F: Valor do teste F de Snedecor para o efeito de tratamentos na análise de variância.

Para as estimativas da herdabilidade (h^2) para a seleção na média das progênies a partir da análise de variância, utilizaram-se as estimativas dos quadrados médios de progênies (QMP) e erro (QME), como descrito por Ramalho et al. (2012):

$$h^2 = \frac{QMP - QME}{QMP}$$

Em que, QMP e QME correspondem às estimativas dos quadrados médios de progênies e do erro experimental, respectivamente, obtidas nas análises de variância dos dados.

Para cada tipo de estimativa de h^2 das análises individuais, utilizou-se o quadrado médio de progênies correspondente, ou seja, para estimativa da h^2 entre progênies, utilizou-se o quadrado médio da fonte de variação (FV) entre progênies, para a estimativa de h^2 entre famílias o quadrado médio da FV entre famílias, e assim sucessivamente. O mesmo comentário é válido para as estimativas dos erros associados.

Os erros associados à estimativa de h^2 foram estimados utilizando a expressão de Knapp et al.(1985):

$$LI = \left\{ 1 - \left[\left(\frac{Q_1}{Q_2} \right) F_{1-\alpha/2}(GL_{ERRO}; GL_{Progênie}) \right]^{-1} \right\}$$

$$LS = \left\{ 1 - \left[\left(\frac{Q_1}{Q_2} \right) F_{\alpha/2}(GL_{ERRO}; GL_{Progênie}) \right]^{-1} \right\}$$

Sendo, LI: Limite inferior, LS: Limite superior; Q_1 : Quadrado Médio de progênie; Q_2 : Quadrado Médio do erro; α : nível de probabilidade (5%); F : valor tabelado.

Em seguida, com as médias ajustadas por geração de avaliação, foram realizadas as análises de variância conjuntas por geração de abertura do bulk, ou seja, realizou-se a análise conjunta dos dados de S_{2:4}, S_{2:5} e S_{2:6}, em seguida, dos dados de S_{5:6}, S_{5:7} e S_{5:8}. O mesmo procedimento foi adotado para a população biparental. Adotou-se o seguinte modelo, considerando como fixo apenas o efeito da média e da geração de avaliação (RAMALHO; FERREIRA; OLIVEIRA, 2012):

$$Y_{ijk} = \mu + p_i + b_{j(k)} + a_k + pa_{(ik)} + e_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} : é o valor observado relativo à parcela que recebeu o tratamento i no bloco j na geração k .

μ : é a média geral;

p_i : é o efeito do tratamento (progênie) i ($i = 1, 2, \dots, 100$), sendo que os tratamentos foram desdobrados entre famílias e entre progênie dentro de cada família;

$b_{j(k)}$: é o efeito do bloco j na geração k ($j = 1, 2, 3$);

a_k : é o efeito da geração k ($k = 1, 2, 3$);

$pa_{(ik)}$: é o efeito da interação tratamentos e gerações;

e_{ijk} : é o erro experimental médio ($e_{ijk} \sim n(0 \text{ e } \sigma^2)$);

A partir das análises conjuntas, estimatimaram-se as herdabilidades (h^2) para a seleção na média de progênes:

$$h^2 = \frac{QMP - QMI}{QMP}$$

Em que, QMP: quadrado médio entre progênes; QMI: quadrado médio da interação progênes x gerações.

Para a estimativa de h^2 para seleção na média das famílias, utilizou-se o QM entre famílias e o QM da interação entre famílias x Gerações.

Para as estimativas de h^2 para a seleção na média das progênes dentro de cada família, utilizou-se o estimador:

$$h^2 = \frac{QMP/FAn - QMIFAn}{QMP/FAn}$$

Em que: QMP/FAn: quadrado médio entre progênes dentro da família n; QMIFAn: quadrado médio da interação entre progênes dentro da família n x Gerações.

Os quadrados médios utilizados para a estimativa de h^2 , foram os mesmos utilizados para a estimativa dos intervalos de confiança segundo Knapp et al. (1985).

3 RESULTADOS

Os resumos das análises de variância individuais (ANAVAS) da produtividade das progênes avaliadas da população SR e do cruzamento biparental (CB), são apresentados no apêndice (Tabelas 1A e 2A). Os experimentos apresentaram, de modo geral, precisão experimental de média magnitude. As estimativas de acurácia (r_{gg}) variaram de 0,40 a 0,81. Observou-se que a fonte de variação (FV) tratamentos foi significativa em todos os experimentos da população de seleção recorrente (SR). A decomposição da FV tratamentos mostrou que entre as duas testemunhas utilizadas não se detectou diferença significativa em nenhum dos experimentos da população SR. De modo análogo, o contraste progênes vs testemunhas só foi significativo ($P \leq 0,01$) nas gerações S_{5:6} e S_{5:7} da SR.

A FV progênies só não foi significativa em uma safra, aquela em que se avaliou progênies $S_{2:5}$ na SR e $F_{2:5}$ no CB. A significância desta FV foi fundamental para que os objetivos da pesquisa fossem colimados. A FV entre famílias, como já mencionado, reflete a diferença entre as plantas S_0 na SR ou F_2 no caso CB, foi significativa ($P \leq 0.05$) em todas as gerações, exceto $S_{2:6}$ na SR. As FVs progênies/ famílias, que mostram a liberação da variabilidade dos locos em heterozigose das plantas S_0 (SR) ou F_2 (CB), foram muito variáveis e com pequena coincidência na significância entre duas ou mais gerações simultaneamente.

3.1 Avaliação das progênies do programa de Seleção Recorrente (SR)

Nas análises de variância conjuntas das progênies da SR (Tabela 1), ficou evidenciado o efeito das gerações, tanto nas progênies derivadas da geração S_2 como da S_5 . Nesse caso, não é possível inferir que a diferença entre as médias das gerações seja apenas função da constituição genética, isto é, redução na frequência de locos em heterozigose, mas principalmente devido ao efeito de época de semeadura (Tabela 2).

Tabela 1- Resumo das Análises de Variância conjuntas, das gerações de origem das progênies, S₂ e S₅, para produtividade de grãos (g/parcela). Dados referentes às avaliações das progênies do ciclo XIV de seleção recorrente por três gerações/safras sucessivas. Lavras, MG.

FV	GL	QM	
		S ₂	S ₅
Tratamentos	99	5042,21	8293,91
Gerações	2	553669,71**	218716,72**
Tratamentos x Gerações	198	4229,42**	8177,21**
Entre Progênies	97	5133,98	8424,52**
Prog x Gerações	194	4293,91**	8121,83**
Entre testemunhas	1	344,57	2743,74
Testemunhas x Gerações	2	1919,57	8060,12
Prog vs Testemunhas	1	838,29	1170,01
Entre Famílias	9	10211,14	13248,01
Entre progenies/família 1	9	3903,14	5065,44
Entre progenies/família 2	8	1230,75	10655,42
Entre progenies/família 3	9	6693,71*	2122,02
Entre progenies/família 4	9	6696,57	14284,91
Entre progenies/família 5	9	2747,71	11113,13
Entre progenies/família 6	9	4918,00	7289,72
Entre progenies/família 7	9	4200,57	4528,64
Entre progenies/família 8	8	6549,11	11199,22
Entre progenies/família 9	9	4302,86*	6701,71
Entre progenies/família 10	9	4743,71	7018,02**
Entre famílias x Gerações	18	6317,00*	27423,61**
Entre prog/família 1 x Gerações	18	5248,71*	3678,31
Entre prog/família 2 x Gerações	16	3458,09	12917,91**
Entre prog/família 3 x Gerações	18	2534,57	5731,42*
Entre prog/família 4 x Gerações	18	4743,86*	7402,73**
Entre prog/família 5 x Gerações	18	5314,29*	8608,74**
Entre prog/família 6 x Gerações	18	5352,00*	3886,72
Entre prog/família 7 x Gerações	18	4031,71	5680,01*
Entre prog/família 8 x Gerações	16	3523,82	5596,70*
Entre prog/família 9 x Gerações	18	1254,14	5961,32**
Entre prog/família 10 x Gerações	18	5276,43*	2705,11
Erro médio	423	2870,17	3000,46

* Teste F significativo ao nível de 5% de probabilidade. **Teste F significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 2 – Produtividade média de grãos (g/parcela) por geração/safra. Dados obtidos na avaliação das progênes derivadas das gerações S₂ e S₅ do ciclo XIV de seleção recorrente. Lavras, MG.

S ₂			S ₅		
Gerações de Avaliação	Época de semeadura	Média	Gerações de avaliação	Época de semeadura	Média
S _{2:4}	Águas 2015	226,8	S _{5:6}	Águas 2015	277,2
S _{2:5}	Seca 2016	315,6	S _{5:7}	Seca 2016	298,9
S _{2:6}	Inverno 2016	295,4	S _{5:8}	Inverno 2016	336,3
Média Geral		279,3	Média Geral		304,1

Veja que a FV tratamentos x gerações foi significativa (Tabela 1). Esse fato contribuiu para que mesmo a FV tratamentos tendo sido significativa para as análises individuais, não apresentasse significância na análise conjunta. Lembrando que nesse caso, essa FV (Tratamentos) foi testada pela interação tratamentos x gerações e não pelo erro experimental.

De modo análogo ao comentado anteriormente, a interação progênes x gerações foi significativa, porém nesse caso, apenas a FV “entre progênes” derivadas da S₂ não foi significativa (Tabela 1). Deve ser enfatizado também que a alta magnitude das interações famílias x gerações e entre progênes/famílias x gerações, contribuiu para que apenas em três situações fosse detectada diferença significativa entre progênes dentro de famílias, isto é, entre progênes das famílias 3 e 9 na geração S₂ e família 10 na geração S₅.

Como as interações progênes x gerações foram todas significativas, serão comentados, inicialmente, os resultados referentes às estimativas de herdabilidade (h^2) para a seleção na média das progênes por geração, para realçar que o comportamento das progênes não foi coincidente nas diferentes gerações (Tabela 3).

Quando se considerou a média das 100 progênes, ignorando a origem das famílias, verificou-se que a h^2 foi de média magnitude com as progênes derivadas de plantas S₂ e de magnitude mais elevada, acima de 56%, para as progênes S₅. Deve ser enfatizado que, se forem considerados os intervalos de confiança, as h^2 das diferentes gerações foram semelhantes tanto para S₂ como para S₅.

Já as estimativas da h^2 para a seleção na média das famílias, isto é, considerando a média das 10 progênes dentro de cada família, foram, em valor absoluto, de magnitude ligeiramente superior. Essa comparação é válida tanto para as estimativas envolvendo todas as progênes tanto de S₂ como de S₅. Entretanto, em se considerando os intervalos de confiança, há possibilidade que elas sejam também de mesma magnitude.

Tabela 3- Estimativas de herdabilidade (h^2) para a seleção entre média de progênes, do caráter produtividade de grãos (g/parcela), considerando todas as progênes entre famílias de cada geração e entre progênes/famílias do programa de seleção recorrente (SR).

FV	S _{2:4}	S _{2:5}	S _{2:6}	S _{5:6}	S _{5:7}	S _{5:8}
Entre Prog	48,0	17,1	28,5	62,7	60,2	56,3
	20,6 ^{1j} ; 65,7 ^{2j}	-17,0; 42,4	-1,0; 50,3	43,0; 75,4	43,8; 72,3	38,3; 69,6
Entre Fam	69,4	63,9	28,1	84,9	77,3	89,0
	30,4; 91,1	21,0; 89,3	-57,4; 78,7	65,6; 95,6	50,3; 93,3	76,0; 96,8
Prog/Fam 1	33,2	30,3	55,9	1,7	10,0	44,2
	-52,1; 80,5	-52,5; 79,4	3,6; 86,9	-123,6; 71,3	-97,0; 73,3	-22,2; 83,5
Prog/Fam 2	13,5	0,0	0,0	75,8	68,1	71,0
	-103,6; 77,0	-146,4; 70,7	-285,1; 54,2	43,1; 93,6	27,8; 91,4	34,2; 92,2
Prog/Fam 3	53,9	0,0	0,0	26,5	-149,2;	42,8
	-4,9; 86,5	-373,6; 35,9	-161,1; 64,7	-67,2; 78,5	66,3	-25,1; 83,1
Prog/Fam 4	61,5	0,0	41,7	71,3	76,4	28,9
	12,3; 88,7	-177,1; 62,5	-27,5; 82,7	34,7; 91,6	48,4; 93,0	-55,6; 78,9
Prog/Fam 5	32,3	27,1	47,5	68,1	70,5	55,2
	-54,1; 80,2	-59,6; 78,4	-14,9; 84,4	27,4; 90,7	35,4; 91,3	2,0; 86,7
Prog/Fam 6	58,8	17,7	24,6	37,4	38,5	28,9
	6,1; 87,9	-80,2; 75,6	-65,1; 77,6	-42,4; 81,7	-34,6; 81,8	-55,7; 78,9
Prog/Fam 7	40,8	10,0	21,6	35,7	56,4	26,2
	-34,8; 82,7	-97,0; 73,3	-71,6; 76,8	-46,3; 81,2	4,5; 87,1	-61,6; 78,1
Prog/Fam 8	51,6	0,0	27,9	67,9	48,7	12,8
	-13,8; 87,1	-147,8; 70,5	-63,4; 80,6	24,5; 91,5	-16,3; 86,2	-97,7; 76,5
Prog/Fam 9	0,0	0,0	0,0	51,4	65,4	-102,6;
	-151,7; 67,7	-239,3; 54,1	-195,2; 60,0	-10,6; 85,8	24,3; 89,8	72,6
Prog/Fam 10	46,1	36,5	46,2	38,1	42,9	-408,6;
	-22,6; 84,2	-39,0; 81,2	-17,8; 84,1	-40,9; 81,9	-25,1; 83,1	31,0

^{1j} Limite inferior e ^{2j} Limite superior do Intervalo de Confiança, $\alpha=0.05$ (KNAPP et al., 1985)

Quando se consideraram as estimativas de h^2 para a seleção entre as médias das dez progênes dentro de cada família, os resultados foram muito discrepantes. Em princípio, das 30 estimativas obtidas para as progênes derivadas de plantas S₂, nove foram nulas, e mesmo

algumas das estimativas em que h^2 não foi zero, como o limite inferior do intervalo de confiança foi negativo e de grande magnitude, elas também poderiam não ser diferentes de zero (Tabela 3). Quando se consideraram as estimativas de h^2 entre progênies dentro das famílias derivadas de plantas S_5 , apenas duas das 30 estimativas de h^2 apresentaram a estimativa por ponto nula. Entretanto, a mesma observação anterior deve ser feita, o limite inferior do intervalo de confiança foi negativo em várias situações.

As estimativas de h^2 quando se consideram a média das progênies envolvendo todas as gerações (Tabela 4), em comparação com as obtidas por geração/safra (Tabela 3) evidenciaram, novamente, a importância da interação progênies x gerações. Veja que quando se consideraram as progênies S_2 , em 50 % dos casos as estimativas de h^2 foram nulas. Deve ser ressaltado que, tanto para S_2 como para S_5 , praticamente todos os limites inferiores dos intervalos de confiança (IC) foram negativos.

Tabela 4 – Estimativas de herdabilidade (h^2) para a seleção entre média de progênies, do caráter produtividade de grãos (g/parcela), considerando as duas gerações de origem das progênies, S_2 e S_5 . LI e LS correspondem às estimativas do limite inferior e limite superior, respectivamente, do intervalo de confiança de h^2 considerando $\alpha=0.05$.

FV	S_2			S_5		
	LI%	h^2 %	LS%	LI%	h^2 %	LS%
Entre Progênies	-17,0	16,4	41,4	-34,9	3,6	32,5
Entre Famílias	-81,2	38,1	83,3	-506,3	0,0	44,1
Entre Prog/Família 1	-293,8	0,0	63,7	-112,6	27,4	80,4
Entre Prog/Família 2	-777,4	0,0	31,1	-278,8	0,0	70,3
Entre Prog/Família 3	-11,0	62,1	89,8	-691,1	0,0	27,0
Entre Prog/Família 4	-107,5	29,1	80,9	-51,8	48,2	86,0
Entre Prog/Família 5	-466,4	0,0	47,8	-126,9	22,5	79,1
Entre Prog/Família 6	-218,6	0,0	70,6	-56,2	46,7	85,6
Entre Prog/Família 7	-181,1	4,0	74,1	-267,4	0,0	66,1
Entre Prog/Família 8	-68,1	46,2	86,8	-56,2	50,0	87,7
Entre Prog/Família 9	14,6	70,8	92,1	-160,5	11,1	76,0
Entre Prog/Família 10	-225,8	0,0	70,0	-12,9	61,5	89,6

O foco principal do trabalho era de verificar se a variação genética liberada dentro das famílias foi semelhante à que ocorreu entre as famílias, como era esperado. Como houve grande variação nas estimativas dentro de cada uma das dez famílias, foi estimada uma média aritmética dos valores de h^2 entre progênies/famílias (Tabela 5). Quando se considerou a S_2 , em cada geração/safra, os resultados das h^2 médias dentro das famílias em comparação com a entre

famílias, foram discrepantes. Por exemplo, avaliando $S_{2:6}$, as h^2 foram praticamente iguais. Já quando foram avaliadas progênes $S_{2:5}$, a estimativa entre famílias foi maior. Todavia, quando se considerou os IC's de h^2 , os valores podem ser semelhantes. Os mesmos comentários são válidos para as progênes S_5 . Considerando as h^2 na análise conjunta, a média dentro de famílias foi semelhante à entre famílias para as progênes S_2 . No caso da S_5 , entre famílias a h^2 foi nula, como já comentado e então, diferente do que ocorreu com a h^2 dentro.

Tabela 5 – Estimativas das herdabilidades (h^2) entre famílias e médias das h^2 dentro de famílias.

Dados obtidos na avaliação de progênes do programa de seleção recorrente (SR), por geração de obtenção das progênes. Caráter produtividade de grãos (g/parcela)

Geração	S_2		S_5	
	Entre famílias (%)	Média dentro de famílias (%)	Entre famílias (%)	Média dentro de famílias (%)
$S_{2:4}$ ou $S_{5:6}$	69,4	39,2	84,9	47,4
	30,4 ^{1j} ; 91,1 ^{2j}	-41,9; 82,2	65,6; 95,6	-20,1; 84,8
$S_{2:5}$ ou $S_{5:7}$	63,9	12,2	77,3	47,7
	21,9; 89,3	-141,2; 68,2	50,3; 93,3	-18,2; 84,3
$S_{2:6}$ ou $S_{5:8}$	28,1	26,5	89,0	31,7
	-57,4; 78,7	-89,8; 75,2	76,0; 96,8	-79,2; 76,2
Médias	38,1	21,2	0,0	26,7
Conjunta	-81,2; 83,3	-233,5; 70,7	-506,3; 44,1	-181,5; 74,8

^{1j} Limite inferior e ^{2j} Limite superior do Intervalo de Confiança $\alpha=0.05$. (KNAPP et al., 1985)

Observando as tabelas de médias de produtividade de grãos, os resultados já comentados podem ser confirmados (Tabelas 6 e 7). É oportuno salientar que não foi realizada uma análise combinada envolvendo os dois tipos de progênes S_2 e S_5 . Como os experimentos foram sempre colocados bem próximos na área experimental, é possível fazer a comparação entre as médias obtidas. Veja que a média de produtividade das 100 progênes S_2 , avaliadas nas três gerações, 279g/parcela, foi 8,2% inferior à obtida na média de S_5 . Já foi mencionado que entre famílias o QM não foi significativo (Tabela 1) e a h^2 pode ter sido nula tanto para S_2 como para S_5 . As médias obtidas refletem bem esse resultado. A amplitude de variação (AV) entre famílias foi em S_2 de 14,6%, em relação à média geral, e 16,8% em S_5 (Tabelas 2 e 8).

Tabela 6 – Produtividade média de grãos (g/parcela) referente às progênes avaliadas dentro de cada família. Dados obtidos com as progênes do ciclo XIV de Seleção Recorrente derivadas de plantas S_2 nas gerações $S_{2:4}$, $S_{2:5}$ e $S_{2:6}$.

Famílias S_2										
Progênes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	261	278	299	238	275	334	260	222	298	312
2	278	284	283	246	250	273	298	238	282	315
3	251	272	264	230	242	277	304	323	228	323
4	296	-	311	324	268	338	265	288	286	273
5	265	265	235	258	285	295	314	254	293	306
6	321	267	300	242	259	294	263	270	281	308
7	272	303	306	273	285	260	312	266	258	280
8	265	279	277	289	293	277	264	280	314	252
9	300	264	224	245	282	286	281	-	292	331
10	302	288	284	235	299	299	254	272	287	288
Médias Gerais	281	277	278	258	273	293	281	268	281	298
Testemunhas	Carioca	277	Pérola	267						

Tabela 7 – Produtividade média de grãos (g/parcela) referente às progênes avaliadas dentro de cada família. Dados obtidos com as progênes do ciclo XIV de Seleção Recorrente derivadas de plantas S_5 nas gerações $S_{5:6}$, $S_{5:7}$ e $S_{5:8}$.

Famílias S_5										
Progênes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	300	377	298	293	329	269	347	318	242	334
2	236	350	311	285	273	309	280	278	310	320
3	318	351	289	359	313	358	290	345	285	324
4	262	-	313	254	286	308	275	346	275	338
5	301	297	292	310	352	252	312	287	308	277
6	278	397	333	374	377	306	287	325	312	310
7	293	303	273	257	317	292	297	251	337	259
8	313	285	304	257	311	299	322	261	318	311
9	267	333	312	304	281	338	288	-	340	275
10	297	341	315	259	250	319	266	255	295	351
Médias Gerais	286	337	304	295	309	305	296	296	302	310
Testemunhas	Carioca	326	Pérola	299						

Analisando as médias de cada progênie dentro das famílias, verifica-se que a AV não foi grande (Tabelas 6 e 7). A maior estimativa da AV em S_2 , 31,3% em relação à média da família foi entre progênes/família 3, quando se considerou S_2 , sendo essa uma das FV que foi significativa e a estimativa de h^2 foi alta ($h^2=62,1\%$) (Tabelas 4 e 6). Quando se observam os resultados médios da S_5 , a única FV progênes/família significativa (Tabela 1), foi para a família 10. Nesse caso, a AV em relação à média da família, foi de 24,2% e $h^2=61,5\%$ (Tabelas 7 e 4).

Para comprovar a liberação da variabilidade genética entre e dentro das famílias, foi estimada a amplitude de variação das médias entre famílias e a média geral da AV dentro das famílias. Veja que coerentemente com os resultados das estimativas de h^2 , os valores foram discrepantes. Entretanto, em todos os casos, a AV dentro foi maior que a entre famílias. Embora não fosse estimado o intervalo de confiança das médias, elas devem se sobrepor (Tabela 8).

Tabela 8- Estimativas das Amplitudes de Variação (g/parcela) entre as médias das famílias e dentro das famílias. Dados obtidos para avaliação das progênes da seleção recorrente (SR) considerando as duas gerações de origem das progênes, S₂ e S₅.

Geração	S ₂		S ₅	
	Entre famílias	Entre médias dentro de famílias	Entre famílias	Entre média dentro de famílias
S _{2:4} ou S _{5:6}	63,8	161,5	113,8	196,3
S _{2:5} ou S _{5:7}	52,0	92,2	55,0	119,0
S _{2:6} ou S _{5:8}	30,3	104,0	97,0	129,8
Conjunta	40,8	75,1	51,0	97,0

3.2 Avaliação das progênes do cruzamento biparental Pérola x Madrepérola (CB)

O efeito de gerações nos dois grupos de progênes, derivadas de F₃ e F₆, ficou claro com os resultados das análises de variância conjuntas (Tabela 9). Mais uma vez, o efeito da época de semeadura deve ter tido grande influência nos resultados obtidos (Tabela 10). A interação progênes x gerações também foi de grande magnitude, mas mesmo com essa alta magnitude de interação, a FV entre progênes foi significativa nos dois casos.

Tabela 9 - Resumo das Análises de Variância conjuntas para produtividade de grãos (g/parcela), referentes às avaliação das progênies nas duas gerações de origem, F₃ e F₆ do cruzamento ‘Pérola’ x ‘Madrepérola’ por três gerações/safras. Lavras, MG.

FV	GL	QM	
		F ₃	F ₆
Progênies	99	11002,52**	15778,94**
Gerações	2	296942,10**	190299,86**
Progênies x Gerações	198	6307,96**	6644,55**
Entre Famílias	9	45982,29**	58037,71**
Entre progênies/família 1	9	6314,00	11497,71
Entre progênies/família 2	9	9996,00	7655,71
Entre progênies/família 3	9	4654,86	17348,57**
Entre progênies/família 4	9	6078,57	11764,57
Entre progênies/família 5	9	6054,00	20607,14*
Entre progênies/família 6	9	6051,43	11670,00
Entre progênies/família 7	9	6448,00	9940,29**
Entre progênies/família 8	9	18154,86	3124,86
Entre progênies/família 9	9	5265,14	14773,71
Entre progênies/família 10	9	6028,57	7148,57
Entre famílias x Gerações	18	13675,29**	14676,71**
Entre prog/ família 1 x Gerações	18	4001,14	4833,71
Entre prog/ família 2 x Gerações	18	7761,29*	7009,29*
Entre prog /família 3 x Gerações	18	4601,86	4183,29
Entre prog /família 4 x Gerações	18	4989,57	5893,29
Entre prog /família 5 x Gerações	18	5506,57	6097,00
Entre prog /família 6 x Gerações	18	3658,29	8827,57**
Entre prog /família 7 x Gerações	18	8433,14**	2014,00
Entre prog /família 8 x Gerações	18	8246,29**	7106,14*
Entre prog /família 9 x Gerações	18	4902,71	6804,86*
Entre prog /família 10 x Gerações	18	3611,43	5644,14
Erro médio	423	3934,22	3907,06

* Teste F significativo ao nível de 5% de probabilidade. **Teste F significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 10 – Produtividade média de grãos (g/parcela). Dados obtidos considerando as duas gerações de origem das progênes, F₃ e F₆ do cruzamento Pérola x Madrepérola, nas diferentes gerações de avaliação. Lavras, MG.

F ₃			F ₆		
Gerações de Avaliação	Época de semeadura	Média	Gerações de Avaliação	Época de semeadura	Média
F _{3:5}	Inverno 2016	294,3	F _{6:7}	Inverno 2016	299,3
F _{3:6}	Águas 2016	228,3	F _{6:8}	Águas 2016	250,7
F _{3:7}	Seca 2017	275,2	F _{6:9}	Seca 2017	296,2
Média Geral		265,9	Média Geral		282,1

Assim como houve interação progênes x gerações, houve também significância ($P \leq 0,01$) para as interações entre famílias x gerações e entre progênes/famílias x gerações. Vale destacar que na geração F₃, a FV entre famílias foi significativa, no entanto, não houve nenhum caso de significância entre progênes/famílias. Já para as progênes derivadas de plantas F₆, a FV entre famílias foi significativa, assim como entre progênes dentro das famílias 3 ($P \leq 0,01$), 5 e 7 ($P \leq 0,05$) (Tabela 9).

As estimativas de h^2 considerando a média das 100 progênes foram de média magnitude tanto para progênes derivadas de F₃ como para as derivadas de F₆ (Tabela 11). As estimativas variaram de 24,5% a 65,2% para F₃ e de 58,7% a 62,7% para F₆. Deve ser ressaltado que, no caso dessa população, nem todos os intervalos de confiança se sobrepõem.

As estimativas de h^2 para a seleção na média das famílias, que equivale à h^2 para a seleção na média das progênes F₃ se o método continuasse sendo o bulk/F₃, apresentou valores bem mais elevados. As estimativas foram superiores a 71% para progênes derivadas de F₃ e a 79% para as progênes F₆. Vale ressaltar que os intervalos de confiança foram de menor amplitude, além disso, nenhum limite inferior foi negativo para os dois grupos avaliados (Tabela 11).

As estimativas de h^2 quando se considerou a seleção entre média de progênes dentro de cada família foi muito variada, analogamente ao que ocorreu com as progênes da SR. Em geral, as estimativas das progênes derivadas de F₃ tiveram baixa magnitude. Das 30 estimativas de h^2 , oito foram nulas e muitas outras, apresentaram limite inferior negativo, podendo também serem nulas (Tabela 11).

As estimativas de h^2 entre progênes dentro de famílias derivadas de plantas F₆, foram, em geral, de magnitude superior quando comparadas às estimativas do grupo F₃. Das 30

estimativas, apenas quatro foram nulas. No entanto, deve-se ressaltar que os limites inferiores de muitas delas foram negativos, indicando que elas podem também ser zero (Tabela 11).

Tabela 11- Estimativas de herdabilidade (h^2) para a seleção entre média de progênes, do caráter produtividade de grãos (g/parcela), considerando todas as progênes entre famílias de cada geração e entre progênes/famílias do cruzamento Pérola x Madrepérola.

FV	F _{3:5}	F _{3:6}	F _{3:7}	F _{6:7}	F _{6:8}	F _{6:9}
Entre Prog	58,1	24,5	65,2	58,7	62,7	61,9
	36,1 ¹¹ ;72,3 ²¹	-6,5;47,3	50,9; 75,7	36,9; 72,7	47,4; 74,0	46,3; 73,4
Entre Fam	74,4	71,7	92,4	79,0	90,3	89,0
	41,9;92,5	38,1;71,7	83,4; 97,8	52,2; 93,9	78,7; 97,1	75,9; 96,7
Prog/Fam 1	22,1	0,0	45,9	62,5	24,6	25,4
	-77,2;77,2	-153,3;65,7	-18,5;84,0	14,7; 89,0	-65,1; 77,7	-63,2; 77,9
Prog/Fam 2	55,0	49,4	65,5	60,1	21,8	40,9
	-2,4;86,8	-10,7;85,0	24,4; 89,8	9,3; 88,3	-71,2; 76,8	-29,4; 82,5
Prog/Fam 3	37,5	9,7	11,0	54,9	59,5	53,6
	-42,2;81,7	-97,6;73,3	-94,8; 73,6	-2,5; 86,8	11,3; 88,0	-1,6; 86,2
Prog/Fam 4	53,8	14,7	8,9	54,8	35,4	56,7
	-5,2;86,5	-86,7;74,7	-99,5; 73,0	-2,8; 86,8	-41,3; 80,9	5,3; 87,2
Prog/Fam 5	48,7	0,0	50,1	68,9	70,2	53,5
	-16,6;85,0	-172,2;63,1	-9,3;85,2	29,1; 90,9	34,7; 91,2	-1,9; 86,2
Prog/Fam 6	50,2	0,0	0,0	32,7	0,0	80,7
	-13,4;85,4	-154,1;65,6	-166,7;63,9	-53,1; 80,3	-154,1; 65,6	57,7; 94,3
Prog/Fam 7	71,0	0,0	53,5	0,0	0,0	50,5
	34,0;91,5	-148,3;66,4	-1,8; 86,2	-176,7; 64,4	-167,9; 63,7	-8,5; 85,3
Prog/Fam 8						0,0
	77,8	48,2	68,5	34,2	63,0	-249,8;
	49,5;93,5	-13,4;84,6	31,1; 90,7	-49,7; 80,8	19,0; 89,0	52,6
						6,8
Prog/Fam 9	54,1	0,0	7,6	68,6	69,8	-104,0;
	-4,5;86,6	-141,4;67,3	-102,3; 72,6	28,6; 90,8	33,9; 91,0	72,4
Prog/Fam 10	0,0	0,0	54,8	50,4	34,4	19,4
	-129,8;70,5	-320,1;43,1	1,2; 86,6	-12,8; 85,5	-43,9; 80,5	-76,5; 76,1

¹¹ Limite inferior e ²¹ Limite superior do Intervalo de Confiança de Knapp et al.(1985), $\alpha=0.05$.

A importância da interação progênes x gerações foi novamente constatada por meio das estimativas de h^2 considerando a média das progênes envolvendo todas as gerações (Tabela 12). Observa-se que para a geração F₃ todos os limites inferiores foram negativos, com exceção da estimativa para progênes. Para a geração F₆, os únicos limites inferiores positivos, correspondem aos casos em que houve significância no teste F, ou seja, as fontes de variação “progênes”, “entre famílias” e entre progênes dentro das famílias 3, 7 e 5 (Tabela 9).

Tabela 12 – Estimativas de herdabilidade (h^2) para a seleção entre média de progênes, do caráter produtividade de grãos (g/parcela), considerando todas as progênes entre famílias de cada grupo de progênes e entre progênes/famílias. LI e LS correspondem às estimativas do limite inferior e limite superior, respectivamente, do intervalo de confiança de h^2 considerando $\alpha=0.05$. Progênes derivadas do cruzamento biparental Pérola x Madrepérola.

FV	F ₃			F ₆		
	LI %	h^2 %	LS%	LI%	h^2	LS
Entre Progênes	20,0	42,7	59,7	41,3	57,9	70,4
Entre Famílias	-771,2	0,0	19,6	25,9	74,7	93,2
Entre Prog/Família 1	-86,4	36,4	82,8	-23,2	58,0	88,6
Entre Prog/Família 2	-127,4	22,4	79,0	-168,2	8,4	75,3
Entre Prog/Família 3	-189,7	1,1	73,3	29,4	75,9	93,5
Entre Prog/Família 4	-140,4	17,9	77,8	-46,7	49,9	86,5
Entre Prog/Família 5	-166,4	9,0	75,4	13,3	70,4	92,0
Entre Prog/Família 6	-77,1	39,5	83,7	-121,6	24,3	79,6
Entre Prog/Família 7	-283,1	0,0	64,7	40,7	79,7	94,5
Entre Prog/Família 8	-33,1	54,6	87,7	-566,3	0,0	38,5
Entre Prog/Família 9	-172,7	6,9	74,8	-34,9	53,9	87,6
Entre Prog/Família 10	-75,4	40,1	83,8	-131,3	21,0	78,7

Assim como foi feito para as progênes de SR, foi estimada a média das estimativas de h^2 entre progênes dentro de famílias (Tabela 13). Os comentários feitos para a população anterior (SR) são válidos nesse caso, população biparental. Ou seja, houve grande discrepância entre os valores de h^2 média dentro e entre famílias. Novamente, quando se avaliam os IC's os valores de h^2 podem ser iguais.

Tabela 13 - Estimativas das herdabilidades (h^2) entre famílias e médias das h^2 dentro de famílias. Dados obtidos na avaliação de progênes do cruzamento ‘Pérola’ x ‘Madrepérola’ por geração de obtenção das progênes. Caráter produtividade de grãos (g/parcela).

Geração	F ₃		F ₅	
	Entre famílias (%)	Média dentro de famílias (%)	Entre famílias (%)	Média dentro de famílias (%)
F _{3:5} ou F _{6:7}	74,4	47,0	79,0	48,7
	41,9; 92,5	-20,8; 84,5	52,2; 93,9	-21,6; 84,4
F _{3:6} ou F _{6:8}	71,7	12,2	62,5	37,9
	38,1; 71,7	-129,8; 68,9	14,7; 89,0	-44,5; 80,4
F _{3:7} ou F _{6:9}	92,4	36,6	60,1	38,7
	83,4; 97,8	-43,6; 80,6	9,3; 88,3	-47,2; 80,1
Médias Conjunta	0,0	22,8	74,7	46,7
	-771,2; 19,6	-135,2; 78,3	25,9; 93,2	-97,5; 81,8

Quando se observam as tabelas de médias de produtividade (Tabelas 14 e 15), os resultados da ANAVA e estimativas de h^2 já comentados podem ser confirmados. A AV na média das progênes entre famílias foi muito semelhante nos dois grupos de progênes, isto é, na F₂ foi de 29,8% e na F₆ 26,0% em relação à média geral do respectivo grupo (Tabelas 10 e 16).

A AV quando se avaliam as médias de cada progênie dentro das famílias foi também expressiva. A maior estimativa da AV em relação à média da família, na F₃ foi de 60,9%, entre progênes/família 8 (Tabela 14). Vale ressaltar que muito embora essa FV não tenha sido significativa na ANAVA conjunta (Tabela 9), a respectiva interação, isto é, entre progênes/família 8 x gerações foi significativa e de alta magnitude, o que pode explicar a não significância da FV entre progênes/família 8. Para F₆ as AVs também foram elevadas (Tabela 15). No caso das famílias, 3, 5 e 7, em que a FV entre progênes/família foi significativa, a AV em relação à suas respectivas médias foram de 43,3%, 45,9% e 53,5%. Mas assim como para as progênes F₃, na F₆ houve caso de AV expressiva e não significância do teste F (Tabela 9). A AV entre progênes da família 9 foi de 51,9% em relação à média da família. Mais uma vez a interação entre progênes/família x gerações deve explicar esse fato.

Tabela 14 - Produtividade média de grãos (g/parcela) referente às progênes avaliadas dentro de cada família. Dados obtidos com as progênes do cruzamento biparental Pérola x Madrepérola derivadas de plantas F₃ nas gerações F_{3:5}, F_{3:6} e F_{3:7}.

Progênes	Famílias F ₃									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	371	259	257	238	301	280	242	403	231	290
2	289	253	208	218	287	226	305	311	241	238
3	297	224	253	231	222	269	266	259	302	263
4	279	204	277	253	295	191	269	329	277	268
5	291	192	279	245	307	243	251	270	303	260
6	277	207	259	214	240	253	256	317	284	262
7	292	178	238	286	305	204	278	293	295	244
8	280	282	276	280	275	231	265	221	290	196
9	300	174	291	293	283	247	322	306	284	294
10	268	222	279	268	284	261	322	279	247	270
Médias Gerais	294,4	219,6	261,7	252,6	279,9	240,5	277,7	298,8	275,5	258,5

Tabela 15- Produtividade média de grãos (g/parcela) referente às progênes avaliadas dentro de cada família. Dados obtidos com as progênes do cruzamento biparental Pérola x Madrepérola derivadas de plantas F₆ nas gerações F_{6:7}, F_{6:8} e F_{6:9}.

Progênes	Famílias F ₆									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	318	242	238	307	295	285	264	320	301	271
2	282	260	334	270	270	321	195	312	277	267
3	245	280	324	261	255	223	248	278	217	209
4	319	290	367	321	271	228	218	322	342	236
5	275	190	229	208	347	307	261	296	282	254
6	275	212	327	250	357	249	239	324	320	245
7	364	223	322	254	346	301	217	324	264	256
8	302	235	349	329	221	209	240	275	330	271
9	354	272	333	317	357	252	257	323	299	324
10	342	249	362	297	244	244	327	288	373	237
Médias Gerais	307,4	245,2	318,6	281,4	296,3	261,8	246,5	306,2	300,5	256,9

Os resultados da variação das médias entre famílias e a média geral da AV dentro de famílias também foram concordantes com as estimativas de h^2 , ou seja os valores não foram muito semelhantes. No entanto, assim como aconteceu com as progênes de SR, em todos os casos, a AV dentro de famílias foi maior que a AV entre famílias (Tabela 16).

Tabela 16- Estimativas das Amplitudes de Variação (g/parcela) entre as médias das famílias e dentro das famílias. Dados obtidos para a avaliação das progênes do cruzamento ‘Pérola’x ‘Madrepérola’, considerando as duas gerações de origem das progênes, F₃ e F₆.

Gerações	F ₃		F ₆	
	Entre famílias	Entre média dentro de famílias	Entre famílias	Entre média dentro de famílias
F _{3:5} ou F _{6:7}	78,8	179,7	93,3	186,8
F _{3:6} ou F _{6:8}	76,2	128,1	108,7	139,5
F _{3:7} ou F _{6:9}	137,0	167,2	103,1	166,5
Conjunta	79,2	98,0	73,3	117,8

4 DISCUSSÃO

A precisão experimental do caráter produtividade de grãos é normalmente baixa para a cultura do feijoeiro, como ocorreu nesse trabalho em alguns experimentos, principalmente quando se tem muitas progênes sendo avaliadas com parcelas de apenas uma linha com pequeno número de plantas (RAMALHO et al., 2012; GUILHERME et al., 2014). Segundo Resende e Duarte (2007), experimentos com r_{gg} inferior a 40% são considerados de baixa precisão. Esse é um dos maiores desafios dos melhoristas, avaliar grande número de progênes com alta precisão experimental. Mesmo assim, nesse trabalho, nas análises individuais a FV progênes, na maioria dos casos, mostrou ocorrer diferença entre as progênes. Como já comentado, essa condição é fundamental para o que se propunha na pesquisa.

Nesse trabalho foram utilizadas progênes do ciclo XIV de um programa de seleção recorrente (SR) cujo foco de seleção era a produtividade de grãos. A existência de variação genética para a produtividade de grãos nos ciclos anteriores foi relatada em algumas oportunidades (RAMALHO et al., 2005; SILVA et al., 2010) e como já mencionado foi confirmado nesse trabalho. Isto é, mesmo após 14 ciclos seletivos ainda foi possível detectar variação entre as progênes. Esse fato é ainda mais expressivo considerando que o número de progênes envolvidas, para representar a população S₀ foi pequeno, apenas dez. Foram também

envolvidas na pesquisa progênies do cruzamento biparental entre os genitores ‘Pérola’ e ‘Madrepérola’ que também foram divergentes, como era esperado.

Vale ressaltar que escolheram-se duas populações que tivessem diferentes estruturas genéticas para que os resultados pudessem ser generalizados. O método do Bulk/ F_2 ou S_0 é muito utilizado tanto para a SR como para CB no feijoeiro. No CB, a frequência alélica, teórica, da população segregante deve ser de 0,5 e na SR dificilmente será 0,5. Assim, em uma população F_2 tem-se uma mistura de plantas cuja constituição genética de cada uma é equivalente à geração F_1 , pois todas são oriundas da união de dois gametas. O gameta duplicado é uma linhagem. Considerando que estão segregando vários genes, em média, cada indivíduo terá a mesma frequência de locos em homozigose e heterozigose (WRICKE; WEBER, 1986; PEREIRA et al., 2018, capítulo 2). Assim, a descendência de cada indivíduo da F_2 misturada irá corresponder a um Bulk/ F_2 , cuja segregação, na média, é esperada que seja a mesma, embora os locos em que estão fixados alelos favoráveis ou desfavoráveis possam ser diferentes. Usando a denominação adotada neste trabalho, essa diferença na constituição genética das diferentes plantas F_2 é avaliada entre famílias. O que ocorre dentro de cada planta – o bulk- é na média, igual para todos os casos. Possíveis diferenças são função da amostragem ou da constituição diferente dos locos que estão segregando ou não.

Na população da SR, como já foi mencionado, a frequência alélica da população não será 0,5. Contudo, cada indivíduo S_0 é também um F_1 com comportamento semelhante ao comentado anteriormente. A diferença mais marcante é entre famílias, entre indivíduos S_0 . Não só em função da diferença na frequência alélica, como também de uma possível ocorrência de alelos múltiplos o que é esperado na SR, haja vista que na obtenção da população estão envolvidos alelos de vários genitores que iniciaram o processo.

Como já enfatizado, os resultados em termos de estimativas de herdabilidade, que refletem a liberação da variabilidade genética, e das estimativas de média, desconsiderando o efeito ambiental, foram muito semelhantes nos dois casos. Inclusive, a maioria das discussões serão realizadas indistintamente para as duas populações.

Na recomendação de uma nova linhagem para os agricultores, existe um enorme desafio, avaliar as progênies/linhagens nas condições disponíveis nas estações experimentais, esperando que elas reflitam o que irá ocorrer no futuro nas propriedades dos milhares de agricultores que, se espera, irão utilizar a linhagem recomendada. Dizendo de outro modo, avaliar as progênies de modo a representar as condições em que elas serão utilizadas no futuro, mitigando assim, os efeitos da interação genótipos x ambientes. Os resultados obtidos nesse trabalho, envolvendo as três gerações/safras, em um único local, já possibilitam inferir sobre a

dificuldade de manusear a interação. As fontes de variação envolvendo progênes x gerações foram quase sempre de grande magnitude (Tabelas 1 e 7). Esse fato é frequentemente relatado nos experimentos com a cultura do feijoeiro conduzidos na região (LIMA; RAMALHO; ABREU, 2012; FERREIRA et al., 2015; LEMOS, 2017).

Deve ser enfatizado que não foi possível isolar o efeito de gerações da época de semeadura pois para isso seria necessário avaliar as três gerações de cada grupo de progênes simultaneamente. Contudo, o efeito de gerações teria reflexo, principalmente, na redução dos locos em heterozigose com a endogamia. Em termos da média, era esperada mudança expressiva entre gerações com o efeito da endogamia apenas se a interação alélica de dominância fosse a predominante para os locos que estavam segregando. Nesse caso, se a dominância fosse no sentido de aumentar a expressão do caráter, a média deveria reduzir com a endogamia. Relatos na literatura não são muito concordantes a respeito da dominância no caráter produtividade de grãos do feijoeiro (MORETO et al., 2007; BALDONI; RAMALHO; ABREU, 2008; MARTINS et al., 2017; PEREIRA et al., 2007; GUILHERME et al., 2014). Contudo, mesmo nos casos em que ela foi importante, a vantagem do heterozigoto não foi muito acentuada.

Quando se comparou a média das gerações, independente do cruzamento (Tabelas 2 e 10) os resultados foram erráticos, isto é, não foram previsíveis como era esperado em função apenas da endogamia, especialmente na SR. Usando o raciocínio mencionado anteriormente, a média deveria reduzir de uma geração para outra mais avançada e não aumentar, como ocorreu com o cruzamento biparental. Assim, as diferenças entre gerações devem ser creditadas, predominantemente, à diferenças ambientais entre as safras em que foram conduzidas as gerações. Depreende-se que a interação progênes x gerações/safras observada foi consequência, predominantemente, da interação progênes x condições climáticas e de manejo.

O fato que mais chamou atenção foi a existência de variação entre as progênes, detectada nas ANAVA's (Tabelas 1A e 2a), e o mesmo não ocorrendo na média dos ambientes. Esse fato refletiu também nas estimativas da h^2 para a seleção na média das progênes. É esperado que quando se avaliam as progênes em mais ambientes, mais repetições na obtenção da média, maior deve ser a estimativa da h^2 . As expressões que possibilitam estimar a h^2 evidenciam esse fato (BERNARDO, 2010; RAMALHO et al., 2012). A variância fenotípica, por exemplo, que é o denominador da expressão de h^2 é obtida pela divisão do Quadrado Médio entre progênes pelo número de dados que originaram a média. Se os experimentos tiverem a mesma precisão, fica fácil entender que a estimativa da h^2 deve aumentar. Contudo, neste trabalho, como já comentado, ela reduziu. Inclusive, em várias situações, na média dos

ambientes, foi nula (Tabelas 4 e 10). Isso ocorreu porque quando se realizam vários experimentos de avaliação de progênies, nas estimativas de variância genética entre progênies (V_p), o QM de progênies é subtraído pelo QM da interação e não pelo QM do erro médio. Se a interação é expressiva, a variação genética reduz e pode ser até nula, como ocorreu em vários casos. A literatura, com a cultura do feijoeiro, envolvendo várias condições ambientais, tem inúmeros resultados semelhantes aos obtidos nessa pesquisa (SILVA et al., 2004; LIMA; RAMALHO; ABREU, 2012; MARTINS et al., 2016).

Nesse trabalho foram obtidas diferentes estimativas de h^2 para a seleção na média das progênies. Em um primeiro momento interessam as estimativas envolvendo todas as 100 progênies de cada geração de origem nas três gerações/épocas de avaliação. A menor estimativa, 3,6% foi para as progênies S_5 na SR (Tabela 4) e a maior foi 57,9% na F_6 do cruzamento biparental (Tabela 10). Quando se comparam as estimativas de h^2 apenas da SR, por exemplo, em S_2 foi de 16,4% e em S_5 , como já comentado, igual a 3,6%. Veja contudo, que o intervalo de confiança de h^2 não permite inferir que essas duas estimativas sejam diferentes de zero. O IC de h^2 depende do grau de liberdade (GL) da FV progênies, do GL do erro, nesse caso, da interação, do QM de progênies e do QM da interação, sendo que a magnitude do QM da interação depende da variância do erro. Essa observação pode ser confirmada pelo estimador do IC de Knapp et al.(1985), que foi utilizado (pag 84). Os GL's, nesse caso, não foram pequenos, então o que deve ter realmente afetado é a variância da interação e a variância do erro.

A variância da interação, pelo menos em princípio, está fora do controle dos melhoristas. Já a variância do erro depende da precisão experimental, que é função do número de repetições e do manejo dos experimentos. Nesse caso, como já comentado, a precisão não foi muito alta, devido ao emprego de poucas repetições e parcelas experimentais pequenas. Vale salientar que estimativas de h^2 apresentadas na literatura, nos ciclos anteriores desse programa de SR, foram maiores em valores absolutos, Ramalho et al.(2005), utilizando o ciclo VI, estimou a h^2 de 46,3%. Já Silva et al. (2010), na média de várias gerações dos ciclos VIII e IX, estimaram h^2 de 34,3%. Deve ser enfatizado que, embora em valor absoluto a magnitude seja diferente, os IC's se sobrepõem. Adicionalmente, a comparação não é muito apropriada porque envolve, nos dois trabalhos citados, progênies $S_{0:1}$ e $S_{0:2}$ que são, evidentemente, diferentes de $S_{2:4}$, $S_{2:5}$, $S_{2:6}$ e $S_{5:6}$, $S_{5:7}$ e $S_{5:8}$. Era esperado que nesse trabalho, por se ter utilizado progênies com nível maior de endogamia, a h^2 fosse maior, devido à maior liberação da variabilidade dentro das progênies. Contudo, a população S_0 original foi de apenas dez plantas S_0 , embora fossem avaliadas 100 progênies, o que é uma amostragem bem diferente dos trabalhos supracitados.

Uma outra estimativa de h^2 obtida nesse trabalho foi entre famílias. Essas estimativas representam a variação genética entre as plantas S_0 . Nesse caso, para as duas gerações de origem, S_2 e S_5 na SR e F_3 e F_6 no biparental, os resultados foram muito discrepantes. Associado ao IC também grande, inviabiliza inferir que sejam diferentes. Nesse caso particular, o principal fator do IC de h^2 elevado foi a questão da amostragem. Foram apenas dez plantas S_0 , como já comentado anteriormente. A diferença em S_2 e S_5 ou F_3 e F_6 é apenas na amostragem que foi realizada dentro das progênies $S_{0:2}$ e $S_{0:5}$ ou F_3 e F_6 . Se ocorreu diferença, é função apenas da amostra utilizada para representar cada planta S_0 . Na simulação realizada por Pereira et al. (2018), capítulo 2, foi considerada uma situação com diferentes números de locos segregando e o efeito de amostragem em uma população biparental F_2 com 2000 indivíduos e cada amostra repetida 1000 vezes. O que se constatou é que cada indivíduo F_2 tem, praticamente mesma frequência média de locos em homozigose e heterozigose. A amplitude de variação nessa frequência alélica, diminui com o aumento do número de locos. Isto é, poucos indivíduos devem representar o que ocorre em termos de locos em homozigose e heterozigose, mas não dos locos como um todo. Assim, a simulação realizada não teve como objetivo avaliar qual seria o número para representar a população F_2 .

O número de progênies utilizadas na literatura, quando se estima a h^2 da população tem sido muito variável (SANTOS et al., 2002; SILVA et al., 2004; PEREIRA et al., 2017). Os valores da amplitude de variação (AV), divididos pelo desvio padrão (σ) da amostra quando se considera uma distribuição normal, apresentada por Steel; Torrie; Dickey (1997) (Tabela A.2, pg. 610), mostra que com amostra de tamanho 20, a AV é de 3,7 vezes o σ . Com 30, esse número passa para 4.1 e assim, sucessivamente. Na tabela é possível inferir que usar amostra acima de 100, o esforço adicional não compensa o que se ganha em termos de AV.

Deve ser enfatizado entretanto, que o objetivo desse trabalho não era estimar a h^2 da população, e sim, mostrar que a variação dentro da progênie é equivalente ao que ocorre entre progênies. Em função dos comentários realizados anteriormente, isto é, tamanho de amostra, precisão experimental não muito alta e a interação das progênies x ambientes, as estimativas de h^2 dentro de cada família foram muito variáveis. Por isso optou-se por utilizar as médias das h^2 dentro das famílias para fazer a comparação com os resultados entre famílias (Tabelas 5 e 13). Embora as estimativas entre, para a SR, tenham sido maiores que as dentro em cada geração, os intervalos de confiança se sobrepõem e elas podem ser consideradas semelhantes. Para o cruzamento biparental as mesmas observações são válidas. Deve ser salientado, contudo, que elas só deveriam ser iguais se não ocorressem mais locos em heterozigose dentro das progênies. Especialmente no avanço das progênies derivadas de plantas S_2 e F_3 ainda é esperada a

ocorrência de uma pequena porcentagem de locos em heterozigose (PEREIRA, 2018 – capítulo 2).

Infelizmente, não foi encontrado nenhum resultado na literatura, em qualquer espécie autógama, que algo semelhante tenha sido realizado. Para se comparar a variação entre e dentro das famílias também foi estimada a amplitude de variação das médias das progênies tanto dentro, quanto entre famílias. Não é possível inferir que as AV fossem iguais, mas tanto no cruzamento biparental, como na SR, comparações das estimativas de AV foram mais coincidentes nas diferentes gerações de avaliação e até mesmo das médias das gerações. Ou seja, a AV dentro de famílias foi sempre maior que a entre. Até certo ponto essa diferença é esperada, pois entre famílias a AV é estimada considerando a média das dez progênies de cada família. Já a estimativa dentro, embora tenha sido a média das AVs estimadas, dentro de cada progênies/família é maior, pois o número de indivíduos dentro de cada família para obter o AV é superior a dez.

Uma outra observação é o por quê foram utilizadas duas gerações de abertura do bulk, no caso da SR, S₂ ou S₅, no caso do CB, F₃ ou F₆. Essa estratégia foi adotada visando estimar um possível efeito da seleção natural dentro de cada bulk. No caso da SR, a S₅ foi avançada no campo por três gerações a mais que a S₂, e no caso biparental, a F₆ foi avançada três gerações a mais que a F₃. Embora não tenha sido realizada uma análise combinada para se comparar, estatisticamente, as médias da S₂ com S₅ e da F₃ com F₆, os resultados médios apresentados nas tabelas 2 e 6 evidenciam que não houve coincidência completa nas respostas entre as gerações. Contudo, na média das três gerações, a produtividade média das progênies S₂ ou F₃ foram, ligeiramente, menores que a da S₅ ou F₆. Em não ocorrendo dominância, essa média deveria ser igual. Se ocorresse dominância, ainda existiria um pouco de locos em heterozigose e a média deveria diminuir nas gerações mais avançadas. Como houve tendência de aumento, pode-se inferir que a seleção natural atuou no sentido de selecionar os indivíduos com maior número de descendentes, mais sementes, mais produtivos. O efeito de seleção natural na cultura do feijoeiro, quando a população segregante é conduzida em bulk, para a produtividade de grãos, tem sido relatado em algumas oportunidades. Corte et al. (2002), avaliaram bulks de alguns cruzamentos por algumas gerações, e utilizando testemunha comum como referência, constataram que a média da população aumentou nas sucessivas gerações. Gonçalves et al. (2001), usando os mesmos bulk's relatados anteriormente, porém avaliando treze gerações simultaneamente em uma mesma safra, também observaram a ação da seleção natural no sentido de aumentar a produtividade. Deve ser enfatizado que esse aumento não é expressivo e

para ser detectado é necessário maior precisão experimental, o que é obtido com muitas repetições.

Finalmente, embora possa ter ocorrido algum efeito de amostragem, ou de uma precisão experimental que nem sempre foi boa, ficou evidente após a avaliação das duas populações, nas duas gerações de abertura do bulk, por três gerações/safras, que ocorre variação dentro das progênes quando se conduz a população pelo método do bulk/S₀ (F₂), como era esperado. Depreende-se que o emprego desse método de condução da população segregante é uma boa estratégia de melhoramento, sobretudo quando as progênes/famílias são avaliadas em experimentos com repetições ao longo das gerações, e não apenas em gerações mais avançadas como preconizado pelo método original (FREY, 1954). Isto porque, além de um possível efeito benéfico da seleção natural atuando nas famílias avaliadas, a atuação da seleção artificial realizada pelos melhoristas irá, certamente, identificar as famílias (bulk's) que mitigaram melhor o efeito da interação famílias x safras/ano.

Além do mais, uma outra estratégia que vem sendo utilizada é não abrir famílias, o bulk, na geração F_∞. Assim, a possível nova cultivar será constituída por uma mistura de linhagens. Essa mistura de linhagens – multilinha – pelo menos segundo o que é preconizado na literatura, traz algumas vantagens. Entre essas vantagens estão a possível variação na resistência a patógenos (PEREIRA et al., 2018 – capítulo 3). Uma outra vantagem é que por ser uma mistura de linhas puras, teria maior chance de tamponamento das flutuações ambientais entre locais e anos de cultivo, como já foi demonstrado em alguns casos (ALLARD, 1961; MARSHAL; BROWN, 1973; KIAER; SKOGAARD; OSTERGARD, 2009; BAROT et al., 2017).

Deve ser enfatizado que, mesmo quando é recomendada uma única linha pura, após poucos anos de cultivo ela, certamente, será constituída por uma mistura de linhas devido à variabilidade natural que é esperada em consequência de mutações, recombinações e outros mecanismos geradores de variabilidade (RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997; SEBASTIAN et al., 2010; TOKATLIDIS, 2015)

5 CONCLUSÕES

O fato da população segregante ter frequência alélica igual ou diferente de 0,5 não afeta o que se espera com a variação entre e dentro de progênies utilizando o método do bulk/ F_2 ou S_0 .

Em princípio, mesmo com apenas duas ou três gerações de diferença, tem-se evidências que a seleção natural atuou no sentido de manter as plantas/progênies com maior produtividade de grãos.

A estimativa da variância genética dentro das famílias varia. Contudo, na média, ela pode ser considerada semelhante à que ocorreu entre famílias, como era esperado.

REFERÊNCIAS

- ALLARD, R.W. Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. **Journal of heredity**, v. 79, p. 225-238, 1988.
- ALLARD, R.W., Relationship between genetic diversity and consistency of performance in different environments. **Crop Science**, v.1, n. 2, p.127-133, 1961.
- BALDONI A. B.; RAMALHO M. A. P.; ABREU A. F. B.; Allele frequency and selection efficiency in cross populations of Andean x Mesoamerican common bean. **Genet Mole Biol**, v. 31, p.914–919, 2008.
- BAROT, S. et al. Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. **Agron. Sustain. Dev**, v.37, n.13, 2017.
- BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Woodbury: Stemma Press, 2010. 390 p.
- BOTELHO, F. B. S. et al. Multiline as a Strategy to Reduce Damage Caused by *Colletotrichum lindemuthianum* in Common Bean. **J Phytopathol**, v.159, p.175–180, 2011.
- BRUZI, A. T. et al. Homeostasis of common bean populations with different genetic structures. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.7, p.111-116, 2007.
- CARNEIRO, J. E.S. et al. BRSMG Madrepérola: common bean cultivar with late-darkening Carioca grain. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.12, p. 281-284, 2012.
- CORTE, H. R. et al. Natural selection for grain yield in dry bean populations bred by the bulk method. **Euphytica**, v.123, p. 387–393, 2002.
- FERREIRA, R. A. D. C. et al. Implications of the number of years assessment on recommendation of common bean cultivars. **Plant Breeding**, v. 134, n. 5, p. 599-604, 2015.
- FREY, K.J. The use of F₂ lines in predicting the performance of F₃ selections in two barley crosses. **Agronomy Journal**, v. 46, p.541-544, 1954.
- GONÇALVES, F.M.A.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Natural selection in four common bean traits. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 3, p. 213-220, 2001.
- GUILHERME, S. R. et al. Genetic control of inflorescence in common Bean. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 4, p. 10349-10358, 2014.
- KIAER, L.P.; SKOGAARD, Ib. M.; OSTERGARD, H. Grain yield increase in cereal variety mixtures: A meta-analysis of field trials. **Field Crops Research**, v.114, p. 361–373, 2009.
- KNAPP, S. J.; STROUP, W. W.; ROSS, W.M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Sci**. v. 25, p. 192-194, 1985.

LEMOS, R.C. **Procedimentos para a identificação de progênies superiores em gerações sucessivas de avaliação na cultura do feijoeiro**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Lavras, 2017.

LIMA, L. K.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Implications of the progeny x environment interaction in selection index involving characteristics of the common bean. **Genetics and Molecular Research**, v.11, n.4, p. 4093-4099, 2012.

MARSHALL, D. R.; BROWN, A. H. D. Stability of performance of mixtures and multilines. **Euphytica**, v. 22, n. 405, 1973.

MARTINS, E. S. et al. Genetic control of number of flowers and pod set in common bean. **Genetics and molecular research**, v. 16, n. 3, 2017.

MARTINS, S. M. et al. Genetic parameters and breeding strategies for high levels of iron and zinc in *Phaseolus vulgaris* L. **Genetics and Molecular Research**, v.15, n. 2, p. gmr.15028011, 2016.

MOREIRA, S.O. et al. Breeding methods and history of bean cultivars released in CBAB - Crop Breeding and Applied Biotechnology. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.10, p. 345-350, 2010.

MORETO, A. L. et al. Estimação dos componentes da variância fenotípica em feijoeiro utilizando o método genealógico. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1035-1042, 2007.

PEREIRA, L.A. et al. Genetic progress estimation strategy for upright common bean plants using recurrent selection. **Genetics and Molecular Research**, v.16, n.1, gmr16019494, 2017.

PEREIRA, L.A. Implicações da Variância genética entre e dentro de progênies com o decorrer da endogamia e o sucesso com a seleção em plantas autógamas. Capítulo 2. In: **Estratégias de condução de populações segregantes utilizando o método bulk/F₂ ou S₀**. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Lavras, 2018.

PEREIRA, L.A. Variabilidade para resistência aos patógenos causadores da Mancha Angular (*Pseudocercospora griseola*) e Antracnose (*Colletotricum lindemuthianum*) do feijoeiro, entre e dentro de progênies com diferentes níveis de endogamia. . In: **Estratégia de condução de populações segregantes utilizando o método bulk/F₂ ou S₀**. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Lavras, 2018.

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

PIRES, L.P.M. et al. Recurrent mass selection for upright plant architecture in common bean. **Sci. Agric**, v. 71, p. 240-243, 2014.

RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B.; GUILHERME, S.R. (Ed): **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central Brasileira: 2015:2017**. 1 ed. Lavras: UFLA,2014.

RAMALHO, M.A.P. et al. **Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**.(Ed.)UFLA, 2012. 522 p.

RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; OLIVEIRA, A.C. **Experimentação em Genética e Melhoramento de Plantas**. 3. ed. rev. Lavras: Ed. UFLA ,2012. 328p.

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

RASMUSSEN, D. C.; PHILIPS, R. L. Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. **Crop Science**, v.37, p.303-310, 1997.

RESENDE, M.D.V. de. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: EMBRAPA Florestas. 2007. 561p.

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

REZENDE, B.A. et al. Severity Evaluation Methods in Common Bean Recurrent Selection Programme for Resistance to Angular Leaf Spot. **Journal of Phytopathology**. v. 162, n. 10, p. 643-649. 2014.

SANTOS, V.S. et al. Consequences of early selection for grain type in common bean breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.1, n.4, p. 347-354, 2002.

SEBASTIAN, S.A. et al. Context-Specific Marker-Assisted Selection for Improved Grain Yield in elite Soybean Populations. **Crop Science**, v.50. 2010.

SILVA, G.S. Estimation of genetic progress after eight cycles of recurrent selection for common bean grain yield. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 351-356, 2010.

SILVA, N.O. Performance of common bean families after different generations under natural selection. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 4, 574 – 578, 2004.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H.; DICKEY, D. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 3. ed. Boston: McGraw Hill, 1997.

TOKATLIDIS, I.S. Conservation Breeding of Elite Cultivars. **Crop Science**, v.55, 2015.

YOKOYAMA, L. P.; DEL PELOSO, M. J.; DI STEFANO, J. G.; YOKOYAMA, M. **Nível de aceitabilidade da cultivar de feijão “Pérola”**: avaliação preliminar. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. 20 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 98).

WRICKE, G.; WEBER, W. E. **Quantitative genetics and selection in plant breeding**. New York: Walter de Gruyter, 1986. 406p.

APÊNDICE

Tabela 1A – Resumo das Análises de Variância individuais, por geração de avaliação, para produtividade de grãos (g/parcela). Progênes da Seleção Recorrente.

FV	GL	S _{2:4}	S _{2:5}	S _{2:6}	S _{5:6}	S _{5:7}	S _{5:8}
		QM	QM	QM	QM	QM	QM
Tratamentos	99	6022,21*	3231,55*	3486,34*	10399,57*	5276,16*	7880,74*
Entre							
Test.	1	2025,00	1504,10	337,50	11025,00	4266,61	1204,14
Test. vs Prog ^a	1	845,19	372,49	0,55*	15720,18	9592,83	69,66
Entre Prog ^a	97	6116,79*	3278,83	3554,74*	10338,27*	5242,06*	8030,10*
Entre Fam	9	10392,47*	7529,06*	5767,50*	25494,67*	9178,53*	32023,45*
Prog/Fam 1	9	4755,46	3900,11	5767,50*	3927,13	2316,30*	6285,23
Prog/Fam 2	8	3673,39	2498,84	1495,82	15957,56*	6541,90*	12094,90*
Prog/Fam 3	9	6891,67*	1255,63	2130,11	5251,47	1831,08	6140,86
Prog/Fam 4	9	8249,42*	2146,36	4361,11	13442,31*	8836,71*	4938,57
Prog/Fam 5	9	4693,33	3726,77	4838,91	12100,00*	7064,92*	7837,36*
Prog/Fam 6	9	7705,00*	3300,10	3368,17	6166,24	3388,96	4935,64
Prog/Fam 7	9	5365,00	3018,91	3241,57	6002,13	4777,75*	4755,60
Prog/Fam 8	8	6568,06*	2485,66	3525,01	12023,50*	4064,13	4025,36
Prog/Fam 9	9	2872,98	1752,68	1884,16	7938,13*	6028,16*	3792,98
Prog/Fam 10	9	5896,64	4278,23	4723,01	6229,42	3647,81	1507,81
Erro	81 ^b ;17						
	1	3178,03	2716,67	2540,83	3858,41	2084,59	3509,92
rgg ²		0,69	0,40	0,52	0,79	0,78	0,75

^aConsidera-se, nesse caso, todas as progênes, de todas as famílias; ^b GL apenas para a safra das Águas 15/16 *Significativo pelo Teste F ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 2 A - Resumo das Análises de Variância individuais, por geração de avaliação, para produtividade de grãos (g/parcela). Progênes do cruzamento 'Pérola' x 'Madrepérola'.

FV	GL	F _{2:4}	F _{2:5}	F _{2:6}	F _{6:7}	F _{6:8}	F _{6:9}
		QM	QM	QM	QM	QM	QM
Entre Progênes ^a	99	6770,28*	5729,54	11669,86*	8474,06*	9332,29*	11869,33*
Entre Famílias	9	11099,6*	15299,95*	53605,76*	16679,19*	35852,11*	41084,95*
Prog/Família 1	9	3640,88	3740,40	7500,825	9339,15*	4617,04	6067,03
Prog/Família 2	9	6302,00*	8559,61*	11758,97*	8787,68*	4450,81	7654,50
Prog/Família 3	9	4539,66	4795,22	4563,82	7774,17*	8594,50*	9745,30*
Prog/Família 4	9	6135,54*	5074,07	4456,37	7752,98*	5392,96	10454,09*
Prog/Família 5	9	5532,62	3480,01	8132,53*	11246,03*	11676,11*	9722,69*
Prog/Família 6	9	5689,34*	3728,61	3333,40	5206,43	2998,98	23403,84*
Prog/Família 7	9	9771,09*	3815,64	8727,77*	2880,65	2844,09	9131,12*
Prog/Família 8	9	12778,2*	8351,94	12902,61*	5325,23	9407,78*	2830,97
Prog/Família 9	9	6176,26*	3924,31	4393,41	11155,46*	11525,56*	4855,19
Prog/Família 10	9	2807,88	2255,20	8992,98*	7067,74*	5295,27	5612,94
Erro	81 ^a ;171	2836,10	4327,80	4060,81	3502,68	3481,24	4524,42
rgg'		0,76	0,49	0,81	0,77	0,79	0,79

^aConsidera-se, nesse caso, todas as progênes, de todas as famílias; ^b GL apenas para a safra das Águas 15/16 *Significativo pelo Teste F ao nível de 1% de probabilidade