



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS

LAYSLA MORAIS COELHO

**Melhoramento do feijão-comum para resistência a bacterioses
assistido por marcadores moleculares**

GOIÂNIA
2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES
E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese

2. Nome completo do autor

Laysla Morais Coêlho

3. Título do trabalho

MELHORAMENTO DO FEIJÃO-COMUM PARA RESISTÊNCIA A BACTERIOSES ASSISTIDO POR MARCADORES MOLECULARES

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);
 - b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
- O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

https://sei.ufg.br/sei/documento_consulta_externa.php?id_acesso_externo=264393&id_documento=2941100&id_orgao_acesso_externo=0&infra_hash=b9d96b8bd68b0b55183d5b30bb1e618f

SEI/UFG - 2716490 - Termo de Ciência e de Autorização (TECA)

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **LAYSLA MORAIS COELHO, Discente**, em 03/06/2022, às 13:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Livio Pessoa Oliveira de Souza, Usuário Externo**, em 11/10/2022, às 09:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2716490** e o código CRC **469E7470**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Laysla Morais Coêlho

3. Título do trabalho

MELHORAMENTO DO FEIJÃO-COMUM PARA RESISTÊNCIA A BACTERIOSES ASSISTIDO POR MARCADORES MOLECULARES

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **LAYSLA MORAIS COELHO, Discente**, em 14/12/2022, às 17:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Livio Pessoa Oliveira de Souza, Usuário Externo**, em 20/12/2022, às 10:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3404371** e o código CRC **6E81FBFF**.

LAYSLA MORAIS COELHO

Melhoramento do feijão-comum para resistência a bacterioses assistido por marcadores moleculares

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como requisito para obtenção do título de Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas.

Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas

Linha de pesquisa: Melhoramento de Espécies Cultivadas

Orientador:

Dr. Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza

Coorientadora:

Dra. Paula Pereira Torga

GOIÂNIA
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Coêlho, Laysla Morais
MELHORAMENTO DO FEIJÃO-COMUM PARA RESISTÊNCIA A BACTERIOSES ASSISTIDO POR MARCADORES MOLECULARES [manuscrito] / Laysla Morais Coêlho. - 2022.
LXX, 70 f.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza; co orientadora Dra. Paula Pereira Torga.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia (EA), Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Goiânia, 2022.

Apêndice.

Inclui fotografias, gráfico, tabelas.

1. Phaseolus vulgaris L.. 2. cretamento bacteriano comum. 3. cretamento bacteriano aureolado. 4. Xanthomonas phaseoli pv. phaseoli. 5. Pseudomonas savastanoi pv. phaseolicola. I. Souza, Thiago Lívio Pessoa Oliveira de, orient. II. Título.

CDU 633



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE AGRONOMIA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata Nº 39/2022 da sessão de Defesa de Tese de **Laysla Morais Coêlho** que confere o título de Doutora em **Genética e Melhoramento de Plantas**, na área de concentração em **Genética e Melhoramento de Plantas**.

Aos quatro dias do mês de abril do ano de dois mil e vinte e dois, a partir das treze horas e trinta minutos, por meio de videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada "**Melhoramento genético para resistência a bacterioses em feijão-comum**". Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Doutor Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza (Embrapa Arroz e Feijão), com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Coorientadora Doutora Paula Pereira Torga (Embrapa Arroz e Feijão); Doutor Helton Santos Pereira (Embrapa Arroz e Feijão), membro titular interno; Professora Patrícia Guimarães Santos Melo (EA/UFG), membro titular interno; Doutora Rosana Pereira Vianello (Embrapa Arroz e Feijão), membro titular externo; e Doutor Leonardo Cunha Melo (Embrapa Arroz e Feijão), membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca **fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Doutor Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos quatro dias do mês de abril do ano de dois mil e vinte e dois.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

MELHORAMENTO DO FEIJÃO-COMUM PARA RESISTÊNCIA A BACTERIOSES ASSISTIDO POR MARCADORES MOLECULARES



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza, Usuário Externo**, em 05/04/2022, às 23:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Paula Pereira Torga, Usuário Externo**, em 06/04/2022, às 08:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

https://sei.ufg.br/sei/documento_consulta_externa.php?id_acesso_externo=264393&id_documento=2941099&id_orgao_acesso_externo=0&infra_hash=da2fd089b10c67b48629476c42d06d70

SEI/UFG - 2716489 - Ata de Defesa de Tese



Documento assinado eletronicamente por **Leonardo Cunha Melo, Usuário Externo**, em 06/04/2022, às 08:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rosana Pereira Vianello, Usuário Externo**, em 06/04/2022, às 08:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Helton Santos Pereira, Usuário Externo**, em 08/04/2022, às 15:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patrícia Guimarães Santos Melo, Professora do Magistério Superior**, em 03/06/2022, às 10:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2716489** e o código CRC **B5F9CBCE**.

Referência: Processo nº 23070.009648/2022-37

SEI nº 2716489

*Aos meus pais, Mário e Maria Helena, meus maiores e
melhores exemplos de força, determinação e amor à vida!*

DEDICO

*Ao meu esposo Lucas e aos meus irmãos
Synara e Mikeyas, por todo o apoio.*

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo que me proporciona e a vida de trabalho e estudos. À minha família que sempre me apoiou nas minhas escolhas e me deram amor incondicional, meus pais, Maria Helena e Mário e irmãos, Synara e Mikeyas. Ao meu marido e companheiro de vida Lucas, pelos sonhos compartilhados, amor e encorajamento.

Agradeço também meu orientador, Dr. Thiago Lívio P. O. de Souza, pelos ensinamentos, por seu exemplo de dedicação à profissão e o seu amor pela pesquisa que me inspiram. Pelo incentivo e por confiar na minha capacidade. À minha coorientadora, Dra. Paula Torga por todo conhecimento, tempo disponibilizado, compreensão e apoio.

Ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Federal de Goiás (PPGGMP-UFG) e ao Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP) da Embrapa, ambientes que me proporcionaram tanto crescimento. A todos os professores do PPGGMP-UFG e funcionários que de alguma forma contribuíram para a minha formação profissional e pessoal. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pela concessão de auxílio financeiro.

A todos os pesquisadores da equipe de melhoramento de feijão pelo apoio e parceria, em especial ao pesquisador, Dr. Joaquim Caprio por todo auxílio durante os ensaios e ensinamento profissional. À Dra. Rosana Vianello por todo auxílio e contribuições. As equipes do laboratório de biotecnologia (Fernanda, Gesimária, José Simião, Luana, Paula e Sylvana), laboratório de apoio ao melhoramento de feijão (Adelino, Agnaldo, Amarildo, Antônio Cosmi, Antônio Rodolfo, Hamilton, João Donizeti, Juraci, Lázaro, Luci, Mariana, Paulo e Sebastião), e ao técnico do laboratório de fitopatologia Ronair, pelas conversas e por toda ajuda e estímulo.

Aos colegas de pós-graduação e estágio do CNPAP, que dividiram as cargas pesadas, as alegrias e as conquistas. Passamos por momentos marcantes e hoje levo amigos para a vida. Em especial aos colegas Ana Rúbia e Lucas Matias, que também são parte desse trabalho.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	4
GENERAL ABSTRACT	6
1. INTRODUÇÃO	13
2. MELHORAMENTO GENÉTICO PREVENTIVO DO FEIJÃO-COMUM PARA RESISTÊNCIA AO CRESTAMENTO BACTERIANO AUREOLADO ...	18
2.1. INTRODUÇÃO	20
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	22
2.2.1. Material genético e cruzamentos	22
2.2.2. Seleção assistida por marcadores moleculares	25
2.2.2.1. Análise de Similaridade Genética	25
2.2.2.2. Seleção assistida dos alelos de resistência	27
2.2.3. Avaliação da qualidade comercial dos grãos	28
2.4. CONCLUSÕES.....	33
2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
APÊNDICE A.....	37
APÊNDICE B.....	37
APÊNDICE C.....	Erro! Indicador não definido.
3. VALIDAÇÃO DE MARCADOR SNP ASSOCIADO À RESISTÊNCIA AO CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM DO FEIJÃO (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	40
3.1. INTRODUÇÃO	42
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	43
3.2.1. Material Genético	43
3.2.2. Análise genético-estatística do marcador snpPV0039	44
3.2.3. Desenvolvimento do ensaio de genotipagem TaqMan® SNP	44
3.2.4. Validação do marcador TaqMan® snpPV0039	45
3.2.4.1. Preparo dos inóculos de <i>X. phaseoli</i> pv. <i>phaseoli</i> , inoculação e avaliação da doença	45
3.2.4.2. Análise molecular do marcador TaqMan® snpPV0039.....	47
3.2.5. Análise genético-estatística	47
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.4. CONCLUSÕES.....	54
3.5. REFERÊNCIAS	54
APÊNDICE A.....	58
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

RESUMO GERAL

COELHO L. M. **Melhoramento genético do feijão-comum para resistência a bacterioses.** 2022. 70 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2022.¹

A cultura do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) tem a sua produção afetada por diversas bacterioses, sendo o uso de cultivares resistentes a esses patógenos a medida de controle mais segura, econômica e eficiente. Entre as bacterioses que acometem a cultura, destacam-se no Brasil o crestamento bacteriano comum (CBC), doença amplamente difundida no país, incitada pelas bactérias *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* e *Xanthomonas citri* pv. *fuscans*, e o crestamento bacteriano aureolado (CBA), doença emergente de grande risco para a agricultura nacional, incitado por *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Psp). Esse trabalho é dividido em dois capítulos relacionados ao melhoramento do feijão-comum para resistência a essas duas bacterioses, objetivando-se: (i) Desenvolver progênies de feijão-comum da classe comercial carioca resistentes ao CBA, contendo individualmente os alelos de resistência *Pse-2* e *Pse-6*, com o auxílio da seleção assistida por marcadores moleculares (SAM). (ii) Avaliar e validar o marcador molecular snpPV0039, associado ao QTL-SU91 de resistência ao CBC, em um painel diverso de genitores de feijão-comum e em uma população F₂ derivada da linhagem CB911921 (*QTL-SU91*). No primeiro estudo foram realizados retrocruzamentos utilizando como genitores doadores as fontes de resistência ao CBA ZAA-12 (*Pse-2*) e BelNeb-RR1 (*Pse-6*) e como genitor recorrente a cultivar de grãos carioca BRS Estilo. As plantas F₁ foram identificadas por genotipagem com marcadores SSR e utilizadas como genitoras doadoras nos retrocruzamentos seguintes, até a geração F₁RC₃. A cada ciclo de retrocruzamento foi realizada a genotipagem das plantas com 24 marcadores SSR. A similaridade genética das plantas RC_nF₁ com o genitor recorrente BRS Estilo foi quantificada pelo número de alelos comuns que eles compartilham, com base na distância euclidiana para dados binários, pelo método do vizinho mais próximo, sendo selecionadas as plantas mais similares em cada ciclo de RC. A seleção assistida dos alelos de resistência foi monitorada nas gerações RC₂F₁, RC₃F₁ e RC₃F₂ e foram avançadas para as próximas gerações apenas as plantas com resultado positivo para a

¹Orientador: Dr. Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza. Embrapa Arroz e Feijão.
Coorientadora: Dra. Paula Pereira Torga. Embrapa Arroz e Feijão.

presença dos alelos *Pse-2* e *Pse-6*. Para a geração RC₃F_{2:3} foi realizado teste de progênies para seleção de plantas em homozigose para os locos de resistência. Foram obtidas, para cada população, duas progênies RC₃F_{2:3} de feijão-comum tipo carioca quase isogênicas à cultivar BRS Estilo (100% de similaridade genética com base em 24 marcadores moleculares SSR) e também contendo individualmente, em homozigose, os alelos de resistência *Pse-2* e *Pse-6*. No segundo estudo foi realizada a genotipagem de 376 genitores elite de feijão-comum pela empresa Intertek Agritech, a partir do portfólio disponibilizado pelo projeto “High Through-Put Genotyping (HTPG)” de marcadores moleculares associados a diversos caracteres em feijão. Foi selecionado o marcador snpPV0039, que está diretamente associado ao alelo *QTL_{SU91}* que confere resistência à CBC. Para validação do marcador snpPV0039, foi utilizada uma população segregante F₂ derivada do cruzamento entre a linhagem CB 911921 (*QTL_{SU91}*) e uma linhagem suscetível (Genitor 1), já disponível entre as populações de trabalho do programa de melhoramento da Embrapa. Os dados da fenotipagem, com base na inoculação com *Xap* em ambiente controlado, e genotipagem com marcador snpPV0039 na geração F₂ foram submetidos ao teste de Qui-quadrado (χ^2), com auxílio do software R. Entre 218 plantas F₂ fenotipadas para reação à *Xap*, 159 foram caracterizadas como resistentes e 59 como suscetíveis, revelando ajuste à proporção esperada de 3R_:1rr ($\chi^2 = 0.49$; p = 0.48). O snpPV0039 aderiu à proporção de 1RR:2Rr:1rr ($\chi^2 = 1.5$; p = 0.47), segregando conforme o esperado para marcadores codominantes. Quanto à análise de ligação gênica, o marcador snpPV0039 utilizado na genotipagem da população F₂ (Genitor 1 x CB 911921) está ligado ao alelo *QTL_{SU91}*, com fração de recombinação de aproximadamente 0.1 (10 cM). O marcador snpPV0039 apresentou eficiência de seleção de 96% na identificação de plantas com o alelo *QTL_{SU91}* de resistência à CBC presente em CB911921, evidenciando seu forte desequilíbrio de ligação. Assim, esse marcador é recomendado para utilização como ferramenta na rotina de seleção de genótipos resistentes ao CBC em programas de melhoramento do feijão-comum.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., crestamento bacteriano comum, crestamento bacteriano aureolado, *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* e *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*.

GENERAL ABSTRACT

COELHO L. M. **Common bean breeding for resistance to bacterial diseases.** 2022. 70 f. Thesis (Doctor of Science in Genetics and Plant Breeding) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2022.²

The common bean crop (*Phaseolus vulgaris* L.) production can be affected by several diseases, with emphasis on bacteriosis, an important focus of breeding programs once the use of resistant cultivars is the safest, most economical and most efficient control measure. Among the bacterial diseases that affect the crop, in Brazil, the common bacterial blight (CBB), widespread disease in the country, incited by bacteria, *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas citri* pv. *fuscans*; and the halo blight of common bean, an emerging disease of great risk to national agriculture, incited by the *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Psp). The objectives of this work were: (i) To develop halo blight resistant common bean progenies of the carioca commercial class individually containing the *Pse-2* and *Pse-6* resistance alleles, with the aid of marker assisted selection (MAS); (ii) To evaluate and validate the SNP snpPV0039, associated with the CBB resistance *QTL-SU91* in a diverse panel of common bean parents and in an F₂ population derived from the line CB911921 (*QTL-SU91*). In the first study, backcrosses were carried out using the sources of resistance to halo blight, ZAA-12 (*Pse-2*) and BelNeb-RR1 (*Pse-6*) as donor parents and the carioca cultivar BRS Estilo as the recurrent parent. F₁ plants were identified by genotyping with SSR markers and used as donor parents in the following backcrosses, until the F₁BC₃ generation. At each backcross cycle, plants were genotyped with 24 SSR markers. The genetic similarity of the BC_nF₁ plants with the recurrent parent BRS Estilo was estimated with the help of the Genes Program and selected the most similar plants in each BC cycle. The assisted selection of resistance alleles was monitored in BC₂F₁, BC₃F₁ and BC₃F₂ generations and only plants with positive results for the presence of *Pse-2* and *Pse-6* alleles were advanced to the next generations. For the BC₃F_{2:3} generation, a progeny test was performed to select plants in homozygosity for the resistance loci. For each population, two BC₃F_{2:3} common bean progenies of the carioca type were obtained, almost isogenic to the cultivar BRS Estilo (100% genetic similarity based on 24 SSR molecular markers) and also containing individually, in homozygosity, the alleles of resistance *Pse-2* and *Pse-6*. For the second

²Advisor: PhD. Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza. Embrapa Arroz e Feijão.
Co-Advisor: PhD. Paula Pereira Torga. Embrapa Arroz e Feijão.

study, the genotyping of 376 elite common bean parents was carried out by the company Intertek Agritech, from the portfolio provided by the High Through-Put Genotyping (HTPG) project of molecular markers associated with different characters in beans, the marker was selected snpPV0039, which is directly associated with the *QTL_{SU91}* allele that confers resistance to CBB. To validate the marker snpPV0039, an F₂ segregating population was used, derived from the cross between the CB 911921 line (*QTL_{SU91}*) and a line susceptible to CBB (Genitor 1), already available among the working populations of the Embrapa breeding program. Data from Xap phenotyping and genotyping with marker snpPV0039 in the F₂ generation were submitted to the chi-square test (χ^2) with the aid of the R software. Among 218 F₂ plants phenotyped for Xap reaction, 159 of them were characterized as resistant and 59 as susceptible, showing conformity to the expected ratio of 3R-:1rr ($\chi^2 = 0.49$; $p = 0.48$). snpPV0039 adhered to the ratio of 1RR:2Rr:1rr ($\chi^2 = 1.5$; $p = 0.47$), segregating as expected for codominant markers. Regarding the gene linkage analysis, the marker snpPV0039 used in the genotyping of the F₂ population (Parent 1 x CB 911921) is linked to the *QTL_{SU91}* allele, with a recombination fraction of approximately 0.1 (10 cM). The snpPV0039 marker showed a selection efficiency of 96%, in the identification of plants with the CBB resistance allele *QTL_{SU91}* present in CB 911921, evidencing its strong linkage disequilibrium. Thus, this marker is recommended for use as a tool in the routine selection of BCC resistant genotypes in a common bean breeding program.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L., common bacterial blight, halo blight of common bean, *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*.

1. INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence à classe Dicotyledonea, subclasse Archichlamydeae, ordem Rosales, família Leguminosae (Fabaceae) e gênero *Phaseolus* L. (Moyib et al., 2015). A espécie é amplamente distribuída e representa mais de 90% do total de espécies do gênero *Phaseolus* cultivadas no mundo (Singh, 1992), possui $2n = 2x = 22$ cromossomos, com o genoma de aproximadamente 587 Mb (Schmutz et al., 2014; Gepts, 1998). O feijão-comum é um alimento tradicional na dieta humana, tem baixo conteúdo lipídico e é rico em proteínas, vitaminas, carboidratos complexos e minerais (Moura & Brito, 2015; Montoya et al., 2010).

A partir do ancestral selvagem do feijão-comum, com distribuição desde o norte do México até o norte da Argentina (Brücher, 1988; Salinas et al., 1988), evoluiu separadamente dois Centros de domesticação, na região Mesoamericana (México, América Central e Colômbia) e nos Andes (Peru e Argentina), formando dois pools gênicos distintos de espécies cultivadas (Schmutz et al., 2014; Gepts, 1993). A evolução das espécies nesses dois centros de diversidade resultou em diferenciações significativas genéticas, morfológicas e fisiológica (Santos et al., 2015).

O cultivo do feijão-comum é realizado no Brasil principalmente em três épocas de plantio. Na primeira safra, ou safra das “águas”, a semeadura ocorre nos meses de agosto a dezembro, produzindo, em média, 40% da produção nacional. Na segunda safra, conhecida como safrinha ou safra da “seca”, a semeadura ocorre nos meses de dezembro a abril, respondendo, em média, por 35% da produção total. E na terceira safra, a safra “outono/inverno” ou “irrigada”, a semeadura ocorre de abril a julho, resultando, em média, em 25% da produção total (EMBRAPA, 2021; Conab, 2018).

A leguminosa é cultivada em uma grande diversidade de ecossistemas, situação que expõe as plantas a muitos fatores que lhe são desfavoráveis, com destaque para as doenças, que ocasionam perdas anuais, geralmente significativas (Singh & Schwartz, 2010). Dentre os patógenos, as bactérias exigem a utilização de métodos

preventivos para um controle mais eficiente, sendo o uso de cultivares resistentes o objetivo de muitos programas de melhoramento (Singh & Miklas, 2015; Yu et al., 2000).

Entre as bacterioses que acometem a cultura, o crestamento bacteriano comum (CBC) incitada pelas bactérias *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* e *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* (Schaad et al., 2006; Fourie, 2002) e a murcha de curtobacterium causada pela *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) são as doenças mais amplamente difundidas por áreas produtoras no país que provocam grandes perdas anuais (Paula Júnior & Wendland, 2012). O crestamento bacteriano aureolado (CBA) se destaca no Brasil por ser uma doença emergente com risco potencial para agricultura nacional (Marques & Samson, 2016), ocasionado pela *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Psp) (Marques & Samson, 2016; Yorinori et al., 1998).

O CBC ocasiona maiores perdas no plantio das águas no Brasil, com condições de temperatura ideais para o desenvolvimento do patógeno, entre 28° e 30°C (Paula Júnior & Wendland, 2012). Diversas cultivares de feijão-comum apresentam diferentes níveis de resistência à bacteriose, confirmando a natureza quantitativa da resistência do feijão-comum à doença. Nesse contexto, a avaliação rotineira da reação de acessos ao germoplasma de feijão-comum ao CBC é essencial para o sucesso de programas de melhoramento que buscam obter populações de plantas e cultivares resistentes à doença (Paula Júnior & Wendland, 2012).

De forma geral nos pools gênicos Andinos e Mesoamericanos há um nível intermediário de resistência ao CBC, fator determinante para a busca de fontes de resistência em outros *pools* gênicos, como a espécie *P. acutifolius*, que apresenta alto nível de resistência ao CBC (Singh & Miklas, 2015). Foi mapeado em linhagens do *pool* gênico mesoamericano, oriundas do cruzamento interespecífico entre *P. vulgaris* vs *P. acutifolius*, o QTLSU91 de maior efeito associado a resistência ao CBC, explicando 0,62 (P=0,01) da proporção fenotípica da resistência (Lobaton et al., 2018), o que facilita a introgressão do alelo-alvo no germoplasma elite dos programas de melhoramento (Singh & Schwartz, 2010). Conforme o catálogo de cultivares da Embrapa apenas a cultivar BRS Esplendor, grão tipo preto, que a genealogia indica a presença do haplótipo oriundo de *P. acutifolius*, é resistente à doença (Rava et al., 1996). Os catálogos do Instituto Agrônomo de Campinas e Instituto Agrônomo do Paraná não incluem cultivares resistentes ao CBC (IAC; IDR-PR, 2022).

A doença foi relatada pela primeira vez no Brasil no estado do Pará, e seu

agente causal foi descrito como *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Robbs, 1954). A variante *fuscans* foi posteriormente descrita no estado de São Paulo (Paradela Filho et al., 1967). A doença é encontrada em todo o mundo, e é alvo de medidas de quarentena em muitos países europeus, onde não é endêmica. Assim, a movimentação de sementes contaminadas deve ser considerada como um alvo para evitar a disseminação do patógeno em todo o mundo (Paiva et al., 2020). No Brasil deve-se ter esse cuidado com o CBA que é um fitopatógeno que ainda não está disseminada por todo o país e é considerada uma doença emergente, por isso é de extrema importância o desenvolvimento de cultivares resistentes que pode prevenir a sua ampla disseminação e, assim, coibir grandes perdas na produção de grãos (Marques & Samson, 2016).

O Programa Nacional de Melhoramento Genético Preventivo, coordenado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, tem como objetivo o desenvolvimento de variedades com resistência a pragas, quarentenárias ou emergentes, como o CBA, que apresentam risco para atividade agrícola no país, antes que elas ocasionem consequências negativas para competitividade do agronegócio nacional. Na prática, o “AgroPreventivo” ou Melhoramento Preventivo segue as seguintes etapas: (i) Busca de genes de resistência às pragas quarentenárias nos bancos genéticos da Embrapa e de instituições parceiras; (ii) Identificação dessas fontes de resistência genética; (iii) Cruzamento com linhagens-elite no Programa de Melhoramento Genético; (iv) Obtenção de novas variedades agrícolas; (v) Seleção de variedades resistentes através de análises de DNA; (vi) Desenvolvimento de estoques genéticos; (vii) Realização de testes de validação dos estoques genéticos em países de ocorrência das pragas quarentenárias; (viii) Disponibilização dos estoques genéticos para as instituições participantes do Programa (Embrapa, 2016).

O CBA é uma doença comum em quase todo o mundo, foi descrita em países de todos os cinco continentes, incluindo fronteiriços com o Brasil, como Colômbia, Peru, Suriname e Venezuela (Wang et al., 2018; Schwartz et al., 2005). No Brasil a primeira descrição do patógeno ocorreu no Estado do Paraná em 1998 (Yorinori et al., 1998). A principal espécie agrícola afetada pelo CBA é o feijão-comum e a bactéria é capaz de infectar também diversas outras leguminosas (Sun, et al., 2017; Hunter & Taylor, 2006; Taylor et al., 1996). Já foram detectadas nove raças diferentes desse patógeno, e sete alelos associados à resistência à Psp (Tabela 1) (Teverson et al., 1991, Taylor et al., 1996; Miklas et al., 2009, 2011, 2014; Tock et al., 2017).

Tabela 1. Série diferenciadora de variedades de feijão-comum usada para a classificação de raças de *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Psp), agente causal do crestamento aureolado bacteriano. Em evidencia as nove raças do patógeno já descritas (Teverson et al., 1991, Taylor et al., 1996; Miklas et al., 2009, 2011, 2014; Tock et al., 2017).

Linhagens Diferenciais	Genes	Crom	Raças de Psp ^a								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9
Canadian Wonder	nenhum		+	+	+	+	+	+	+	+	+
ZAA 54 (A52)	<i>Pse-4</i>	?	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Tendergreen	<i>Pse-3</i>	?	+	+	HR	HR	+	+	+	+	+
Red Mexican UI 3	<i>Pse-1</i>	Pv10	-	+	+	+	-	+	-	+	-
ZAA 55 (A53)	<i>Pse-3, Pse-4</i>	?	+	+	HR	HR	-	+	+	+	+
ZAA 12 (A43)	<i>Pse-2</i>	Pv10	+	-	HR	HR	-	+	-	-	-
	<i>Pse-3</i>	Pv02	+	+	HR	HR	+	+	+	+	+
	<i>Pse-4</i>	?	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Guatemala 196-B	<i>Pse-1, Pse-3,</i> <i>Pse-4</i>	?	-	+	HR	HR	-	+	-	+	-
A55	<i>Pse-3</i>	Pv02	+	+	HR	HR	+	+	+	+	+
BelNeb-RR1	<i>Pse-4</i>	Pv10	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	<i>Pse-6</i>	Pv04	-	+	+	+	-	+	-	+	-
Minuette	<i>Pse-3, Pse-4</i>	?	+	+	HR	HR	-	+	+	+	NT
	<i>Pse-(Race 7)</i>	Pv04	+	+	+	+	+	+	-	+	+
I9365-31	<i>Pse-3, Pse-4</i>	?	+	+	HR	HR	-	+	+	+	+
	<i>Pse-(Race-1)</i>	Pv04	-	+	+	+	+	+	+	(-)	+
CAL 143	?	Pv5	+	+	+	+	-	-	+	-	+

^aReação a Psp: +, compatível; -, incompatível; -HR, incompatível (hipersensibilidade severa ou necrótica); NT= não testada; (-) = segregação

Dentre os alelos de resistência à Psp detectados, o alelo *Pse-2* presente da linhagem ZAA-12 (A-43) confere resistência ampla para sete raças de Psp (2, 3, 4, 5, 7, 8 e 9) (Miklas et al., 2011). E os alelos *Pse-1* e *Pse-6*, oriundos das variedades UI-3 e BelNeb-RR1, respectivamente, conferem resistência às raças 1, 5, 7 e 9 (Tabela 1) (Miklas et al., 2014). A possível piramidação do alelo *Pse-2* com o alelo *Pse-1* ou *Pse-6*, pode conferir resistência a oito raças do patógeno, entre as nove já detectadas (Miklas et al., 2014), sendo uma forma de obter resistência por longo período e amplo espectro, com locos adicionados em germoplasma pela piramidação, com utilização de marcadores

moleculares, sendo as linhagens ZAA-12 e BelNeb-RR1 ótimas opções de genitores doadores de resistência ao CBA.

A seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) é uma ferramenta indispensável em programas de melhoramento que visam o desenvolvimento de populações resistentes a pragas emergentes ou quarentenárias, como o CBA, auxiliando na seleção de plantas resistentes sem a realização da inoculação do patógeno. Concomitantemente a SAM também tem grande importância no avanço de programas de melhoramento para doenças amplamente disseminadas, como o CBC no Brasil, visto que possibilita a seleção precoce dos indivíduos que apresentam o genótipo desejável e fenótipo potencial, gerando economia de recursos e de tempo (Faria et al., 2014; Barili et al., 2016).

Diante do exposto, esse trabalho dividido em dois capítulos teve como objetivos: i) Desenvolver progênies de feijão-comum da classe comercial carioca resistentes ao CBA por meio de retrocruzamentos entre os genitores doadores, ZAA-12 (*Pse-2*) e BelNeb-RR1 (*Pse-6*), e a cultivar de grãos tipo carioca BRS Estilo, assistidos por marcadores moleculares. ii) Validar o marcador snpPV0039, previamente identificado por Lobaton et al. (2018) como associado ao *QTL_{SU91}* de resistência ao CBC, em um grupo diverso de genitores de feijão-comum do programa de melhoramento da Embrapa, e validar esse marcador para estimar sua eficiência de seleção e potencial de ser incorporado à rotina da SAM em uma população F₂ derivada da linhagem CB 911921, que possui em sua genealogia alelos oriundos de *P. acutifolius*,

CAPÍTULO 1

2. MELHORAMENTO GENÉTICO PREVENTIVO DO FEIJÃO-COMUM PARA RESISTÊNCIA AO CRESTAMENTO BACTERIANO AUREOLADO

RESUMO. A bactéria *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (*Psp*) é o agente causal do crestamento bacteriano aureolado (CBA) do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), doença amplamente difundida no mundo. No Brasil, o relato da presença dessa bactéria em 1998 no Estado do Paraná caracterizou esse organismo como uma praga quarentenária presente, no entanto como não houve nenhum outro relato em áreas de cultivo a praga foi retirada da lista de organismos quarentenários. Todavia, a capacidade de sobrevivência desse patógeno na fase epifítica é uma característica que deve ser considerada em relação aos cuidados com a disseminação dessa bactéria, sendo um alerta a necessidade de medidas de prevenção desse patógeno capaz de causar grande perdas de produção. O desenvolvimento de cultivares com resistência genética é uma medida eficiente de controle preventivo, pois evita a disseminação do patógeno no território brasileiro e, conseqüentemente, os impactos negativos para a competitividade do agronegócio nacional. Diante disso, esse trabalho objetivou obter progênies de feijão-comum da classe comercial carioca resistentes ao CBA por meio de retrocruzamentos com a cultivar BRS Estilo, assistidos por marcadores moleculares. As fontes de resistência ao CBA utilizadas foram as linhagens ZAA-12 (A-43) (gene *Pse-2*) e a BelNeb-RR-1 (gene *Pse-6*). O genitor recorrente foi a cultivar de grãos carioca BRS Estilo. As plantas F₁ foram identificadas por genotipagem com marcadores SSR e utilizadas como genitoras doadoras nos retrocruzamentos seguintes, até a geração F₁RC₃. A cada ciclo de retrocruzamento foi realizada a genotipagem das plantas com 24 marcadores SSR bem distribuídos no genoma do feijão-comum. A similaridade genética das plantas RC_nF₁ com ao genitor recorrente BRS Estilo foi estimada com o auxílio do Programa Genes e selecionadas as plantas mais similares em cada ciclo. A seleção assistida dos alelos de resistência foi monitorada nas gerações RC₂F₁, RC₃F₁ e RC₃F₂ e foram avançadas para as próximas gerações apenas as plantas com resultado positivo para a presença dos alelos *Pse-2* e *Pse-6*. Para a geração RC₃F_{2:3} foi realizado o teste de progênies para seleção de plantas em homozigose para os locos de resistência. Por fim, foram obtidas progênies de feijão-comum RC₃F_{2:3} da classe comercial carioca resistentes ao CBA por meio de retrocruzamentos com a cultivar BRS Estilo, assistidos por marcadores moleculares. As progênies da População 1 (BRS Estilo/ ZAA-12) possuem o alelo *Pse-2*, que confere resistência às raças 2, 3, 4, 5, 7, 8 e 9 de *Psp*. Já as progênies da População 2 (BRS Estilo/ BelNeb-RR1) possuem o alelo *Pse-6*, que confere resistência às raças 1, 5, 7 e 9 de *Psp*.

2.1. INTRODUÇÃO

O melhoramento preventivo ou agro preventivo consiste em desenvolver genótipos resistentes a um organismo quarentenário vegetal, ou seja, um organismo ainda inexistente no território nacional, ou mesmo detectado no país, mas ainda não totalmente disseminado por todo território e com potencial de causar grandes prejuízos econômicos, sociais e ambientais ao setor agrícola (Santos et al., 2021). Como exemplo de sucesso do melhoramento preventivo, na década de 1950 iniciou-se o desenvolvimento de variedades resistentes à ferrugem do café (*Hemileia vastatrix*) (Carvalho, 1959), que foi fundamental para o controle da doença quando da sua entrada no Brasil duas décadas depois, em meados da década de 1970 (Santos et al., 2021).

A Embrapa coordena o Programa Nacional de Melhoramento Genético Preventivo, que visa o desenvolvimento de variedades de plantas com resistência genética a pragas de alto risco para a atividade agrícola no país, antes que elas efetivamente entrem no território brasileiro, com consequências negativas para a competitividade do agronegócio nacional. A bactéria *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Psp), agente causal do crestamento bacteriano aureolado (CBA), é um dos organismos priorizados nesse programa.

A bactéria Psp foi caracterizada por Burkholder (1926) como *Phytomonas medicaginis* variante *phaseolicola*, depois foi revisada para *Pseudomonas medicaginis* variante *phaseolicola* por Dowson (1943) e para *P. syringae* pv. *phaseolicola* (Young et al. 1978). Posteriormente *P. syringae* foi reagrupada em nove clados de *P. savastanoi*, incluindo os patovares *phaseolicola*, *savastanoi*, *glycinea* e *tabaci* (Young et al. 1994, Gardan et al. 1992). A Psp é uma bactéria aeróbica, gram-negativa, possui forma de bastonete, geralmente unicelular, e movimentação por meio de 1 a 4 flagelos polares (Wang et al., 2018).

Os sintomas típicos do CBA incluem manchas encharcadas nas folhas, hastes, vagens e sementes. O aumento do tamanho das manchas culmina na formação de grandes lesões necrosadas com halos de coloração verde amarelada, motivo do nome “crestamento aureolado” (Taylor et al., 1979). O patógeno pode sobreviver em sementes infectadas, restos de cultura ou de forma epifítica (Arnold et al., 2011). Sua penetração nos tecidos da planta ocorre através de aberturas naturais, a temperatura ideal para o

crescimento da Psp é entre 25 °C e 28 °C, enquanto a produção de phaseolotoxina é favorecida por temperaturas mais amenas, entre 18°C e 20°C (Aguilera et al., 2017).

O feijão-comum é a principal espécie agrícola infectada, mas a bactéria é capaz de infectar também diversas outras leguminosas, como *P. acutifolius*, *P. coccineus*, *P. lunatus*, *Centrosema sp.*, *Desmodium spp.*, *Glycine max*, *Lablab purpureus*, *Lens culinaris*, *Macroptilium atropurpureum*, *Pachyrhizus erosus*, *Vigna angularis*, *V. radiata*, *V. unguiculata*, *Cajanus cajan*, *Pisum sativum*, *Pueraria lobata*, *P. thunbergiana*, *Neotonia wightii* (Sun, et al., 2017; Hunter & Taylor, 2006; Taylor et al., 1996). O CBA é uma doença comum em quase todo o mundo, foi descrita em países de todos os cinco continentes, incluindo fronteiriços com o Brasil, como Colômbia, Peru, Suriname e Venezuela (Marques & Samson, 2016).

No Brasil, a Psp foi considerada uma praga quarentenária ausente desde a sua regulamentação. Após o primeiro relato em 1998, no estado do Paraná (Yorinori et al., 1998), passou a ser considerada uma praga quarentenária presente. Posteriormente não houve nenhum outro relato do aparecimento dessa doença em campos de cultivo do Brasil, o que repercutiu na sua retirada da lista de organismos quarentenários. A grande capacidade de sobrevivência da Psp na fase epifítica, em condições de ‘dormência’ enquanto não há condições ideais para disseminação, é uma característica desse patógeno que deve ser considerada em relação aos cuidados com a disseminação dessa bactéria no Brasil e pode apoiar uma decisão diferente em relação a quarentena dessa bactéria no país (Marques & Samson, 2016). Na Austrália, a Psp era considerada uma ameaça emergente em 1980, agora é responsável por perdas em grande escala na produção de *Vigna radiata* L. Wilczek var. *radiata*, cultura que contribui significativamente para as exportações australianas (Noble et al, 2019).

Nove raças dessa bactéria foram descritas em todo o mundo, e mapeados alelos que conferem resistência às diferentes raças. O alelo *Pse-1*, mapeado no cromossomo Pv10, condiciona resistências às raças 1, 5, 7 e 9 (Taylor et al., 1996; Teverson, 1991). O alelo *Pse-2* foi mapeado no cromossomo Pv10 na linhagem ZAA 12 (A43), obtendo um efeito mais amplo, com o condicionamento de resistência a sete raças (2, 3, 4, 5, 7, 8 e 9) (Miklas et al, 2011). A linhagem ZAA 12 (A43) também possui o alelo *Pse-3*, no cromossomo Pv2, que confere uma resposta de resistência de hipersensibilidade (HR) às raças 3 e 4. O alelo *Pse-4*, condiciona a resistência apenas à raça 5 (Teverson, 1991; Miklas et al., 2009), e o alelo *Pse-5* à raça 8, ambos mapeados

no cromossomo Pv10 (Teverson, 1991). O alelo *Pse-6*, localizado no cromossomo Pv6, encontrado apenas na cultivar BelNeb-RR-1, confere resistência a quatro raças (1, 5, 7 e 9) (Miklas et al., 2014), o alelo *Pse-(Race 7)* promove resistência à raça 7, e o *Pse-(Race-1)* às raças 1 e 8, ambos mapeados no cromossomo Pv4 (Miklas et al., 2014).

Dentre todas as raças conhecidas, apenas para raça 6 ainda não foi identificada resistência, ou seja, não foi identificado e mapeado um alelo associado à resistência. No entanto, foram detectados dois QTLs de maior efeito (HB4.2 e HB5.1) nos cromossomos Pv04 e Pv05 nas linhagens PI 150414 e CAL 143 que conferem resistência à raça 6 (Tock, et al., 2017).

Uma doença emergente, como o CBA no Brasil, merece mais atenção, pois além da introdução não-intencional através da disseminação natural da bactéria, trânsito de pessoas, veículos e produtos, não deve ser descartada a possibilidade de introdução intencional do organismo em áreas onde não há a presença da bactéria, podendo ocasionar impacto negativo na economia e no comércio de alimentos e a possibilidade de surtos que podem provocar uma epidemia (Janse, 2012; Dudley & Woodford, 2002).

Pesquisas de melhoramento genético para resistência a doença são de extrema importância, assim como estudos para entender o patossistema completamente e pesquisas em regiões produtoras de feijão-comum, a fim de obter um diagnóstico confiável da situação e elaboração de medidas preventivas (Marques & Samson, 2016). Nesse contexto, esse trabalho objetivou obter progênies de feijão-comum da classe comercial carioca resistentes ao CBA por meio de retrocruzamentos com a cultivar BRS Estilo, assistidos por marcadores moleculares.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Material genético e cruzamentos

As fontes de resistência para o cretamento bacteriano aureolado utilizadas foram as linhagens ZAA-12 (A-43) (gene *Pse-2*) e BelNeb-RR-1 (gene *Pse-6*) (Miklas et al., 2014; Miklas et al., 2011). O genitor recorrente foi a cultivar de grãos carioca BRS Estilo (Figura 2.1). O método de retrocruzamentos foi utilizado para obtenção de progênies de feijão-comum tipo carioca.

As sementes dos genitores doadores foram obtidas junto ao Serviço de Pesquisa Agrícola do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States*

Department of Agriculture – USDA, Agriculture Research Service – ARS), em Beltsville, MD, EUA. Essas sementes estão sendo mantidas na coleção de trabalho do programa de melhoramento de feijão-comum coordenado pela Embrapa, na Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás, GO.



Figura 2.1. Sementes dos genitores utilizados para a realização dos retrocruzamentos a partir dos genitores doadores, ZAA-12 (A-43) e BelNeb-RR-1, e do genitor recorrente, BRS Estilo. A- BRS Estilo. B- ZAA-12 (A-43). C- BelNeb-RR-1.

A linhagem ZAA-12 (A-43) do grupo comercial calima foi obtida do cruzamento entre G8106 \times NY76-2812-15, realizado no Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), em Cali, Colômbia (Taylor et al., 1996). ZAA-12 possui o alelo de resistência à Psp *Pse-2*, mapeado no cromossomo Pv-10, o qual apresenta um amplo espectro de resistência, promovendo reação de incompatibilidade com sete das nove raças de Psp já caracterizadas (raças 2, 3, 4, 5, 7, 8 e 9) (Miklas et al., 2011).

A linhagem BelNeb-RR-1 do grupo comercial branco, obtida do banco de germoplasma do USDA/ARS (Stavely et al., 1989) possui o gene *Pse-6*, mapeado no cromossomo Pv04, que promove resistência às raças 1, 5, 7 e 9 de Psp (Miklas et al., 2014).

A cultivar BRS Estilo, utilizada como genitor recorrente, originou-se do cruzamento múltiplo, realizado em 1991 no CIAT, envolvendo os seguintes genitores:

EMP 250 /4/ A 769 /// A 429 / XAN 252 // V 8025 / PINTO VI 114. Posteriormente, o avanço das gerações e a seleção dos caracteres de interesse foram realizados na Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás, GO. BRS Estilo é do grupo comercial carioca e apresenta arquitetura de planta ereta, adaptada à colheita mecânica direta. Tem um alto potencial produtivo e estabilidade de produção, os grãos possuem excelentes qualidades comerciais. A cultivar é moderadamente resistente a antracnose, ferrugem e ao crestamento bacteriano comum (Melo et al., 2010). Atualmente, BRS Estilo possui uma das maiores participações no mercado brasileiro de sementes de feijão.

Na Figura 2.2 está apresentada o processo de obtenção das progênes, com detalhes do número de retrocruzamentos e a geração em que estas progênes se encontram. Os cruzamentos foram realizados em telado com sistema de climatização por nebulização, na Embrapa Arroz e Feijão, as plantas F_1 foram identificadas por genotipagem com marcadores SSR e utilizadas como genitores doadores nos retrocruzamentos até a geração RC_3F_1 . A recuperação do genoma do genitor recorrente foi monitorada com o auxílio de marcadores SSR e com o auxílio da seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) até a obtenção de plantas RC_3F_1 (Figura 2.2).

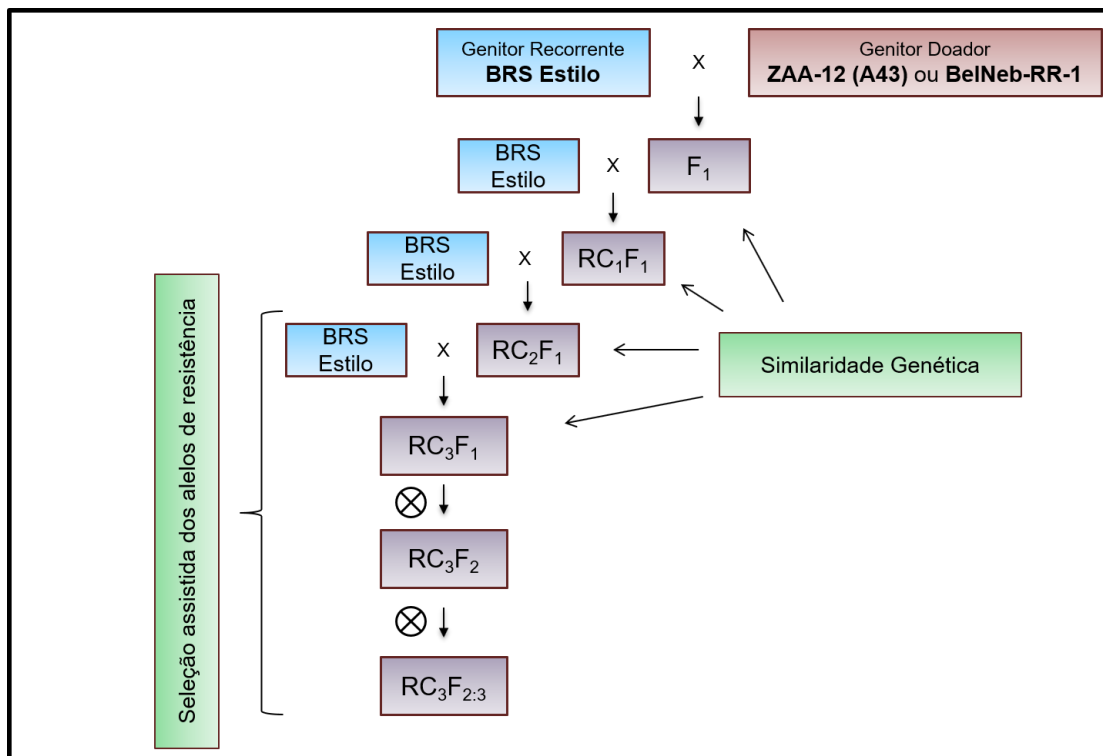


Figura 2.2. Diagrama representativo da estratégia de melhoramento usada para desenvolver progênes de feijão-comum com grãos tipo carioca contendo alelos de resistência a *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* em dois programas de retrocruzamentos (RC) distintos.

2.2.2. Seleção assistida por marcadores moleculares

2.2.2.1. Análise de Similaridade Genética

Na geração F₁ e em cada ciclo de retrocruzamentos, as plantas RC_nF₁ foram genotipadas com marcadores microssatélites (SSR) previamente desenvolvidos para o feijão-comum e disponíveis no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Arroz e Feijão (Morais et al., 2016; Cardoso et al., 2014). São 24 marcadores SSR selecionados por serem multialélicos e por serem bem distribuídos no genoma (Tabela 2.1).

Tabela 2.1. Marcadores moleculares microssatélites, agrupados em quatro painéis, utilizados para caracterização molecular de feijão-comum, com informações acerca do volume utilizado para cada reação de PCR, a concentração de cada *primer*, e as respectivas fluorescências.

Painel 1			
Primer (Foward + Reverse) a 10uM	Volume (µl) por reação de PCR	Concentração final (µl)	Fluorescência
BM143	0,15	0,3	HEX
PV25	0,1	0,2	FAM
BM164	0,02	0,04	NED
BM114	0,05	0,1	FAM
BM138	0,1	0,2	NED
PV169	0,05	0,1	HEX
Painel 2			
Primer (Foward + Reverse) a 10uM	Volume (µl) por reação de PCR	Concentração final (µl)	Fluorescência
PV5	0,05	0,1	HEX
PV35	0,05	0,1	FAM
BM202	0,1	0,2	NED
BM189	0,04	0,08	FAM
BM210	0,03	0,06	NED
BM155	0,2	0,4	HEX
Painel 3			
Primer (Foward + Reverse) a 10uM	Volume (µl) por reação de PCR	Concentração final (µl)	Fluorescência
BM187	0,5	1	HEX
BM113	0,08	0,16	NED
PV87	0,03	0,06	NED
PV272	0,03	0,06	FAM
BM154	0,03	0,06	FAM
PV13	0,03	0,06	FAM
Painel 4			
Primer (Foward + Reverse) a 10uM	Volume (µl) por reação de PCR	Concentração final (µl)	Fluorescência
PV11	0,04	0,08	HEX
BM181	0,03	0,06	NED
BM183	0,04	0,08	FAM
PV163	0,1	0,2	FAM
BM201	0,08	0,16	NED
PV251	0,08	0,16	HEX

Foram coletados discos de aproximadamente 5,0 mm de diâmetro de folhas jovens no estádio V3 das plantas F₁ e RC_nF₁ e dos genitores, as quais foram armazenados em microtubos de polietileno com tampa do tipo *ependorff* de 1,5 ml e acondicionado em freezer a -20°C. A extração de DNA foi realizada com base no protocolo CTAB, adaptado de Brondani et al. (1998) para isolamento de DNA genômico de *Phaseolus vulgaris* L. A concentração do DNA extraído foi estimada por espectrometria em NanoDrop 2000 (Thermo Scientific®, Waltham/EUA) e a integridade verificada por meio de eletroforese em gel de agarose 1%, corado com Brometo de etídio a 10mg/ml solução estoque. Solução de banho – 800ml de TBE 1x + 250ul de Brometo de etídio – aproximadamente 3ug/ml. O resultado foi fotodocumentado por fotografia sob luz UV, utilizando-se o equipamento transiluminador (Lpix EX da marca Locus) e programa computacional Lpix Image. As amostras foram diluídas em água ultrapura e padronizadas em 30 ng μL^{-1} para serem utilizadas nas reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

O preparo da reação de PCR foi realizado conforme Morais et al. (2016) utilizando quatro painéis multiplex, contendo um conjunto de seis marcadores SSR cada (Tabela 2.1). As condições da PCR foram as seguintes: uma desnaturação inicial a 94°C durante 15min., seguido por 40 ciclos a 94°C por 30s., 56°C por 1,5 min., 72°C por 1,5 min., e finalizado com uma extensão final a 72°C por 10 min. Ao término foi adicionado ao produto da PCR 50 μl de água milli-Q autoclavada e armazenada em freezer a -20°. Para a análise dos fragmentos, foi adicionado a uma placa de PCR, para cada reação: 0,5 μl da PCR diluída, 9,42 μl de Hi-DiTM Formamide – Thermo Fisher Scientific. e 0,08 μl do marcador interno GeneScanTM 500 ROXTM dve Size Standart. Em seguida a placa foi centrifugada a 3000 rpm por 10s. e realizada uma desnaturação a 95°C por 5min. no termociclador. Ao término a placa foi rapidamente colocada no gelo por no mínimo 2min. e colocada no sequenciador Applied Biosystems® 3500xL Genetic Analyzers. O software para análise do tamanho dos fragmentos foi o Gene Mapper versão 4.1 (Morais et al., 2016). A água foi utilizada como controle negativo da PCR e a cultivar BRS Estilo foi utilizada como referência para o controle positivo da PCR e do tamanho para chamada dos alelos.

A similaridade genética (SG) das plantas RC_nF₁ em relação ao genitor recorrente BRS Estilo, em cada ciclo de retrocruzamento, foi estimada a partir das informações dos marcadores SSR, os quais são co-dominantes e multialélicos, sendo possível identificar genótipos heterozigotos e homozigotos, gerando mais informações

em nível genético. A similaridade genética entre o genitor recorrente BRS Estilo e cada uma das plantas RC_nF_1 testadas, foi quantificada pelo número de alelos comuns que eles compartilham, com base na distância euclidiana para dados binários pelo método do vizinho mais próximo, realizada com o auxílio do programa Genes (Cruz, 2013). Nas etapas de retrocruzamento foram selecionadas as progênies que obtiveram maior similaridade em relação ao genitor recorrente a fim de aumentar a eficiência dos ciclos de retrocruzamento.

Para a geração F_1 , a análise com os marcadores moleculares foi realizada para a confirmação da hibridação artificial, sendo selecionadas para o primeiro retrocruzamento as plantas que possuíam em seus locus alelos herdados pelos dois genitores.

2.2.2.2. Seleção assistida dos alelos de resistência

O DNA genômico dos genitores BRS Estilo, ZAA-12 e BelNeb-RR1 e das plantas RC_2F_1 , RC_3F_1 , RC_3F_2 e $RC_3F_{2:3}$ foi extraído conforme descrito no item 2.2.2.1, e acondicionado em freezer -20°C . Foi realizada a amplificação do DNA pela técnica de PCR, utilizando os marcadores do tipo SCAR, para detecção dos alelos de resistência. O marcador SAE 15 detecta o alelo de resistência *Pse-2* presente na linhagem ZAA-12 (A-43) (Miklas et al., 2011) e o marcador SB10 detecta o alelo de resistência *Pse-6*, presente na linhagem BelNeb-RR1 (Miklas et al., 2014).

Para o marcador SAE15 [(F) 5'- TGCCTGGACCCAAAAGCTATTTCAC- 3' e (R)5'- TGCCTGGACCACTCTTAACG- 3'], com designação para amplificar um produto de 955 pb, o volume de cada reação foi de 10 μL , contendo: 1 μL da extração de DNA a 30 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, 5 μL de Qiagen Multiplex PCR Kit (Qiagen®, EUA), 1 μL de Q-Solution (Qiagen®, EUA), 0,4 μL de primer (forward e reverse) na concentração de 0,5 mM e 2,6 μL de H_2O Milli-Q autoclavada. As condições da PCR foram as seguintes: uma desnaturação inicial a 95°C durante 15min., seguido por 35 ciclos a 95°C por 40s., 53°C por 40s., 72°C por 1min., e finalizado com uma extensão final a 72°C por 10min (Miklas et al., 2011).

Para o marcador SB10 [(F) 5'- CTGCTGGGACAATCACCAAGTC - 3' e (R) 5'- CTGCTGGGACTCTCTTAC- 3'], com designação para amplificar um produto de 550 pb, o volume de cada reação foi de 10 μL , contendo: 1 μL da extração de DNA a 30 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, 5 μL de Qiagen Multiplex PCR Kit (Qiagen®, EUA), 1 μL de Q-Solution

(Qiagen®, EUA), 1 µL de primer (forward e reverse) na concentração de 0,5 mM e 2,0 µL de H₂O Milli-Q autoclavada. As condições da PCR foram as seguintes: uma desnaturação inicial a 95°C durante 15 min., seguido por 40 ciclos a 95°C por 30s., 65°C por 1 min. e 30seg., 72°C por 1min. e 30s., e finalizado com uma extensão final a 60°C por 10min. (Miklas et al., 2014).

Os produtos amplificados foram visualizados sob luz UV após eletroforese em gel de agarose a 1,0% contendo brometo de etídio (0,2 µg.mL) imerso em Tampão TBE 1x (Miklas et al. 2014). A seleção assistida dos alelos de resistência foi monitorada nas gerações RC₂F₁, RC₃F₁ e RC₃F₂ e foram avançadas para as próximas gerações apenas as plantas com resultado positivo para a presença dos alelos alvo, respectivamente. Para a geração RC₃F_{2:3} foi realizado teste de progênie, para seleção de plantas em homozigose para os locos de resistência.

Para o teste de progênie, as plantas RC₃F₂ selecionadas foram colhidas individualmente e suas sementes constituíram 15 progênie RC₃F_{2:3} para cada uma das populações. Para cada progênie foram avaliadas 15 plantas para a presença dos alelos de resistência, totalizando 225 plantas avaliadas por população. Ao final foram selecionadas as progênie consideradas homozigotas para os locos alvos, em que todas as plantas RC₃F_{2:3} apresentaram resultado positivo para a presença dos alelos de resistência; *Pse-2* ou *Pse-6*, para população 1 e 2, respectivamente.

2.2.3 Avaliação da qualidade comercial dos grãos

Para cultivar BRS Estilo e as progênie RC₃F_{2:3} foram retiradas amostras de 300 g, que foram peneiradas em peneira de furos oblongos de 2,25mm (No. 12). Os grãos retidos na peneira foram pesados e em seguida obteve-se a porcentagem de grãos retidos na peneira (% de grãos de padrão comercial – PGPC). Após a pesagem, foi retirada amostra para obtenção da massa de 100 grãos (M100).

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foram desenvolvidas progênie de feijão-comum carioca com resistência ao CBA. As plantas da geração F₁ das duas populações de cruzamentos [BRS Estilo x ZAA-12 (População-1) e BRS Estilo x BelNeb-RR1 (População-2)] foram selecionadas com base na análise com os 24 marcadores SSR

(Tabela 2.1), que permitiram a confirmação da hibridação artificial, evitando levar para próxima geração plantas derivadas por autofecundação. Ou seja, os locos SSR identificados como polimórficos entre os genitores de cada população, foram heterozigotos nas plantas da geração F₁, isso significa que para cada loco as plantas continham dois alelos, cada um específico de um dos parentais. Sendo que para População 1 os genitores BRS Estilo e ZAA-12 foram polimórficos para 20 locos e para População 2, os genitores BRS Estilo e BelNeb-RR1 foram polimórficos para 10 locos (Apêndice A).

A análise de similaridade genética (SG) possibilitou nas gerações obtidas por retrocruzamento selecionar as plantas mais similares ao genitor recorrente BRS Estilo, enquanto a SAM permitiu nas gerações o avanço de plantas com a presença dos alelos *Pse-2* (População-1) e *Pse-6* (População-2), com base na amplificação dos marcadores SCAR SAE15 e SB10, respectivamente (Figura 2.3).

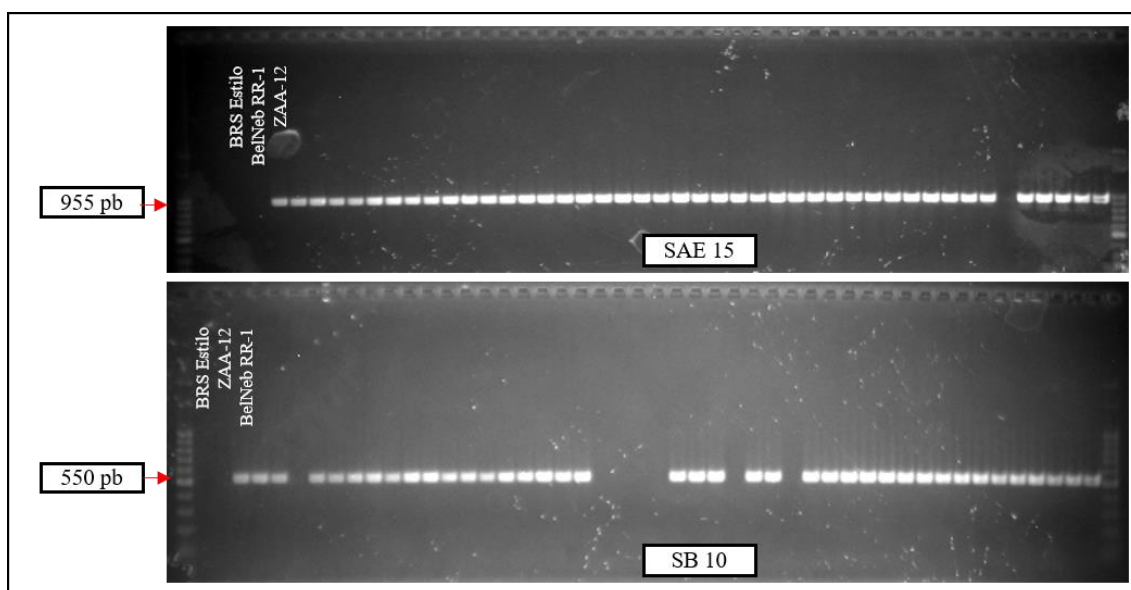


Figura 2.3. Eletroforese em gel de agarose a 1,0% dos produtos de PCR dos marcadores SCAR SAE 15 e SB 10, que amplificam fragmentos de DNA de 955pb e 550 pb associados à presença (+) ou ausência (-) dos alelos de resistência ao CBA *Pse-2* e *Pse-6*, respectivamente.

Para geração RC₁F₁ foi realizada na População 1 uma seleção de 80% das plantas, com SG \geq 77% com BRS Estilo (Apêndice B) e na População 2 foram selecionadas 84,4% das plantas, com SG \geq 78% com BRS Estilo (Apêndice C). Para geração RC₂F₁ de 34 plantas analisadas na População 1, cinco foram positivas para presença do alelo *Pse-2*, sendo as cinco selecionadas também pela análise de similaridade genética por apresentarem SG \geq 93% com BRS Estilo (Apêndice A). E para População 2

de 32 plantas analisadas, sete foram positivas para presença do alelo *Pse-6*, sendo as sete plantas selecionadas também pela análise de similaridade genética por apresentarem SG $\geq 93\%$ com BRS Estilo (Apêndice B).

Para geração RC_3F_1 das 40 e 50 plantas analisadas nas Populações 1 e 2, foram selecionadas 13 e 14 plantas com a presença dos alelos de resistência *Pse-2* e *Pse-6*, sendo selecionadas 8 (População 1) e 9 (População 2) plantas com SG=100% com BRS Estilo, respectivamente (Apêndices B e C). Esse resultado evidencia a importância da análise de similaridade genética durante as etapas de retrocruzamento, que possibilita a seleção de progênies mais similares ao genitor recorrente, permitindo uma boa recuperação genética.

Na geração RC_3F_2 , 75% e 87% das plantas analisadas apresentaram os alelos *Pse-2* e *Pse-6* na População 1 e 2 respectivamente, dentre essas, 15 plantas de cada população foram selecionadas e colhidas individualmente, derivando as progênies para a realização do teste de progênies (Apêndices B e C). Para cada uma das 15 progênies, foram analisadas 15 plantas $RC_3F_{2:3}$, totalizando 225 plantas por população, e selecionadas as progênies que não apresentaram segregação para os alelos de interesse, ou seja, plantas com locos de resistência ao CBA em homozigose. Nesse contexto, foram selecionadas para População 1 as progênies 11.2 e 21.2, totalizando 30 plantas $RC_3F_{2:3}$ positivas para a presença do alelo *Pse-2* (Tabela 2.2), e para População 2 as progênies 6.6 e 2.74, totalizando 30 plantas $RC_3F_{2:3}$ positivas para a presença do alelo *Pse-6* (Tabela 2.3).

As progênies das duas populações apresentam grãos tipo carioca com pelo menos 92% de grãos padrão comercial (PGPC) e M100(g) próxima a BRS Estilo (Tabela 2.4), sendo que para População 1 os grãos apresentaram rajas similares à cultivar BRS Estilo, enquanto que para População 2 as sementes apresentaram um padrão diferente de rajas (Figura 2.4).

O uso da SAM é uma técnica que otimiza a seleção de plantas resistentes aos patógenos, principalmente nas etapas iniciais. Em programas de melhoramento preventivo, que não é possível realizar a inoculação do patógeno na região que ocorre o avanço das gerações, os marcadores também auxiliam na seleção em etapas iniciais, na seleção de plantas ou mesmo progênies promissoras. No entanto, como os marcadores utilizados para seleção das progênies não estão diretamente ligados aos alelos *Pse-2* e *Pse-6* (Miklas et al., 2014; Miklas et al., 2011), as progênies das Populações 1 e 2

selecionadas serão submetidas à inoculação por meio de parcerias internacionais, onde o patógeno está disseminado, para confirmação da resistência das plantas ao CBA.

Tabela 2.2. Teste de progênies RC₃F_{2,3} a partir do marcador SCAR SAE 15 ligado ao alelo *Pse-2* em plantas de progênies RC₃F_{2,3} a partir dos produtos amplificados de 955pb pela análise de PCR.

Marcador SCAR SAE 15	Progênies RC ₃ F _{2,3}														
	1.2	2.2	11.2*	13.2	6.2	21.2*	17.22	4.25	19.25	18.22	4.28	13.28	24.28	25.28	19.28
	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

+: Planta com resultado positivo para a presença do alelo *Pse-2*; -: Planta com resultado negativo para a presença do alelo *Pse-2*; *: Progênies selecionadas.

Tabela 2.3. Teste de progênies RC₃F_{2,3} a partir do marcador SCAR SB10 ligado ao alelo *Pse-6* em plantas de progênies RC₃F_{2,3} a partir dos produtos amplificados de 550pb pela análise de PCR.

Marcador SCAR SB10	Progênies RC ₃ F _{2,3}														
	1.55	3.57	8.57	20.57	6.6*	11.6	16.6	1.63	4.65	1.71	4.71	15.71	2.74*	5.74	6.74
	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+
	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Planta com resultado positivo para a presença do alelo *Pse-6*; -: Planta com resultado negativo para a presença do alelo *Pse-6*; *: Progênies selecionadas.

Tabela 2.4. Avaliação da Massa de 100 grãos (g), grãos retidos na peneira de furos oblongos de 2,25mm e a porcentagem de grãos de padrão comercial (PGPC) para cultivar BRS Estilo e para progênies RC₃F_{2:3} selecionadas.

Identificação	M100(g)	Peneira (g)	% PGPC
BRS Estilo	28,4	293	97,7
BRS Estilo/ZAA-12 - 11.2	30,0	287	95,7
BRS Estilo/ZAA-12 - 21.2	28,7	278	92,7
BRS Estilo/BelNeb-RR1 - 6.6	30,4	300	100,0
BRS Estilo/BelNeb-RR1 - 2.74	31,1	295	98,3

M100(g): Massa de 100 grãos; % PGPC: Porcentagem de grãos padrão comercial.

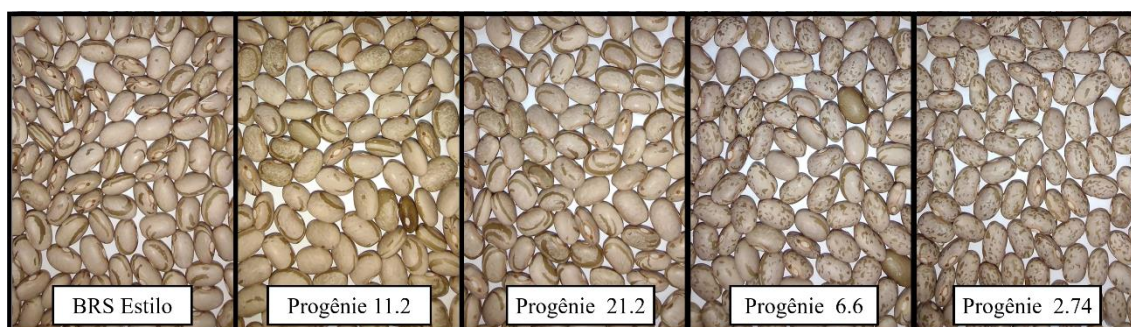


Figura 2.4. Sementes do genitor BRS Estilo e das progênies RC₃F_{2:3} da População 1 - BRS Estilo/ZAA-12 (11.2 e 21.2) e da População 2 - BRS Estilo/BelNebRR-1 (6.6 e 2.74).

Como perspectivas futuras, uma potencial piramidação dos alelos *Pse-2* e *Pse-6* em uma mesma cultivar poderá protegê-la de oito raças (1, 2, 3, 4, 5, 7, 8 e 9) das nove já conhecidas de Psp (Miklas et al., 2014; Miklas et al, 2011), com exceção apenas da raça 6. No futuro, a piramidação do alelo de resistência à raça 6 juntamente com os alelos *Pse-2* e *Pse-6* em uma mesma cultivar, permitirá a obtenção de uma cultivar com ampla resistência ao CBA, sendo uma forma de obter resistência por longo período e amplo espectro, com alelos piramidados por meio da utilização de marcadores moleculares ou via inoculação.

A aplicação da SAM ocasionou um progresso no melhoramento de feijão-comum, sendo amplamente utilizada em programas cujos os objetivos incluem resistência de plantas à doenças (Singh & Schwartz, 2010; Pasev et al., 2013; Bello et al., 2014; Souza et al., 2018), e permite a continuidade e avaliação de organismos quarentenários e emergentes em Programas de Melhoramento Preventivo. Um dos recursos mais amplamente utilizados para o desenvolvimento de variedades tem sido os retrocruzamentos assistidos por marcadores moleculares, auxiliando na incorporação de alelos de interesse em linhagens elite (Patroti et al., 2019).

Outros trabalhos relacionados ao Melhoramento Preventivo para pragas e doenças de alto risco também estão em desenvolvimento, como de linhagens com resistência às pragas quarentenárias *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* e *Burkholderia glumae*, que são grandes ameaças à cultura do arroz no mundo (Ferreira & Rangel, 2018; Martin Neto et al., 2016), o fungo *Guignardia bidwelli*, responsável pela doença conhecida como podridão negra da videira (*blackrot*) (Martin Neto et al., 2016) e o *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* que causa a murcha do fusário, uma das principais doenças fúngicas que incidem sobre a cultura da lentilha (Cardoso, 2021).

Trabalhar preventivamente diminui os riscos e aumenta a eficiência do processo de obtenção das medidas de controle. Pensando nisso, portanto, nesse trabalho foram obtidas para População 1 (BRS Estilo/ ZAA-12), com o auxílio do marcador SAE 15, duas progênies RC₃F_{2:3} (920 g de sementes) contendo o alelo *Pse-2* em homozigose, que confere resistência às raças 2, 3, 4, 5, 7, 8 e 9 de Psp. Para População 2 (BRS Estilo/ BelNeb-RR1), com o auxílio do marcador molecular SB 10, foram obtidas duas progênies RC₃F_{2:3} (1025 g de sementes) contendo o alelo *Pse-6* em homozigose, que confere resistência às raças 1, 5, 7 e 9 de Psp.

2.4. CONCLUSÕES

Foram obtidas progênies de feijão-comum RC₃F_{2:3} da classe comercial carioca resistentes ao CBA por meio de retrocruzamentos com a cultivar BRS Estilo assistidos por marcadores moleculares. As progênies da População 1 (BRS Estilo/ ZAA-12) possuem o alelo *Pse-2*, que confere resistência às raças 2, 3, 4, 5, 7, 8 e 9 de Psp. E as progênies da População 2 (BRS Estilo/ BelNeb-RR1) possuem o alelo *Pse-6*, que confere resistência às raças 1, 5, 7 e 9 de Psp.

2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilera, S., Alvarez-Morales, A., Murillo, J., Hernández-Flores, J.L., Bravo, J., De la Torre-Zavala, S. Temperature-mediated biosynthesis of the phytotoxin phaseolotoxin by *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* depends on the autoregulated expression of the phtABC genes. **PLoS One**, v. 12, n. 6, p. e0178441, 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0178441

- Arnold, D.L., Lovell, H.C., Jackson, R.W., Mansfield, J.W. *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*: from 'has bean' to supermodel. **Molecular plant pathology**, v. 12, n. 7, p. 617-627, 2011. doi:10.1111/j.1364-3703.2010.00697.x
- Brondani, R.P.V., Brondani, C., Tarchini, R., Grattapaglia, D. Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, n. 5-6, p. 816-827, 1998. doi: 10.1007/s001220050961
- Burkholder, W.H. A new bacterial disease of the bean. **Phytopathology**, v. 16, n. 12, p. 915-927, 1926. ISSN: 0031-949X
- Cardoso, P.C.B., Brondani, C., Menezes, I. P. P., Valdisser, P. A. M. R., Borba, T. C. O., Del Peloso, M. J., Vianello, R. P. Discrimination of common bean cultivars using multiplexed microsatellite markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, p. 1964-1978, 2014. doi: 10.4238/2014.March.24.1
- Cardoso, F.R. **Caracterização morfoagronômica, nutricional e seleção para resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (gene *Fw*) em germoplasma de lentilha**. 2021. 96 f., il. Tese (Doutorado em Agronomia) — Universidade de Brasília, Brasília, 2021.
- Carvalho, A. Genetics of *Coffea* XXIV-Mutants of *Coffea arabica* from ethiopia. **Bragantia**, v. 18, p. 353-371, 1959. doi: 10.1590/S0006-87051959000100025
- Cruz, C.D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013. doi: 10.4025/actasciagron.v35i3.21251
- Dowson, W.J. On the generic names *Pseudomonas*, *Xanthomonas* and *Bacterium* for certain bacterial plant pathogens. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 26, n. 1-2, 1943. doi: 10.1016/S0007-1536(43)80003-6
- Dudley, J.P., Woodford, M.H. Bioweapons, bioterrorism and biodiversity: potential impacts of biological weapons attacks on agricultural and biological diversity. **Revue scientifique et technique-Office international des épizooties**, v. 21, n. 1, p. 125-138, 2002.
- EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Dados conjunturais da produção de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) no Brasil (1985 a 2020): área, produção e rendimento. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2021. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>>. Acesso em: 19/ 09/ 2021.**
- Ferreira, E.F.; Rangel, P.H.N. Priorização de pragas quarentenárias ausentes no Brasil. Pragas priorizadas. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xanthomonadales). **Embrapa, Brasília-DF**. Capítulo 22. P. 365-386, 2018.
- Gardan, L., Bollet, C., Abu Ghorrah, M., Grimont, F., Grimont, P.A.D. DNA relatedness among the pathovar strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* Janse (1982) and proposal of *Pseudomonas savastanoi* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 606-612, 1992. doi: 10.1099/00207713-42-4-606
- Hunter, P.J.; Taylor, J.D. Patterns of interaction between isolates of three pathovars of *Pseudomonas syringae* and accessions of a range of host and nonhost legume

species. **Plant pathology**, v. 55, n. 1, p. 46-53, 2006. doi: 10.1111/j.1365-3059.2005.01314.x

Janse, J.D. Bacterial diseases that may or do emerge, with (possible) economic damage for Europe and the Mediterranean basin: notes on epidemiology, risks, prevention and management on first occurrence. **Journal of Plant Pathology**, v.94, p.S4.5-S4.29, 2012. doi: 10.4454/JPP.V95I4SUP.001

Marques, A.S.A., Samson, R. Population dynamics of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* in bean, throughout the epiphytic and pathogenic phases. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 623-630, 2016. doi: 10.1590/S0100-204X2016000500024

Martin Neto, L., Galerani, P. R., Costa, J. L. D. S. Pesquisa, desenvolvimento e inovações em face de ameaças sanitárias para a agropecuária brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. i-viii, 2016. doi: 10.1590/S0100-204X2016000500iii

Melo, L.C., Peloso, M.J.D., Pereira, H.S., Faria, L.C.D., Costa, J.G.C.D., Díaz, J.L.C, Rava, C.A., Wendland, A., Abreu, Â.F.B. BRS Estilo: common bean cultivar with Carioca grain, upright growth and high yield potential. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 377-379, 2010. doi: 10.1590/S1984-70332010000400015

Miklas P. N.; Kelly J. D., Beebe S. E.; Blair M. W. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. **Euphytica** 147:105–131, 2009. doi: 10.1007/s10681-006-4600-5

Miklas, P.N., Fourie, D., Trapp, J., Larsen, R. C., Chavarro, C., Blair, M.W., Gepts, P. Genetic characterization and molecular mapping Pse-2 gene for resistance to halo blight in common bean. **Crop science**, v. 51, n. 6, p. 2439-2448, 2011. doi: 10.2135/cropsci2011.01.0046

Miklas, P.N., Fourie, D., Trapp, J., Davis, J., Myers, J.R. New loci including Pse-6 conferring resistance to halo bacterial blight on chromosome Pv04 in common bean. **Crop Science**, v. 54, n. 5, p. 2099-2108, 2014. doi: 10.2135/cropsci2014.03.0213

Morais, S.R.P., Vieira, A.F., Almeida, L.C.D.S., Rodrigues, L.A., Melo, P.G.S., Faria, L. C., Melo, L.C., Pereira, H.S., Souza, T.L.P.O. Application of microsatellite markers to confirm controlled crosses and assess genetic identity in common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, n. 3, p. 234-239, 2016. doi: 10.1590/1984-70332016v16n3n35

Noble, T.J., Young, A.J., Douglas, C. A., Williams, B., Mundree, S. Diagnosis and management of halo blight in Australian mungbeans: a review. **Crop and Pasture Science**, v. 70, n. 3, p. 195-203, 2019. doi:10.1071/cp18541

Patroti, P.; Vishalakshi, B.; Umakanth, B.; Suresh, J.; Senguttuvel, P.; Madhav, M. S. Marker-assisted pyramiding of major blast resistance genes in Swarna-Sub1, an elite rice variety (*Oryza sativa* L.). **Euphytica**, v. 215, n. 179, 2019. doi:10.1007/s10681-019-2487-1

Santos, P.M., Fávero, A.P., Pezzopane, J.R.M., Vigna, B.B.Z., Yassitepe, J.D.C. Coleta, conservação, melhoramento e recomendação de uso de recursos genéticos visando às mudanças do clima. **MAPA**. Brasília- DF. p.26-31, 2021.

- Schwartz, H.F., Steadman, J.R., Hall, R., Forster, R.L. **Compendium of bean diseases**. APS Press, St. Paul., MN. p. 49-50, 2005. ISBN: 0890543275
- Stavely, J.R., Steadman, J.R., Coyne, D.P., Lindgren, D.T. BelNeb-Rust Resistant-1 and -2 great northern dry bean germplasm. **HortScience**, v. 24, p. 400-401, 1989. ISSN: 0018-5345
- Sun, S., Zhi, Y., Zhu, Z., Jin, J., Duan, C., Wu, X., Xiaoming, W. An emerging disease caused by *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* threatens mung bean production in China. **Plant disease**, v. 101, n. 1, p. 95-102, 2017. doi: 10.1094/PDIS-04-16-0448-RE
- Taylor, J.D., Teverson, D.M., Davis, J.H. Sources of resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* races in *Phaseolus vulgaris*. **Plant Pathology**, v. 45, n. 3, p. 479-485, 1996. doi: 10.1046/j.1365-3059.1996.d01-148.x
- Taylor, J.D., Dudley, C.L., Presly, L. Studies of halo-blight seed infection and disease transmission in dwarf beans. **Annals of Applied Biology**, v. 93, n. 3, p. 267-277, 1979. doi: 10.1111/j.1744-7348.1979.tb06541.x
- Tock, A.J., Fourie, D., Walley, P. G., Holub, E. B., Soler, A., Cichy, K. A., Pastor-Corrales, M.A., Song, Q., Porch, T.G, Hart, J.P., , Vasconcellos, R.C.C., Vicente, J.G., Barker, G.C., Miklas, P. N. Genome-wide linkage and association mapping of halo blight resistance in common bean to race 6 of the globally important bacterial pathogen. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1170, 2017. doi:10.3389/fpls.2017.01170
- Yorinori, M.A., Funada, C.K., Rodrigues, Bianchini, A., Leite Jr., R.P., Bueno, B. Ocorrência do cretamento bacteriano aureolado do feijoeiro causado por *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira** 23(Suplemento): 218, 1998.
- Young, J.M., Dye, D.W., Bradbury, J.F., Panagopoulos, C.G., Robbs, C.F.A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 21, n. 1, p. 153-177, 1978. doi: 10.1080/00288233.1978.10427397
- Young, J.M., Triggs, C.M. Evaluation of determinative tests for pathovars of *Pseudomonas syringae* van Hall 1902. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 77, n. 2, p. 195-207, 1994. doi: 10.1111/j.1365-2672.1994.tb03064.x
- Wang, J., Shao, X., Zhang, Y., Zhu, Y., Yang, P., Yuan, J., Wang, T., Yin, C., Wang, W., Chen, S., Liang, H., Deng, X. HrpS is a global regulator on type III secretion system (T3SS) and non-T3SS genes in *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 31, n. 12, p. 1232-1243, 2018. doi: 10.1094/MPMI-02-18-0035-R

Apêndice A. Análise do número de pares de bases (pb) amplificados por 24 marcadores moleculares microssatélites para os genitores BRS Estilo, ZAA-12 e BelNeb-RR1, a partir do software Gene Mapper versão 4. Cada número de pb amplificado especificado a um marcador, refere-se a um alelo diferente.

Marcador molecular	Número de pares de bases amplificados		
	BRS Estilo	ZAA- 12 (A43)	BelNeb-RR1
BM 114	247	235	247
BM 138	201	201	197
BM 143	111	163	127
BM 164	145	185	145
PV 25	161	153	163
PV169	203	205	203
BM 155	111	111	111
BM 189	103	109	103
BM 202	152	132	150
BM 210	178	170	178
PV 35	214	248	208
PV 5	177	169	177
BM187	na	na	na
BM 113	91	99	91
BM 154	250	216	216
PV 13	179	173	179
PV 272	85	109	111
PV 87	160	184	174
BM 181	182	186	182
BM 183	146	150	144
BM 201	98	100	108
PV 11	184	184	184
PV 163	230	306	230
PV 251	204	204	204

Apêndice B. Similaridade genética entre as plantas da População 1 (BRS Estilo/ ZAA-12) nas gerações RC₁F₁, RC₂F₁ e RC₃F₁, e o genitor BRS Estilo quantificada pelo número de alelos comuns que eles compartilham, com base na distância euclidiana para dados binários pelo método do vizinho mais próximo, e análise da presença ou ausência do alelo *Pse-2* em plantas das gerações RC₂F₁, RC₃F₁ e RC₃F₂ a partir dos produtos amplificados de 955pb pela análise de PCR com a utilização do marcador SAE 15.

População 1 (BRS Estilo/ZAA-12)													
RC ₁ F ₁		RC ₂ F ₁			RC ₃ F ₁			RC ₃ F ₂					
ID.	SG %	ID.	<i>Pse-2</i>	SG %	ID.	<i>Pse-2</i>	SG %	ID.	<i>Pse-2</i>	ID.	<i>Pse-2</i>	ID.	<i>Pse-2</i>
rc1.1	0.70	rc2.1	-	na	rc3.1	-	na	1.2*	+	8.22	+	8.28	+
rc1.2	0.80	rc2.2	-	na	rc3.2	+	1,00	2.2*	+	9.22	-	9.28	+
rc1.3	0.80	rc2.3	-	na	rc3.3	-	na	3.2	+	10.22	+	10.28	+
rc1.4	0.80	rc2.4	-	na	rc3.4	+	0,96	4.2	+	11.22	+	11.28	+
rc1.5	0.68	rc2.5	-	na	rc3.5	+	1,00	5.2	-	12.22	+	12.28	+
rc1.6	0.82	rc2.6	-	na	rc3.6	-	na	6.2*	+	13.22	-	13.28*	+
rc1.7	0.67	rc2.7	-	na	rc3.7	-	na	7.2	+	14.22	+	14.28	+
rc1.8	0.95	rc2.8	-	na	rc3.8	-	na	8.2	+	15.22	+	15.28	+

rc1.9	0.80	rc2.9	-	na	rc3.9	-	na	9.2	+	16.22	-	16.28	+
rc1.10	0.95	rc2.10	-	na	rc3.10	-	na	10.2	+	17.22*	+	17.28	+
rc1.11	0.82	rc2.11	-	na	rc3.11	+	0,96	11.2*	+	18.22*	+	18.28	-
rc1.12	0.86	rc2.12	-	na	rc3.12	-	na	12.2	+	19.22*	+	19.28*	+
rc1.13	0.88	rc2.13	-	na	rc3.13	-	na	13.2*	+	20.22	-	20.28	-
rc1.14	0.82	rc2.14	-	na	rc3.14	+	1,00	14.2	-	1.25	+	21.28	-
rc1.15	0.80	rc2.15	+	0,93	rc3.15	-	na	15.2	-	2.25	+	22.28	-
rc1.16	na	rc2.16	-	na	rc3.16	-	na	16.2	+	3.25	+	23.28	+
rc1.17	0.77	rc2.17	+	0,96	rc3.17	-	na	17.2	+	4.25*	+	24.28*	+
rc1.18	0.73	rc2.18	+	0,98	rc3.18	-	na	18.2	+	5.25	+	25.28*	+
rc1.19	0.95	rc2.19	+	0,96	rc3.19	-	na	19.2	+	6.25	-	1.37	+
rc1.20	0.70	rc2.20	-	na	rc3.20	-	na	20.2	+	7.25	-	2.37	+
rc1.21	0.77	rc2.21	-	na	rc3.21	-	na	21.2*	+	8.25	-	4.37	+
rc1.22	na	rc2.22	+	0,98	rc3.22	+	1,00	1.5	-	9.25	+		
rc1.23	0.85	rc2.23	-	na	rc3.23	+	0,96	2.5	-	10.25	+		
rc1.24	0.83	rc2.24	-	na	rc3.24	-	na	3.5	+	11.25	+		
rc1.25	0.68	rc2.25	-	na	rc3.25	+	1,00	4.5	-	12.25	+		
rc1.26	0.82	rc2.26	-	na	rc3.26	-	na	5.5	+	13.25	+		
rc1.27	0.68	rc2.27	-	na	rc3.27	-	na	6.5	+	14.25	-		
rc1.28	0.86	rc2.28	-	na	rc3.28	+	1,00	7.5	+	15.25	+		
rc1.29	0.95	rc2.29	-	na	rc3.29	-	na	8.5	-	16.25	-		
rc1.30	0.80	rc2.30	-	na	rc3.30	-	na	9.5	+	17.25	-		
rc1.31	0.79	rc2.31	-	na	rc3.31	-	na	10.5	+	18.25	-		
		rc2.32	-	na	rc3.32	-	na	11.5	+	19.25	+		
		rc2.33	-	na	rc3.33	-	na	12.5	-	20.25	+		
		rc2.34	-	na	rc3.34	-	na	1.22	-	1.28	+		
					rc3.35	+	1,00	2.22	-	2.28	+		
					rc3.36	+	0,96	3.22	+	3.28	+		
					rc3.37	+	1,00	4.22	+	4.28*	+		
					rc3.38	-	na	5.22	+	5.28	+		
					rc3.39	+	0,96	6.22	+	6.28	+		
					rc3.40	-	na	7.22	+	7.28	+		

ID.: Código de identificação da planta; SG%: Similaridade genética com a cultivar BRS Estilo; +: Planta com resultado positivo para a presença do alelo *Pse-2*; -: Planta com resultado negativo para a presença do alelo *Pse-2*; Destaques em negrito indicam as plantas selecionadas para a próxima geração; *: Plantas selecionadas e colhidas individualmente para a formação das progênes; na: Análise não realizada.

Apêndice C. Similaridade genética entre as plantas da População 2 (BRS Estilo/ BelNeb-RR1) e o genitor BRS Estilo quantificada pelo número de alelos comuns que eles compartilham, com base na distância euclidiana para dados binários pelo método do vizinho mais próximo, e análise da presença ou ausência do alelo *Pse-6* a partir dos produtos amplificados (550pb) pela análise de PCR com o marcador SB 10.

População 2 (BRS Estilo/BelNebRR1)											
RC ₁ F ₁		RC ₂ F ₁			RC ₃ F ₁			RC ₃ F ₂			
ID.	SG %	ID.	<i>Pse-6</i>	SG %	ID.	<i>Pse-6</i>	SG %	ID.	<i>Pse-6</i>	ID.	<i>Pse-6</i>
rc1.33	0.81	rc2.38	-	na	rc3.41	-	na	1.55*	+	3.63	+
rc1.34	0.84	rc2.39	-	na	rc3.42	-	na	3.55	-	4.63	+
rc1.35	0.84	rc2.40	-	na	rc3.43	-	na	4.55	-	5.63	+
rc1.36	1.00	rc2.41	-	na	rc3.44	-	na	5.55	-	2.65	+
rc1.37	0.81	rc2.42	-	na	rc3.45	-	na	6.55	-	3.65	+

rc1.38	0.91	rc2.43	-	na	rc3.46	-	na	8.55	-	4.65*	+
rc1.39	0.91	rc2.44	+	0,93	rc3.47	+	0,96	10.55	+	5.65	-
rc1.40	0.84	rc2.45	-	na	rc3.48	-	na	12.55	-	6.65	+
rc1.41	0.88	rc2.46	-	na	rc3.49	-	na	13.55	-	7.65	+
rc1.42	1.00	rc2.47	-	na	rc3.50	-	na	1.57	+	8.65	+
rc1.43	0.84	rc2.48	-	na	rc3.51	-	na	2.57	-	9.65	+
rc1.44	0.88	rc2.49	-	na	rc3.52	+	0,96	3.57*	+	11.65	+
rc1.45	0.81	rc2.50	-	na	rc3.53	-	na	4.57	+	12.65	+
rc1.46	0.88	rc2.51	-	na	rc3.54	-	na	5.57	+	1.71*	+
rc1.47	0.81	rc2.52	+	0,93	rc3.55	+	1	6.57	+	2.71	+
rc1.48	0.81	rc2.53	-	na	rc3.56	-	na	7.57	+	3.71	+
rc1.49	0.84	rc2.54	+	0,93	rc3.57	+	1	8.57*	+	4.71*	+
rc1.50	1.00	rc2.55	-	na	rc3.58	-	na	9.57	+	5.71	+
rc1.51	0.91	rc2.56	-	na	rc3.59	+	1	10.57	+	6.71	+
rc1.52	0.75	rc2.57	+	1	rc3.60	+	1	11.57	+	7.71	+
rc1.53	0.94	rc2.58	-	na	rc3.61	-	na	12.57	+	8.71	+
rc1.54	1.00	rc2.59	-	na	rc3.62	-	na	13.57	+	9.71	+
rc1.55	0.78	rc2.60	+	0,97	rc3.63	+	1	14.57	+	10.71	+
rc1.56	0.81	rc2.61	-	na	rc3.64	-	na	15.57	+	11.71	+
rc1.57	0.94	rc2.62	-	na	rc3.65	+	1	16.57	+	12.71	+
rc1.58	0.91	rc2.63	-	na	rc3.66	-	na	17.57	+	13.71	+
rc1.59	0.75	rc2.64	-	na	rc3.67	-	na	18.57	+	14.71	+
rc1.60	0.72	rc2.65	-	na	rc3.68	+	1	19.57	-	15.71*	+
rc1.61	0.75	rc2.66	-	na	rc3.69	-	na	20.57*	+	17.71	+
rc1.62	0.72	rc2.67	+	1	rc3.70	-	na	21.57	+	18.71	+
rc1.63	0.78	rc2.68	+	1	rc3.71	+	1	23.57	+	21.71	+
rc1.64	0.63	rc2.69	-	na	rc3.72	-	na	1.59	-	1.74	+
					rc3.73	-	na	3.59	+	2.74*	+
					rc3.74	+	1	4.59	+	5.74*	+
					rc3.75	-	na	5.59	+	6.74*	+
					rc3.76	-	na	6.59	+	7.74	+
					rc3.77	-	na	2.6	+	9.74	+
					rc3.78	+	0,96	3.6	+	10.74	+
					rc3.79	-	na	4.6	+	11.74	+
					rc3.80	-	na	5.6	+		
					rc3.81	-	na	6.6*	+		
					rc3.82	-	na	7.6	+		
					rc3.83	-	na	9.6	+		
					rc3.84	-	na	10.6	+		
					rc3.85	-	na	11.6*	+		
					rc3.86	-	na	15.6	+		
					rc3.87	-	na	16.6*	+		
					rc3.88	-	na	18.6	+		
					rc3.89	+	0,93	1.63*	+		
					rc3.90	+	0,96	2.63	+		

ID.: Código de identificação da planta; SG%: Similaridade genética com a cultivar BRS Estilo; +: Planta com resultado positivo para a presença do alelo *Pse-6*; -: Planta com resultado negativo para a presença do alelo *Pse-6*; Destaques em negrito indicam as plantas selecionadas para a próxima geração; *: Plantas selecionadas e colhidas individualmente para a formação das progênes; na: Análise não realizada.

CAPÍTULO 2

3. VALIDAÇÃO DE MARCADOR SNP ASSOCIADO À RESISTÊNCIA AO CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM DO FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)

RESUMO. O crestamento bacteriano comum (CBC), causado pelos patógenos *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xap*) e *Xanthomonas citri* pv. *fuscans*, é a principal bacteriose que afeta a cultura do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) no Brasil, sendo a utilização de cultivares resistentes um dos métodos mais eficientes de controle da doença. A seleção assistida por marcadores moleculares (SAMM) é uma ferramenta genética com grande potencial para acelerar e reduzir os custos no desenvolvimento de variedades em programas de melhoramento. Assim, esse trabalho objetivou caracterizar e validar o marcador snpPV0039, associado ao QTL-SU91 de resistência ao CBC, no germoplama elite do programa de melhoramento de feijão da Embrapa, com a finalidade de incorporá-lo na rotina de SAMM. Foi realizada a genotipagem de 376 genitores-elite de feijão-comum com marcador snpPV0039. Para a validação do marcador SNP, foi utilizada uma população segregante F₂ derivada do cruzamento entre a linhagem resistente ‘CB 911921’ (*QTLSU91*) e uma linhagem suscetível (G1, ‘Genitor 1’), inoculada com o isolado da raça Xp CNF19 de *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*. Os dados de fenotipagem com *Xap* realizado em condição controlada e genotipagem com marcador snpPV0039 na geração F₂ foram submetidos ao teste de Qui-quadrado (χ^2) com auxílio do software R. A análise do marcador snpPV0039 evidenciou o seu potencial de aplicação. Entre as 218 plantas F₂ fenotipadas para reação à *Xap*, 159 foram caracterizadas como resistentes e 59 como suscetíveis, ajustando à proporção esperada de 3R₋:1rr ($\chi^2 = 0.49$; p = 0.48). A segregação de snpPV0039 nesta população se ajustou à proporção de 1RR:2Rr:1rr ($\chi^2 = 1.5$; p = 0.47), segregando conforme o esperado para marcadores codominantes. Quanto à análise de ligação gênica, o marcador snpPV0039 está ligado ao alelo *QTLSU91* a aproximadamente 10 cM. O marcador snpPV0039 apresentou eficiência de seleção de 96% na identificação de plantas com o alelo *QTLSU91* de resistência à CBC, para as em 218 plantas da população F₂ (Genitor 1 x CB 911921). Esse resultado significa que há uma correlação positiva entre os dados de fenotipagem de reação ao CBC e a presença do alelo *QTLSU91* identificado pelo snpPV0039.

3.2. INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das principais fontes de proteína vegetal, consumido na maioria dos países da América Latina e da África e em distintas regiões e estações do ano (Sherasia et al., 2017; Yang et al., 2011). Devida a grande importância socioeconômica da cultura no Brasil, o cultivo em três safras ao longo do ano e níveis variados de tecnificação de cultivo, os programas de melhoramento têm trabalhado continuamente para fornecerem aos agricultores cultivares que atendam às diferentes regionalidades (Silva & Wander, 2013). Um dos grandes desafios desses programas é o elevado número de doenças que afetam a cultura durante todo o seu ciclo de cultivo, sendo que o cretamento bacteriano comum (CBC) se destaca por ser uma doença devastadora, causando sérias perdas de produção em todo mundo (Paiva et al., 2022; Singh & Schwartz, 2010).

O CBC é ocasionado pela *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (Xap) e (Vauterin et al., 1995) e sua variante, *X. citri* pv. *fuscans* (Schaad et al., 2006). Os sintomas comuns da doença consistem, principalmente, de pequenas áreas de encharcamento nas folhas e no caule, evoluindo para necrose e imperfeições nas sementes, como descoloração do hilo, manchas amarelas e enrugamento do tegumento da semente, o que pode reduzir significativamente a produção (Singh & Miklas, 2015). Para o controle eficaz da doença é recomendada a utilização de métodos de controle preventivos, como sementes certificadas, uso adequado de irrigação, cultivo em solos não infestados, rotação de culturas e o uso de cultivares resistentes ao patógeno, que é o método ambientalmente mais seguro (Singh & Miklas, 2015; Akhavan et al., 2013; Maringoni & Lauretti, 1999).

Com os avanços da genômica e sua incorporação nos programas de melhoramento, novas ferramentas moleculares estão sendo desenvolvidas e efetivamente utilizadas para seleção assistida por marcadores (SAM). Esses marcadores genéticos, uma vez validados, apresentam grande potencial de aplicação na seleção precoce de alelos-alvo, proporcionando um aumento na eficiência e reduzindo tempo e custos das etapas de seleção de genótipos superiores pelos programas de melhoramento (Lobaton et al., 2018; Wu et al., 2017; Perry et al., 2013). Vários marcadores associados a características governadas por um único gene, já foram validados e podem ser utilizados com sucesso na SAM (Gomes-Messias et al., 2022; Lema et al., 2021; Singh & Schwartz, 2010).

Já foram descritos vários locos associados à resistência à CBC, os quais estão distribuídos nos 11 cromossomos do feijão-comum (Singh & Miklas, 2015; Viteri et al., 2014; Kelly et al., 2003). Entre os locos descritos como associado à resistência à CBC, os locos SAP 6 e SU91, mapeados nos cromossomos Pv10 e Pv08, respectivamente, em populações descendentes de *P. acutifolius*, são os mais estáveis e que conferem resistência efetiva entre diferentes populações de melhoramento, sendo assim um dos mais utilizados no desenvolvimento de cultivares resistentes (Perry et al., 2013, Tryphone et al., 2012).

Esse estudo objetivou avaliar o marcador snpPV0039, previamente identificado por Lobaton et al. (2018) como associado ao *QTLSU91* de resistência ao CBC, em um painel diverso de genitores de feijão-comum, incluindo importantes fontes de resistência do programa de melhoramento de feijão-comum da Embrapa, e validar esse marcador em uma população F₂ segregante para resistência ao CBC, visando estimar sua eficiência de seleção e potencial de ser incorporado à rotina da SAM.

3.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.2. Material Genético

Foram utilizados 376 genótipos de feijão-comum de diversos programas de melhoramento nacionais e internacionais que apresentam respostas contrastantes de resistência ao CBC, incluindo cultivares, linhagens elite e fontes de resistência. Informações sobre a instituição de origem, pool gênico, tipo de grão e reação ao CBC são apresentado no Apêndice A.

As informações fenotípicas sobre a reação à doença (resistente, moderadamente resistente e suscetível), foram obtidas para 69 dos 376 genótipos deste estudo (Apêndice A). Dez sementes de cada genótipos foram depositadas em folhas de papel germitest, umedecidas com água destilada autoclavada e colocadas em germinador (Mangelsdorf) em temperatura constante de 25°C e 27% de umidade por sete dias. Dois discos de folhas obtidos das folhas primárias com um perfurador foram coletadas individualmente e transferidas para 96 placas de poços profundos estéreis. As placas foram armazenadas em congelador a -80°C por 24 horas e, em seguida, submetidos à liofilização por seis horas em liofilizador (Liotop® modelo L101). Por fim as placas foram enviadas para a Intertek Agritech (Suécia) para genotipagem, que realiza análise com marcadores KASP (Rasheed et al. 2016).

Foi utilizada uma população segregante F₂ derivada do cruzamento entre a linhagem resistente ‘CB 911921’ (Rava et al., 1996) e uma linhagem suscetível não identificada que denominamos nesse trabalho como G1 (‘Genitor 1’). Quando do seu desenvolvimento, os cruzamentos controlados foram realizados em casa de vegetação com sistema de climatização por nebulização, na Embrapa Arroz e Feijão, localizada em Santo Antônio de Goiás - GO. As plantas F₁ obtidas foram colhidas após um ciclo de autofecundação, o que resultou na população F₂ utilizada na análise de segregação e ligação do marcador snpPV0039.

3.2.2. Análise genético-estatística do marcador snpPV0039

O marcador snpPV0039 associado ao alelo *QTL_{SU91}* que confere a resistência ao CBC (Lobaton et al., 2018) foi selecionado a partir do portfólio disponibilizado pelo projeto “High Through-Put Genotyping (HTPG)” (Bohar et al., 2020).

Adicionalmente, o snpPV0039 foi avaliado através experimentos com uma sonda de hidrólise *TaqMan*[®] (ThermoFisher) (Shen et al. 2009; Applied Biosystems 2021) realizados no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Arroz e Feijão, conforme descrito no item 3.2.4.

Uma análise de regressão linear simples entre os genótipos do marcador snpPV0039 e os dados fenotípicos com nota de reação ao CBC para os 30 genótipos que apresentam a média das reações (Apêndice A) foi realizada utilizando o software R, versão 4.0.5 (R Core Team, 2021), com significância nível de $p < 0,05$.

3.2.3. Desenvolvimento do ensaio de genotipagem *TaqMan*[®] SNP

A partir do marcador snpPV0039 (ACTTCTTGATACCAT[T/A]TTGCGCATTAACATCACT) foi desenvolvida a sonda de hidrólise *TaqMan*[®], tendo como alvo o alelo associado ao *QTL_{SU91}*. A região no genoma, contendo o SNP-alvo foi submetida à busca por similaridade utilizando BLAST e quanto a presença de elementos repetitivos utilizando o RepeatMasker, ambos recursos de análise disponíveis na plataforma Phytozome. A partir dessas informações foi desenvolvida uma sonda de hidrólise do tipo *TaqMan*[®] associada ao snpPV0039 (ThermoFisher).

3.2.4. Validação do marcador *TaqMan*[®] snpPV0039

O marcador *TaqMan*[®] snpPV0039 associados ao CBC (*QTL SU91*) foi validado usando a população F₂ (G1/CB911921), que foi fenotipado para a reação à *X. phaseoli* pv. *phaseoli*.

3.2.4.1. Preparo dos inóculos de *X. phaseoli* pv. *phaseoli*, inoculação e avaliação da doença

O inóculo do isolado da raça Xp CNF19 foi preparado com 48 h de crescimento em ágar nutriente a 24°C. O inóculo consistiu de uma suspensão bacteriana em água destilada estéril, cuja concentração foi ajustada em espectrofotômetro (A₄₄₅ = 1,0), que corresponde a 10⁸ UFC mL⁻¹ (Costa et al., 2009).

Para avaliação da reação à CBC, sementes da geração F₂ (G1/CB911921), da linhagem CB911921 (testemunha resistente) e das testemunhas suscetíveis BRS Esteio, FP403 e Rosinha foram semeadas em vasos de polietileno com capacidade para 180 mL contendo substrato comercial (Plantmax[®]). Aos 10 dias após a semeadura (DAS) foi realizada a inoculação, conforme a metodologia de incisão das folhas primárias, descrita por Rava (1984). Foram inoculadas 218 plantas da população F₂ e seis plantas de cada uma das quatro testemunhas, totalizando 242 plantas (Figura 3.1). A avaliação dos sintomas foi realizada aos 11 dias após a inoculação (DAI), utilizando uma escala com 7 graus de reação à doença (graus 0 a 6), descrita por Rava (1984) (Tabela 3.1; Figura 3.2). As notas foram atribuídas a cada uma das plantas, e posteriormente foi realizada a média das notas atribuídas aos genitores. As plantas com nota de 0 a 3 foram consideradas resistentes e as plantas com nota igual ou maior que 4 foram consideradas suscetíveis.

Tabela 3.1. Escala de notas para avaliação da reação de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) à *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. Rava (1984).

Grau	Descrição dos sintomas
0	Ausência de sintomas.
1	Clorose descontínua nos cortes.
2	Clorose contínua nos cortes.
3	Clorose nos cortes e murcha na borda da folha compreendida entre os cortes, sem, no entanto, ultrapassar a nervura lateral.
4	Clorose e murcha que ultrapassam a nervura lateral.
5	Clorose e murcha até o nível interno dos cortes.
6	Clorose avançando em torno de 1 cm no interior da folha e murcha de toda a área.

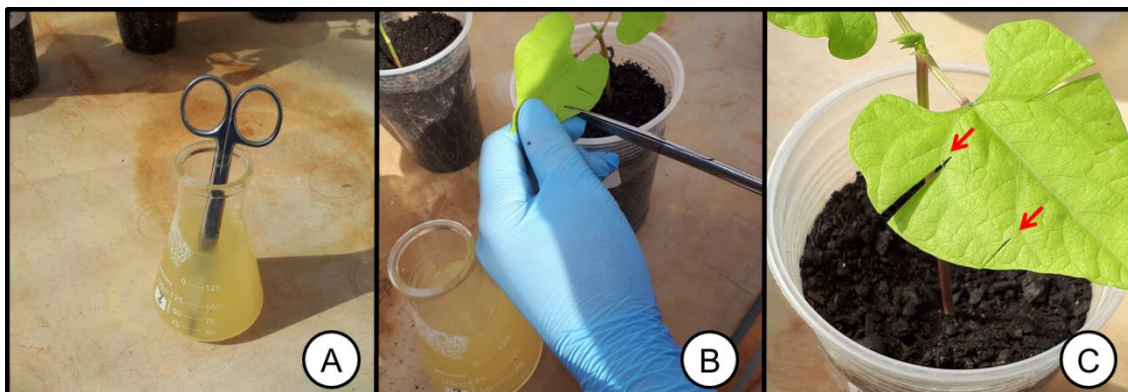


Figura 3.1. Ilustração das etapas da metodologia de inoculação por incisão de folha primária do feijão-comum para avaliar sua reação à *X. phaseoli* pv. *phaseoli*, proposta por Rava (1984). A- Tesoura mergulhada no inóculo do patógeno. B- Realização dos dois cortes na folha, de forma contínua. C- Setas em vermelho indicam os locais dos cortes, o primeiro (superior) e o segundo (inferior) corte devem passar um pouco a segunda e a terceira nervura secundária da folha, respectivamente.

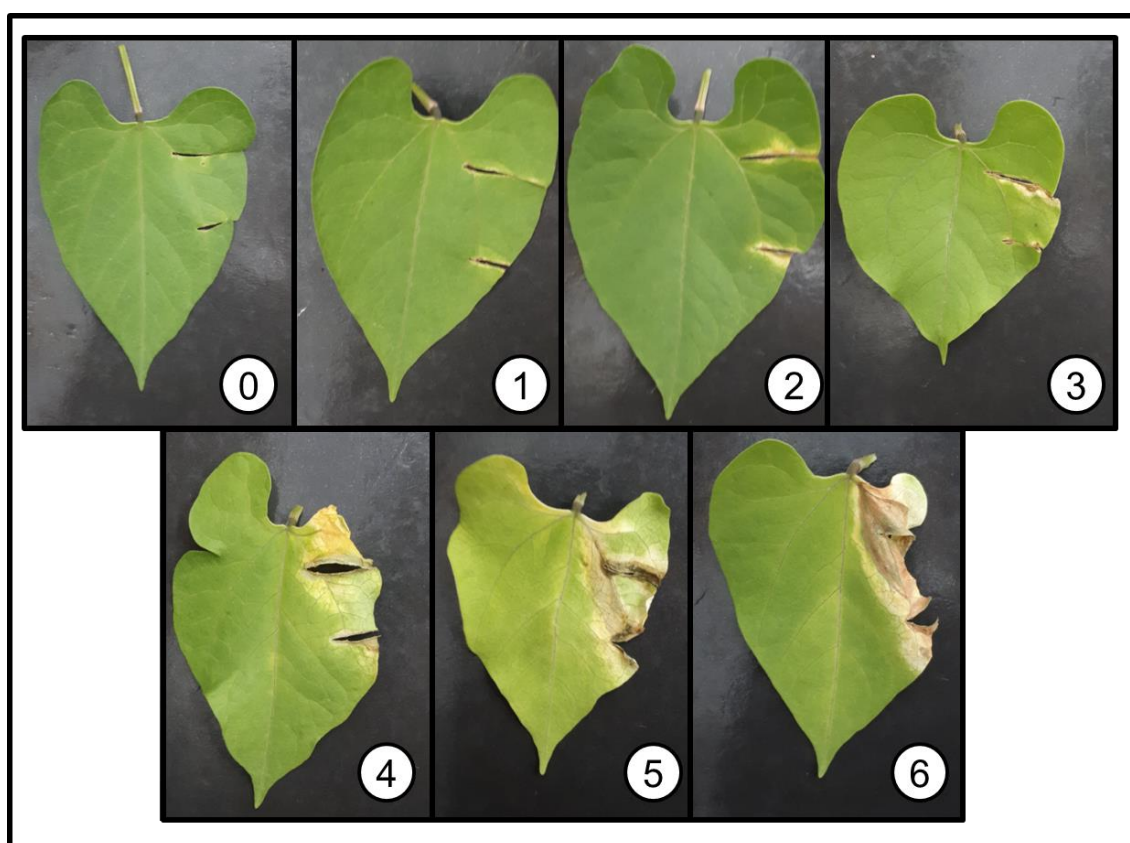


Figura 3.2. Sintomas de crestamento bacteriano comum (CBC) apresentado por plantas de feijão-comum aos onze dias após a inoculação (DAI), as quais ilustram cada um dos sete graus de reação à doença que compõem a escala de avaliação proposta por Rava (1984), com notas de 0 a 6 para o grau de reação à doença, considerando como plantas resistentes as que receberam notas entre 0 e 3, e suscetíveis as com notas de 4 a 6.

3.2.4.2. Análise molecular do marcador *TaqMan*[®] snpPV0039

A extração do DNA genômico foi realizada a partir de amostras de tecido foliar do genitor resistente CB911921, das testemunhas susceptíveis (BRS Esteio, FP403 e Rosinha G2) e das plantas F₂ (G1 x CB 911921), de acordo com o método descrito por Brondani et al. (1998). A concentração do DNA extraído foi estimada por gel de agarose a 1,0 %. As amostras foram diluídas para a concentração de 30 ng μL^{-1} .

A amplificação da sonda *TaqMan*[®] snpPV0039 foi realizada por PCR utilizando o reagente *Taqman*[®] *GTXpress*[™] (Life Technologies), conforme orientações do fabricante. A amplificação foi conduzida no equipamento QuantStudio 7 Flex (Applied Biosystems) nas seguintes condições: 60°C por 30s., 95°C por 20s., seguido por 50 ciclos de 95°C por 3 s. e 60°C por 30s., e extensão final de 60°C por 30s. Ao final, a análise dos alelos foi realizada utilizando o programa *Genotyping Analysis Module*, V.3.7.

3.2.5. Análise genético-estatística

Os dados de fenotipagem com *X. phaseoli* pv. *phaseoli* e genotipagem com marcador snpPV0039 na geração F₂ (G1 x CB 911921) foram submetidos ao teste de Qui-quadrado (χ^2) para testar as hipóteses de segregação 3R:1rr e 1RR:2Rr:1rr, respectivamente. Esta análise foi realizada adotando o nível de significância $\alpha=5\%$, com auxílio do software R (R Development Core Team 2021).

Um gráfico de *boxplot* foi gerado para avaliar a dispersão dos dados fenotípicos em relação ao SNP-alvo e a significância avaliada por meio do teste não-paramétrico de Wilcoxon (1945).

A análise de ligação entre o marcador snpPV0039 e o loco *QTL_{SU91}* foi realizada com o auxílio do pacote OneMap do software R (Margarido et al., 2007). As duas classes (resistente e suscetível), definidas a partir da avaliação dos sintomas, foram codificadas como um marcador dominante. O objetivo foi estimar a fração de recombinação entre o marcador snpPV0039 e o alelo *QTL_{SU91}*, sendo, posteriormente, convertida em distância genética (cM).

A eficiência de seleção (ES%) para o marcador SNP na população segregante F₂, foi estimada conforme metodologia descrita por Liu (1998), com o seguinte estimador:

$$ES (\%) = (1 - 4rf^2) \times 100, \text{ em que } rf \text{ equivale à fração de recombinação.}$$

3.4. RESULTADOS E DISCUSÃO

No presente estudo, entre os 376 genitores-elite, o snpPV0039 (T:A) amplificou o alelo “A” em 15 genótipos, desses a variedade G 2333 é a única pertencente a classe de feijão roxo, e todos os outros genótipos são pertencentes a classe de feijão preto (Tabela 3.2).

Tabela 3.2. Amplificação do marcador snpPV0039 (*QTL**SU91*) em genótipos de feijão-comum e caracterização fenotípica destes quanto à reação ao crestamento bacteriano comum (CBC).

Genótipo	snpPV0039 (T:A)	Genealogia	Alelo	Fenótipo	Referência*
CB 911921	A:A	<i>P. vulgaris</i> / <i>P. acutifolius</i>	<i>SU91-QTL</i>	R	Embrapa**
CNFP 10120	A:A	CB911846 / AN9123293	<i>SU91-QTL</i>	R	Embrapa
CNFP 10138	A:A	-	<i>SU91-QTL</i>	R	Embrapa
BRS Esplendor	A:A	CB911863/AN9123293		MR	Embrapa
CNFP 16324	A:A	BRS ESPLENDOR / LM203200468			-
CNFP 16369	A:A	BRS CAMPEIRO / CNFP7994			-
CNFP 16379	A:A	BRS ESPLENDOR / BRS CAMPEIRO		MR	Embrapa
CNFP 16383	A:A	BRS ESPLENDOR / BRS CAMPEIRO		MR	Embrapa
CNFP 16387	A:A	BRS ESPLENDOR / BRS CAMPEIRO			-
CNFP 16402	A:A	BRS ESPLENDOR / TB97-13			-
CNFP 16438	A:A	CNFP7994 / BRS ESPLENDOR			-
CNFP 17435	A:A	LM203200468 / BRS SUPREMO // LM203200468			-
CNFP 17441	A:A	LM203200468 / BRS CAMPEIRO // LM203200468			-
CNFP 7994	A:A	CB911863 / AN9123293			-
G 2333	A:A	-			-
BAT 93	T:T	(G 3709 / G1320) / (G3645 / G5478)		S	Lobaton et al. (2018)
BRS Vereda	T:T	HI822510 / CB733743 // LM30013 / ROSINHA G2		S	Embrapa

R: Resistente ($\leq 3,0$); MR: Moderadamente resistente ($3,0 < MR \leq 6,0$); S: Suscetível (nota $6,1 \leq 9,0$); snpPV0039 (A:A = *QTL**SU91*); *Referência do fenótipo; **Avaliações realizadas na Embrapa Arroz e Feijão; Informação indisponível.

A variedade G 2333 foi originalmente coletada no Sul do México, tem várias características desfavoráveis, como hábito de crescimento IV e sensibilidade ao fotoperíodo.

No entanto, é uma importante fonte de resistência a diferentes raças de *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal da antracnose do feijão-comum (Vieira et al. 2018; Young et al., 1998) e, neste estudo, também apresentou o alelo marcador associado ao *QTL**SU91* para resistência ao CBC, evidenciando um potencial para incorporação em programas de melhoramento para resistência à diferentes patógenos que acometem a cultura do feijão-comum.

Embora não tenhamos disponível os dados de fenotipagem quanto à resistência/suscetibilidade de nove genitores-elite que apresentaram o alelo *SU91*, a genealogia desses materiais indica a presença do haplótipo oriundo de *P. acutifolius* associado à resistência. O genótipo CB 911921 foi selecionado a partir do cruzamento interespecífico entre *P. vulgaris* e *P. acutifolius*, sendo, portanto, doador do alelo *SU91* (Rava et al., 1996). A linhagem CNFP 7994 e a cultivar BRS Esplendor foram obtidas do cruzamento CB 911863 x AN 9123293, em que CB 911863 foi selecionada a partir do mesmo grupo de cruzamentos que a linhagem CB 911921 (Rava et al., 1996). Além disso, a cultivar BRS Esplendor é genitora das linhagens CNFP 16324, CNFP 16387, CNFP 16402 e CNFP 16438, e a linhagem CNFP 16369 derivada de cruzamentos com CNFP 7994 (Tabela 3.2). As linhagens CNFP 10120 e CNFP 10138 são derivadas de cruzamentos com CB911846, e as linhagens CNFP 17435 e CNFP 17441 tem como genitor LM203200468. Todos esses genótipos pertencem à classe de feijão preto e possuem na sua genealogia algum parental portador do alelo *SU91*, oriundo de *P. acutifolius* (Rava et al., 1996).

Além da cultivar BRS Esplendor apresentar o alelo de resistência ao CBC '*QTL**SU91*', essa cultivar tem um grande potencial como genitora para transferência de alelos de resistência a diferentes doenças, pois também apresenta alta resistência à murcha-de-fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*) (Torres et al., 2021; Pereira et al., 2019). Pesquisadores vinculados a Embrapa Arroz e Feijão estão desenvolvendo um trabalho que visa o mapeamento de QTL's de resistência da cultivar BRS Esplendor à murcha-de-fusarium, que facilitará ainda mais a seleção de genótipos com múltiplos alelos de resistência a diferentes doenças (Torres, 2021).

A partir dos resultados de genotipagem gerados na empresa Intertek-AgriTech com marcadores KASP (Rasheed et al. 2016), o snpPV0039 apresentou um perfil de polimorfismo adequado à genotipagem, com um bom potencial para seleção de genótipos de feijão-comum contendo o alelo *QTL**SU91* e, portanto, foi submetido à análise de regressão linear simples ($R^2 = 0.94$; $P = 0.01$), que indicou que 94% da variabilidade dos dados é

explicada pelo polimorfismo identificado nas análises com o snpPV0039 (Tabela 3.3). Esse resultado significa que há uma correlação positiva entre os dados de fenotipagem de reação ao CBC e a presença do alelo *QTL_{SU91}* identificado pelo snpPV0039.

Tabela 3.3. Análise de regressão linear simples a partir das informações de amplificação do marcador snpPV0039 (*QTL_{SU91}*) em genótipos de feijão-comum e caracterização fenotípica destes quanto à reação ao cretamento bacteriano comum (CBC).

F.V.	G.L.	SQ	QM	F	p-valor	R ²
A x T ⁽¹⁾	1	19.8	19.8	93.4	< 0,001	0.94
Resíduo	6	1.3	0.2			
Total	7	21.12	20.06			

O alelo em negrito está associados à resistência a CBC; (1) Contraste considerado na análise de regressão entre o alelo *QTL_{SU91}* associado ao marcador snpPV0039 e a severidade da infecção por CBC.

Na etapa de validação do marcador snpPV0039 via genotipagem com sonda *Taqman*[®], das 218 plantas F₂ fenotipadas para reação à *X. phaseoli* pv. *phaseoli*, 159 foram caracterizadas como resistentes e 59 como suscetíveis, revelando ajuste à proporção esperada de 3R₋:1rr ($\chi^2 = 0.49$; p = 0.48). Os dados de genotipagem do marcador snpPV0039 se ajustaram à proporção de 1RR:2Rr:1rr ($\chi^2 = 1.5$; p = 0.47), segregando conforme o esperado para marcadores codominantes (Tabela 3.4 e Figura 3.3).

Tabela 3.4. Segregação genotípica e fenotípica da População F₂ (G1 x CB 911921; *QTL_{SU91}*), avaliado para reação à *X. phaseoli* pv. *phaseoli*, agente causal do cretamento bacteriano comum (CBC).

Genótipo/Fenótipo	Observação	Expectativa	Hipótese	χ^2	p-valor	rf	Distância	ES
A:A	52	45						
T:A	84	90	1:2:1	1.5	0.47	0.100	10 cM	96%
T:T	47	45						
Classificação								
Resistente (0-3)	159	163	3:1	0.49	0.48	-	-	-
Suscetível (4-6)	59	55						

O alelo em negrito está associado à resistência ao CBC; χ^2 : qui-quadrado; rf: fração de recombinação; ES: eficiência de seleção; p-valor: associado a hipótese nula não rejeitada (1:2:1 para os dados do marcador snpPV0039 e 3:1 para os dados de reação ao CBC).

O gráfico de *boxplot* (Figura 3.4) ilustra a redução na média fenotípica das plantas da população F₂ (Genitor 1/ CB911921) portadoras do alelo de resistência (“A”) em homozigose associado ao *QTL_{SU91}*, quando comparado as médias fenotípicas dos genótipos heterozigotos “TA” e homozigotos para o alelo “T” que indica suscetibilidade ao CBC.

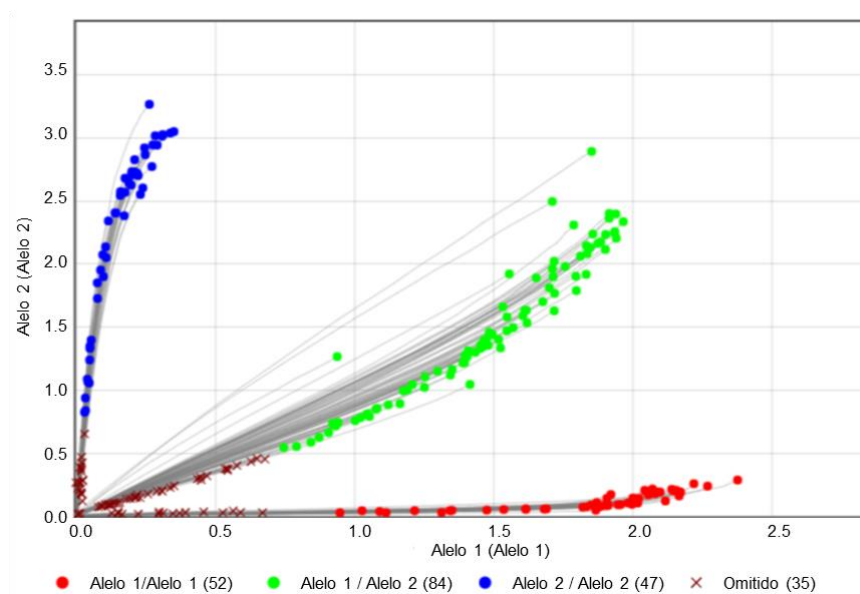


Figura 3.3. Análise dos alelos (Alelo 1 e Alelo 2) em 218 plantas da população F_2 (Genitor 1 x CB 911921) utilizando o programa *Genotyping Analysis Module, V.3.7*, com base no padrão de genotipagem gerado no QuantStudio 7 Flex (Applied Biosystems). O alelo 1 representa a presença do nucleotídeo ‘T’, indicando susceptibilidade ao CBC e o alelo 2 indica a presença do nucleotídeo ‘A’ e, conseqüentemente, a identificação do alelo dominante de resistência ‘*QTL_{SU91}*’. Foram observadas 52 plantas homocigotas para o alelo 1, 84 plantas heterocigotas, 47 plantas homocigotas para o alelo 2 e em 35 plantas não houve a amplificação da sonda.

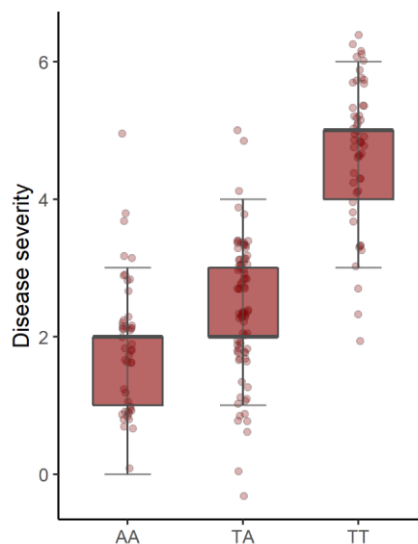


Figura 3.4. Diferença na média fenotípica para reação ao Crestamento Bacteriano Comum (CBC) em relação ao polimorfismo apresentado pelo marcador *snpPV0039 (A/T)*. O teste não-paramétrico de Wilcoxon (1945) foi realizado considerando as plantas da população F_2 (Genitor 1/ CB 911921). A presença do nucleotídeo ‘A’ indica a presença do alelo *SU91* de resistência ao CBC, enquanto o nucleotídeo ‘T’ indica suscetibilidade ao CBC. As notas de severidade a doença obedecem a uma escala de 0 a 6, conforme Rava (1984).

Quanto à análise de ligação gênica, o marcador snpPV0039 utilizado na genotipagem da população F₂ (Genitor 1 x CB 911921) está ligado ao alelo *QTL_{SU91}*, com fração de recombinação de aproximadamente 0.1 (10 cM) (Figura 3.5). O marcador snpPV0039 apresentou eficiência de seleção da ordem de 96%, para as em 218 plantas da população F₂ (Genitor 1 x CB 911921), evidenciando a importância da utilização de marcadores moleculares em forte desequilíbrio de ligação com o alelo *QTL_{SU91}* de resistência à CBC presente em CB 911921.

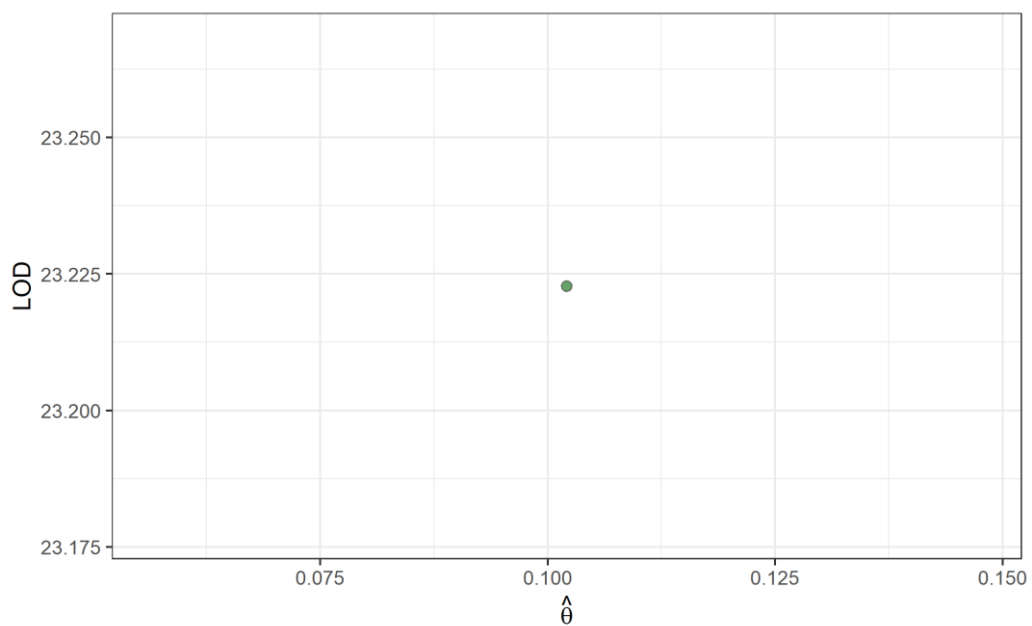


Figura 3.5. Análise de ligação entre o marcador snpPV0039 e o loco *QTL_{SU91}* de resistência ao crestamento bacteriano comum (CBC), realizada utilizando o pacote OneMap do software R (Margarido et al., 2007), indicando fração de recombinação ($\hat{\theta}$) de aproximadamente 0,1 (10 cM).

O nível intermediário de resistência ao CBC no *pool* gênico Andino e Mesoamericano do feijão-comum, ou a não identificação de resistência efetiva, foi determinante para que houvesse a busca por fontes de resistência em *pools* gênicos secundários e terciários de *Phaseolus* (Lobaton et al., 2018; Singh & Miklas, 2015). Estes *pools* gênicos acomodam espécies silvestres de feijão que, normalmente, apresentam algum nível de incompatibilidade com *P. vulgaris*, o que dificulta, mas não impossibilita, o processo de hibridação artificial para introgressão de alelos-alvo no germoplasma elite dos programas de melhoramento (Singh, 2001).

A espécie *P. acutifolius*, para a qual foi identificado o *QTL**SU91*, apresenta alto nível de resistência ao CBC tanto na parte aérea quanto nas vagens (Singh & Miklas, 2015; Perry et al., 2013). O marcador *snpPV0039*, posicionado no cromossomo 8 (59475020pb) e explicando 0,62 (P=0,01) da proporção fenotípica da resistência, foi identificado em linhagens do *pool* gênico mesoamericano (VAX 3, 4, 5 e 6) (Lobaton et al., 2018), que possuem o haplótipo oriundo de *P. acutifolius*, que confere a resistência ao CBC (Perry et al., 2013).

De forma complementar, a anotação gênica revelou que o *snpPV0039* (*QTL**SU91*) está posicionado dentro do transcrito Phvul.008G292200.1 (posição 62951940pb) que codifica para a proteína *Glutamate Receptor 3.1-Related* (*GLR3.1*), com alta expressão em folhas e trifólios jovens. A *GLR3.1* está relacionada com o fluxo de cálcio através da membrana plasmática, atuando na ativação de sinais relacionados a defesa (Forde & Roberts, 2014), como por exemplo, na resistência contra *Hyaloperonospora arabidopsidis* em *Arabidopsis thaliana* (Manzoor et al., 2013).

A possibilidade de monitorar, via marcadores moleculares, a introgressão do alelo de resistência *SU91*, derivado de *P. acutifolius* em linhagens-elite desenvolvidas por programas de melhoramento de feijão-comum, sobretudo para classes comerciais diferentes de preto, como a carioca por exemplo, é de extrema relevância para obter melhores níveis de resistência à CBC (Singh & Miklas, 2015). A exemplo do “Programa de Seleção Recorrente para resistência à CBC” desenvolvido pela Embrapa Arroz e Feijão (Melo et al., 2019), em que a sonda *TaqMan*[®]- *snpPV0039* poderá auxiliar ao longo dos ciclos, na seleção de plantas com a presença do alelo *QTL**SU91*, e na fixação desse alelo de na população.

O desenvolvimento da sonda *TaqMan*[®]- *snpPV0039* permitiu identificar a presença do alelo *QTL**SU91* com uma boa eficiência e vai ajudar na introgressão deste loco de resistência em projetos futuros com foco no desenvolvimentos de variedades com resistência ao CBC. Esses dados corroboram com a identificação desse mesmo alelo nas linhagens VAX 4, VAX 5 e VAX 6 por Lobaton et al. (2018).

Esse marcador apresenta um grande potencial de aplicação na SAM, podendo aumentar a eficiência das etapas do melhoramento de feijão-comum, e reduzir o tempo e os custos da genotipagem. Além disso, esse marcador pode ser incorporado a outro sistema de genotipagem multiplex, que possibilitam a análise de vários locos associados a caracteres agrônômicos de interesse em uma única análise, aumentando a eficiência na seleção de

plantas portadoras de alelos-específicos. Trata-se de uma ferramenta eficaz para a seleção de plantas em programas de melhoramento de feijão-comum.

3.5. CONCLUSÕES

O marcador snpPV0039, diretamente associado ao alelo *QTL_{SU91}* de resistência ao CBC apresentou potencial para uso rotineiro no SAM da Embrapa Arroz e Feijão, sendo indicado para monitorar a presença do alelo alvo em cruzamentos envolvendo linhagens parentais bem caracterizadas, como CB 911921 (*QTL_{SU91}*).

O marcador *Taqman*[®]-snpPV0039 desenvolvido nesse estudo permitiu à amplificação específica do alelo alvo e, portanto, é indicado para aplicação da SAM. Ademais, apresentou uma eficiência de seleção de 96% para o alelo *QTL_{SU91}* e pode ser usado na identificação de genótipos superiores em programas de melhoramento de feijão-comum.

3.6. REFERÊNCIAS

Akhavan, A., Bahar, M., Askarian, H., Lak, M.R., Nazemi, A., Zamani, Z. Bean common bacterial blight: pathogen epiphytic life and effect of irrigation practices. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2013. doi:10.1186/2193-1801-2-41

Brondani, R.P.V., Brondani, C., Tarchini, R., Grattapaglia, D. Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, n. 5-6, p. 816-827, 1998. doi: 10.1007/s001220050961

Bohar, R., Chitkineni, A., Varshney, R.K. Genetic molecular markers to accelerate genetic gains in crops. **Bio Techniques**, v. 69, p.159-160, 2020. doi: 10.2144/btn-2020-0066

Costa, J.G.C., Wendland, A., Puríssimo, J. D. Obtenção de famílias com resistência conjunta ao cretamento bacteriano comum e à murcha-de-curtobacterium. In: **Embrapa Arroz e Feijão-Artigo em anais de congresso**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, Guarapari. O melhoramento e os novos cenários da agricultura: anais. Vitória: Incaper, 2009.

Forde, B.G., Roberts, M.R. Glutamate receptor-like channels in plants: a role as amino acid sensors in plant defence?. **F1000prime reports**, v. 6, 2014. doi: 10.12703/p6-37

Gomes-Messias, L.M., Vianello, R.P., Monteiro-Júnior, J.P., Rodrigues, L.A., Mota, A.P.S., Pereira, H.S., Melo, L.C., Raatz, B., Souza, T.L.P.O. Molecular characterization of parental lines and validation of SNP markers for anthracnose and angular leaf spot in common bean. **Euphytica**, v. 218, n. 5, p. 1-14, 2022. doi: 10.1007/s10681-022-03002-2

- Kelly, J.D., Gepts, P., Miklas, P.N., Coyne, D.P. Tagging and mapping of genes and QTL and molecular marker-assisted selection for traits of economic importance in bean and cowpea. **Field Crops Research**, v. 82, n. 2-3, p. 135-154, 2003. doi: 10.1016/S0378-4290(03)00034-0
- Lobaton, J.D., Miller, T., Gil, J., Ariza, D., de la Hoz, J.F., Soler, A., Beebe, S., Duitama, J., Gepts, P., Raatz, B. Resequencing of common bean identifies regions of inter-gene pool introgression and provides comprehensive resources for molecular breeding. **The plant genome**, v. 11, n. 2, p. 170068, 2018. doi: 10.3835/plantgenome2017.08.0068
- Lema, M., Demissie, H., Rezene, Y. Marker assisted gene introgression in to common bean (*Phaseolus vulgaris* L) against angular leaf spot (*Pseudosercospora griseola*) and anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). **Journal of Agricultural Science and Practice**, v. 6, p. 118-129, 2021. doi: 10.31248/JASP2021.277
- Liu, B.H. **Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis**. CRC press, p. 648 1998. doi: 10.1201/9780203738658
- Manzoor, H., Kelloniemi, J., Chiltz, A., Wendehenne, D., Pugin, A., Poinssot, B., Garcia-Brugger, A. Involvement of the glutamate receptor At GLR 3.3 in plant defense signaling and resistance to *Hyaloperonospora arabidopsidis*. **The Plant Journal**, v. 76, n. 3, p. 466-480, 2013. doi: 10.1111/tpj.12311
- Margarido, G.R., Souza, A.P., Garcia, A.A. OneMap: software for genetic mapping in outcrossing species. **Hereditas**, v. 144, n. 3, p. 78-79, 2007. doi: 10.1111/j.2007.0018-0661.02000.x
- Maringoni, A.C., Lauretti, R.L.B. Reação de genótipos de feijoeiro comum a *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli, *Macrophomina phaseolina* e *Xanthomonas campestris* pv. phaseoli. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 34, n. 4, p. 535-542, 1999. doi: 10.1590/s0100-204x1999000400004
- Melo, L.C., Silva, A.C.F., Pereira, H.S., Melo, P.G.S., Souza, T.L.P.O. Genetic diversity as an additional selection criterion in a carioca common bean recurrent selection program for resistance to common bacterial blight. **Genetics and Molecular Research**, v. 18, n. 4, 2019. doi: 10.4238/gmr18368
- Morais, S.R.P., Vieira, A.F., Almeida, L.C.D.S., Rodrigues, L.A., Melo, P.G.S., Faria, L. C., Melo, L.C., Pereira, H.S., Souza, T.L.P.O. Application of microsatellite markers to confirm controlled crosses and assess genetic identity in common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, n. 3, p. 234-239, 2016. doi: 10.1590/1984-70332016v16n3n35
- Paiva, B.A.R., Wendland, A., Rossato, M., Velloso Ferreira, M.A.D.S. Virulence and type III effector diversities of *Xanthomonas citri* pv. fuscans and *X. phaseoli* pv. phaseoli in Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 170, n. 1, p. 1-14, 2022. doi: 10.1111/jph.13049
- Pereira, H.S., Mota, A.P.S.; Rodrigues, L.A.; Souza, T.L.P.O.; Melo, L.C. Genetic diversity among common bean cultivars based on agronomic traits and molecular markers and application to recommendation of parent lines. **Euphytica**, v.215, art.38, 2019. doi: 10.1007/s10681-018-2324-y
- Perry, G.E., DiNatale, C., Xie, W., Shi, C., Navabi, A., Reinprecht, Y., Crosby W., Yu, K., Shi, C., Pauls, K.P.A comparison of the molecular organization of genomic regions

associated with resistance to common bacterial blight in two *Phaseolus vulgaris* genotypes. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 318, 2013. doi: 10.3389/fpls.2013.00318

Rava, C.A. Patogenicidade de isolamentos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 4, p. 445-448, 1984.

Rava, C.A., Costa, J.G.C., Sartorato, A., Zimmermann, M. J. de O. Obtenção de linhagens de feijoeiro resistentes ao cretamento bacteriano comum originadas do cruzamento entre *Phaseolus vulgaris* e *P. acutifolius*. **Summa Phytopatologica**, v. 22, p. 33-36, 1996.

Rasheed, A., Wen, W., Gao, F.M., Zhai, S., Jin, H., Liu, J.D., Qi Guo, Zhang, Y., Dreisigacker, S., Xianchun X., Zhonghu, H. Development and validation of KASP assays for functional genes underpinning key economic traits in wheat. **Theor Appl Genet**, v. 129, p. 1843-1860, 2016. doi: 10.1007/s00122-016-2743-x

Sherasia, P.L., Garg, M.R., Bhandari, B.M. **Pulses and their by-products as animal feed**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). p. 9-14, 2017. ISBN: 978-92-5-109915-5.

Silva, O.F., Wander, A.E. O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro. **Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás (Documentos: 287)**, 2013. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/961699/1/seriedocumentos287.pdf>> Acesso em 02/03/2021. ISSN: 1678-9644

Schaad, N.W., Postnikova, E., Lacy, G., Sechler, A., Agarkova, I.V., Stromberg, P.E., Stromberg, V.K., Vidaver, A.M. Emended classification of xanthomonad pathogens on citrus. **Papers in Plant Pathology**, p. 96, 2006. doi: 10.1016/j.syapm.2006.08.001

Singh, S.P. Broadening the genetic base of common bean cultivars: a review. **Crop Science**, v. 41, n. 6, p. 1659-1675, 2001. doi: 10.2135/cropsci2001.1659

Singh, S.P., Schwartz, H.F. Breeding common bean for resistance to diseases: a review. **Crop Science**, v. 50, n. 6, p. 2199-2223, 2010. doi: 10.2135/cropsci2009.03.0163

Singh, S.P., Miklas, P.N. Breeding common bean for resistance to common blight: A review. **Crop Science**, v. 55, n. 3, p. 971-984, 2015. doi: 10.2135/cropsci2014.07.0502

Torres, M.H.R.M.; Souza, T.L.P.O.; Melo, L.C.; Pereira, H.S. Combining ability for resistance to Fusarium wilt and yield in black bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.56, e02591, 2021. doi:10.1590/S1678-3921.pab2021.v56.02591.

Tryphone, G.M., Chilagane, L.A., Protas, D., Kusolwa, P.M., Nchimbi-Msolla, S. Introgression of common bacterial blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) resistance to common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) adapted to Tanzania facilitated by marker assisted selection. **Int. J. Agric. Sci**, v. 2, p. 285-290, 2012.

Wilcoxon, F. Individual comparisons by ranking methods. **Breakthroughs in Statistics**, p. 196-202, 1945. doi: 10.2307/3002011

Wu, J., Zhu, J., Wang, L., Wang, S. Genome-wide association study identifies NBS-LRR-encoding genes related with anthracnose and common bacterial blight in the common bean. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1398, 2017. doi: 10.3389/fpls.2017.01398

Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K., Swings, J. Reclassification of xanthomonas. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 472-489, 1995. doi: 10.1099/00207713-45-3-472

Vieira, A.F., Almeida, L.C.S., Rodrigues, L. A., Costa, J.G.C., Melo, L.C., Pereira, H.S., Sanglard D.A., Souza, T.L.P.O. Selection of resistance sources to common bean anthracnose by field phenotyping and DNA marker-assisted screening. **Genetics and Molecular Research**, v.17, n.3, gmr18066, 2018. doi: 10.4238/gmr18066

Viteri, D.M., Cregan, P.B., Trapp, J. J., Miklas, P. N., Singh, S. P. A new common bacterial blight resistance QTL in VAX 1 common bean and interaction of the new QTL, SAP6, and SU91 with bacterial strains. **Crop Science**, v. 54, n. 4, p. 1598-1608, 2014. doi: 10.2135/cropsci2014.01.0008

Yang, Z.B., Eticha, D., Rotter, B., Rao, I.M., Horst, W.J. Physiological and molecular analysis of polyethylene glycol-induced reduction of aluminium accumulation in the root tips of common bean (*Phaseolus vulgaris*). **New Phytologist**, v. 192, n. 1, p. 99-113, 2011. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03784.x

Young, R., Meloto, M., Nodari, R.O., Kelly, J.D. Marker-assisted dissection of the oligogenic anthracnose resistance in the common bean cultivar, 'G2333'. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 96, p. 87-94, 1998. doi: 10.1007/s001220050713

Apêndice A. Genitores de feijão-comum (376 genótipos) caracterizados com o marcador molecular *snpPV0039* associado ao alelo *QTL_{SU91}* de resistência cretamento bacteriano comum.

Genótipo	Classificação	Instituição	Pool gênico	Grão	Reação à CBC
AB 136	C	CIAT	M	Vermelho	-
Amendoim	?	CIAT	A	Vermelho	-
AND 277	L	CIAT	A	Manteigão	-
ANFC9	C	AgroNorte	M	Carioca	-
Aporé	C	EMBRAPA	M	Carioca	MR
BAT 332	C	CIAT	M	?	-
BAT 93		CIAT	M	?	-
BGF 19461		EMBRAPA	M	Carioca	-
BRS Agreste	C	EMBRAPA	M	Mulatinho	-
BRS Ametista- 1	C	EMBRAPA	M	Carioca	-
BRS Ametista- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
BRS Ártico)	C	EMBRAPA	A	Branco	S
BRS Campeiro	C	EMBRAPA	M	Preto	R [2.7]
BRS Cometa	C	EMBRAPA	M	Carioca	MR [5.4]
BRS Embaixador	C	EMBRAPA	A	Dark Red Kidney	S
BRS Esplendor	C	EMBRAPA	M	Preto	MR [3.4]
BRS Esteio	C	EMBRAPA	M	Preto	-
BRS Estilo	C	EMBRAPA	M	Carioca	MR [4.6]
BRS Executivo	C	EMBRAPA	A	Cranberry	MR [4.0]
BRS EXPEDITO	C	EMBRAPA	M	Preto	-
BRS FC 104	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
BRS FC 416	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
BRS FC104	C	EMBRAPA	M	Carioca	-
BRS FC402	C	EMBRAPA	M	Carioca	-
BRS FC406	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
BRS FC415	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
BRS FP403	C	EMBRAPA	M	Preto	-
BRS FS305 (CAL 96)	C	EMBRAPA	A	Calima	-
BRS Horizonte	C	EMBRAPA	M	Carioca	S [6.0]
BRS Madrepérola	C	EMBRAPA	M	Carioca	-
BRS Marfim	C	EMBRAPA	M	Mulatinho	-
BRS Notável	C	EMBRAPA	M	Carioca	R [2.3]
BRS Pérola	C	EMBRAPA	M	Carioca	MR [3.1]
BRS Pitanga	C	EMBRAPA	A	Roxo	-
BRS Pontal	C	EMBRAPA	M	Carioca	MR [4.3]
BRS Preto Uberabinha	C	EMBRAPA	M	Preto	-
BRS Radiante	C	EMBRAPA	A	Rajado	MR [5.0]
BRS Requite	C	EMBRAPA	M	Carioca	S
BRS Sublime	C	EMBRAPA	M	Carioca	MR [5.0]
BRS Supremo	C	EMBRAPA	M	Preto	MR [5.5]
BRS Vereda	C	EMBRAPA	M	Rosinha	S
BRS Xamego	C	EMBRAPA	M	Preto	S [6.2]
BRSMG Realce	C	EMBRAPA	A	Rajado	-
BRSMG Uai	C	EMBRAPA	M	Carioca	-
BRSMG União	C	EMBRAPA	A	Jalo	-
BRSMG Utopia	C	EMBRAPA	M	Carioca	-
CAL 143	L	CIAT	A	Calima	-

CB 911921	L	EMBRAPA	M	Preto	R [2.5]
CNFC 10429	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
CNFC 10431	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 10432	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 10467	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 10729	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 10762	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 11948	L	EMBRAPA	M	Carioca	MR [3.2]
CNFC 11954	L	EMBRAPA	M	Carioca	MR [3.1]
CNFC 11962	L	EMBRAPA	M	Carioca	R [2.4]
CNFC 15010	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15018	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15023 (COSRC93.1- -1)	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15038	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15049	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15086	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15458	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15475	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15502	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
CNFC 15507 (4667)	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
CNFC 15513	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15540 (422*)	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15621 (5076)	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15705 (5039)	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15708	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15713	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
CNFC 15713 (5039)	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15714	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15723	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15732	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15743	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15801 - 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15801 - 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15805	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15820	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15826- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 15826- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 15850- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15850- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15853	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15854	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15856	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15859- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15859- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15860	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15860 (4992)	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15865	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15875- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15875- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15883	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 15955 (4820)	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16066	L	EMBRAPA	M	Carioca	-

CNFC 16120	L	EMBRAPA	M	Carioca	R [1.0]
CNFC 16183	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16188	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16242	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
CNFC 16256	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16257	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16269	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16468	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16484	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16495	L	EMBRAPA	M	Carioca	R/S
CNFC 16496- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16496- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16497	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16516	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16522	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 16536	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16537	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16548	L	EMBRAPA	M	Carioca	R/S
CNFC 16558	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
CNFC 16561- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16561- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16562	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16563	L	EMBRAPA	M	Carioca	R/S
CNFC 16566	L	EMBRAPA	M	Carioca	R/S
CNFC 16567- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
CNFC 16567- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
CNFC 16576 (5748)	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16579 (5748)	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16593 (5773)	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16611	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16628	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16636- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16636- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 16641	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16647	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16665	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16709- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16709- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16729- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16729- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16820	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16831	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16832	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16846- 1	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16846- 2	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16871	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16876	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16902	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 16926	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16939	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 16942	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17116	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17142	L	EMBRAPA	M	Carioca	-

CNFC 17153	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17172	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17260	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 17270	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
CNFC 17273	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17275	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17304	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 17305	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 17309	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 17310	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 17324	L	EMBRAPA	M	Carioca	R
CNFC 17352	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17379	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17395	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17405	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17411	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17428	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17567	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17577	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17578	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17588	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17591	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17613	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17620	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17670	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17695	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 17712	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 18356	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 18360	L	EMBRAPA	M	Carioca	S
CNFC 19198	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 19574	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 19590	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 5545	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 5547	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 5552	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 5558	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 6548	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 6772	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 6773	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 6777	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 6778	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 6783	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 7079	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 7091	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 7093	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 7098	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 7461	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 7464	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 7569	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 7818	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 7827	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 9500	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFC 9518	L	EMBRAPA	M	Carioca	-

CNFC10794	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
CNFP 10093	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 10120	L	EMBRAPA	M	Preto	R [3.0]
CNFP 10138	L	EMBRAPA	M	Preto	R (3.0)
CNFP 10794	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 10798	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 11979	L	EMBRAPA	M	Preto	MR [4.8]
CNFP 11984	L	EMBRAPA	M	Preto	MR [4.2]
CNFP 11995	L	EMBRAPA	M	Preto	R [2.5]
CNFP 15171 (3814)	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15188	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15193	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15207	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15208	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15289	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15290	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15304	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15310	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15359	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15361	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15388	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15658	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15662	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15665	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15670 (4953)	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15676	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15678	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15681	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15684- 1	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15684- 2	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15685- 1	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15685- 2	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15695- 1	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15695- 2	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15697	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15697 (4957)	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 15701	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16324	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16324 (5645)	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16326	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16328	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16329	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16332	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16333	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16335	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16337- 1	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16337- 2	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16369	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16379	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16380	L	EMBRAPA	M	Preto	R
CNFP 16383	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16384	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16387- 1	L	EMBRAPA	M	Preto	-

CNFP 16387- 2	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16402	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16404	L	EMBRAPA	M	Preto	R [3.0]
CNFP 16415	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16416- 1	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16416- 2	L	EMBRAPA	M	Preto	S
CNFP 16422- 1	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16422- 2	L	EMBRAPA	M	Preto	R
CNFP 16423 (5719)	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16425	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16438	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16438 (5702)	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16459- 1	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16459- 2	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 16955	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17126	L	EMBRAPA	M	Preto	MR [4.9]
CNFP 17135	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17435	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17441	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17456- 1	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17456- 2	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17457	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17459	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17486	L	EMBRAPA	M	Preto	R
CNFP 17488	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17489-1	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17489-2	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17494- 1	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17494-2	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17499	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17624	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 17639	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 4582	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 4708	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 4778	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 4794	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 5417	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 5482	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 5488	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 5491	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 5494	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 5923	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 5929	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 6864	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 6867	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 7024	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 7086	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 7090	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 7143	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 7151	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 7359	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 7773	L	EMBRAPA	M	Preto	-
CNFP 7994	L	EMBRAPA	M	Preto	-

CNFP 8096	L	EMBRAPA	M	Preto	-
Corinthiano	C	UEM	A	Preto e Branco	-
Cornell 49-242	C	CIAT	M	Preto	-
Crioulo 159	C	UEM	M	Preto	-
DM 103	?	UFV	M	Carioca	-
DM 108	?	UFV	M	Carioca	-
Don Timoteo	C	CIAT	A	?	-
Flor de mayo	C	CIAT	M	?	-
G 2333	C	CIAT	M	Roxo	-
G 2858	C	CIAT	M	?	-
G 5686		CIAT	A	?	-
Gol - 87	?	?	M	Carioca	-
HI		CIAT	M	?	-
IAC Akytã	C	IAC	M	Carioca	-
IAC Alvorada	C	IAC	M	Carioca	MR [5.1]
IAC Curió	C	IAC	M	Carioca	-
IAC Diplomata	C	IAC	M	Preto	S [6.8]
IAC Formoso	C	IAC	M	Carioca	-
IAC Imperador	C	IAC	M	Carioca	-
IAC Milênio	C	IAC	M	Carioca	-
IAPAR 81	C	IAPAR	M	Carioca	MR [5.1]
IPA 09	C	IPA	M	Mulatinho	-
IPR 139	C	IAPAR	M	Carioca	-
IPR Andorinha	C	IAPAR	M	Carioca	MR
IPR Bem-te-vi	C	IAPAR	M	Carioca	S
IPR Campos Gerais	C	IAPAR	M	Carioca	-
IPR Eldorado	C	IAPAR	M	Carioca	S
IPR Garça	C	IAPAR	A	Branco	S
IPR Juriti	C	IAPAR	M	Carioca	R [2.7]
IPR Quero Quero	C	IAPAR	M	Carioca	-
IPR Tangará	C	IAPAR	M	Carioca	MR [3.6]
IPR Tuiuiu	C	IAPAR	M	Preto	-
IPR Uirapuru	C	IAPAR	M	Preto	MR [3.3]
Jalo Listras Pretas	C	UEM	A	Jalo	-
Jalo Precoce	C	EMBRAPA	A	Manteigão	MR [5.0]
K-10	L	?	M	Carioca	-
K-13	L	?	M	Carioca	-
Kaboon	?	CIAT	A	Branco	-
MAIII 16.159	L	UFLA	M	?	-
Mexico 222		CIAT	M	Branco	-
Mexico 54		CIAT	M	?	-
Michelite		CIAT	M	Branco	-
Michigan Dark Red Kidney	C	CIAT	A	Vermelho	-
Ouro Negro	C	UFV	M	Preto	-
Ouro Vermelho	C	UFV	M	Vermelho	-
PAN 72		CIAT	M	?	-
Perry Marrow		CIAT	A	Branco	-
PI 207262		CIAT	M	?	-
PROG. REALCE	L	EMBRAPA	M	Carioca	-
PT 65		UFLA	M	Mulatinho	-
Rudá = A-195	C	EMBRAPA	M	Carioca	-
SCC Predileto	C	EPAGRI	M	Preto	-

SEL1308		CIAT	M	?	-
SEL1360		CIAT	M	?	-
TAA Bola Cheia	C	TAA	M	Carioca	-
TAA Dama	C	TAA	M	Carioca	-
TAA Gol	C	TAA	M	Carioca	-
TL 006	L	UFV	M	Carioca	-
TL 032	L	UFV	M	Carioca	-
TO		CIAT	M	Carioca	-
TU		CIAT	M	Preto	-
US Pinto 111		?	M	Pinto beans	-
VC-17	L	UFV	M	Carioca	-
Widusa		CIAT	A	Branco	-

C: Cultivar; L: Linhagem; CIAT: International Center for Tropical Agriculture; EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; EPAGRI: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina; IAC: Instituto Agronômico de Campinas; IAPAR: Instituto Agronômico do Paraná; IPA: Instituto Agronômico de Pernambuco; TAA: Terra Alta; UEM: Universidade Estadual de Maringá; UFLA: Universidade Federal de Lavras; UFV: Universidade Federal de Viçosa; M: Mesoamericano; A: Andino; CBC: crestamento bacteriano comum R: Resistente [nota 1 – 3]; MR: Moderadamente resistente [nota 3,1 – 6]; S: Suscetível [nota 6,1 – 9]; - Informação indisponível.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- i) Foram obtidas progênies RC₃F_{2:3} de feijão-comum tipo carioca quase-isogênicas à cultivar BRS Estilo, contendo individualmente os alelos de resistência à Psp em homozigose, *Pse-2* e *Pse-6*, que conferem, resistência a sete (2, 3, 4, 5, 7, 8 e 9) e quatro (1, 5, 7 e 9) raças de Psp, respectivamente.
- ii) A seleção assistida com os marcadores moleculares SAE 15 e SB 10 permitiu a seleção de progênies contendo os alelos de resistência à Psp, *Pse-2* e *Pse-6*, no Brasil, onde o CBA é considerada uma doença emergente e não é possível a realização da inoculação do patógeno, permitindo o avanço do Programa de Melhoramento Genético Preventivo.
- iii) Foi detectada a presença do *QTLSU91* de resistência ao CBC, a partir da genotipagem com o snpPV0039, em 15 genitores-elite do Programa de Melhoramento de Feijão da Embrapa Arroz e Feijão, sendo 14 linhagens e a cultivar BRS Esplendor.
- iv) O polimorfismo detectado pelo marcador *Taqman*[®]-snpPV0039, associado ao *QTLSU91*, co-segrega com a região genômica que confere resistência ao CBC.
- v) Há uma correlação positiva entre os dados de fenotipagem de reação ao CBC e a presença do alelo *QTLSU91* identificado pelo marcador *Taqman*[®]-snpPV0039, com eficiência de seleção de 96%, evidenciando a importância da utilização de marcadores moleculares em forte desequilíbrio de ligação com o alelo *QTLSU91* de resistência à CBC presente em CB911921.
- vi) O marcador *Taqman*[®]-snpPV0039 será integrado à atividade de seleção assistida por marcadores moleculares junto ao programa de melhoramento genético de feijão-comum da Embrapa Arroz e Feijão.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARILI, L. D.; VALE, N. M.; MOURA, L. M.; PAULA, R. G.; SILVA, F. F.; CARNEIRO, J. E. S. Genetic progress resulting from forty-three years of breeding of the carioca common bean in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 3, p.1-11, 2016. doi: 10.4238/gmr.15038523

BRÜCHER, H. The wild ancestor of *Phaseolus vulgaris* in South America. In: **Genetic resources of Phaseolus beans**. Springer, Dordrecht, p. 185-214, 1988. doi: 10.1007/978-94-009-2786-5_10

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Conab). **Observatório agrícola: acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 5, n. 5, safra 2017/2018, Quinto levantamento. CONAB: Brasília, p. 22-34, 2018.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Dados conjunturais da produção de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) no Brasil (1985 a 2020): área, produção e rendimento**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2021. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>>. Acesso em: 19/12/2021.

EMBRAPA. 2016. **Melhoramento Preventivo: o Brasil no rumo da pré-competitividade agrícola**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/tema-melhoramento-preventivo/sobre-o-tema>> Acesso em: 08/01/2022.

EMBRAPA. 2021. **Catálogo de cultivares de feijão - comum**. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/226415/1/catalogo-feijao-2021-2.pdf>> Acesso em: 19/12/2021.

FARIA, L. C.; MELO, P. G. S.; PEREIRA, H. S.; WENDLAND, A.; BORGES, S. F.; PEREIRA FILHO, I. A.; DIAZ, J. L. C.; CALGARO, M.; MELO, L. C. Genetic progress during 22 years of black bean improvement. **Euphytica**, v. 199, n. 3, p. 261-272, 2014. doi: 10.1007/s10681-014-1135-z

FOURIE, D. Distribution and severity of bacterial disease of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) in South Africa. **Journal of Plant Phytopathology**, v. 150, p. 220-226, 2002. doi: 10.1046/j.1439-0434.2002.00745.x

GEPTS, P. The use of molecular and biochemical markers in crop evolution studies. In: **Evolutionary biology**. Springer, Boston, MA, p. 51-94, 1993. doi: 10.1007/978-1-4615-2878-4_3

GEPTS, P. Origin and evolution of common bean: past events and recent trends. **HortScience**, v. 33, p. 1124-1130, 1998. doi: 10.21273/HORTSCI.33.7.1124

HUNTER, P. J.; TAYLOR, J. D. Patterns of interaction between isolates of three pathovars of *Pseudomonas syringae* and accessions of a range of host and nonhost legume

species. **Plant pathology**, v. 55, n. 1, p. 46-53, 2006. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01314.x>

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC). 2021. **Cultivares IAC**. Disponível em: <https://www.iac.sp.gov.br/cultivares/inicio/resultados.php> Acesso em: 19/12/2021.

IDR-PARANÁ. 2021. **Cultivares IPR**. Disponível em: <https://www.idrparana.pr.gov.br/Cultivares-IPR> Acesso em: 19/12/2021.

LOBATON, J. D.; MILLER, T.; GIL, J.; ARIZA, D.; DE LA HOZ, J. F.; SOLER, A.; BEEBE, S.; DUITAMA, J.; GEPTS, P.; RAATZ, B. Resequencing of common bean identifies regions of inter-gene pool introgression and provides comprehensive resources for molecular breeding. **The plant genome**, v. 11, n. 2, p. 170068, 2018. doi: 10.3835/plantgenome2017.08.0068

MARQUES, A. S. A.; SAMSON, R. Population dynamics of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* in bean, throughout the epiphytic and pathogenic phases. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 623-630, 2016. doi: 10.1590/S0100-204X2016000500024

MIKLAS P. N.; KELLY J. D.; BEEBE S. E.; BLAIR M. W. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. **Euphytica** 147:105–131, 2009. doi: 10.1007/s10681-006-4600-5

MIKLAS, P. N.; FOURIE, D.; TRAPP, J.; LARSEN, R. C.; CHAVARRO, C.; BLAIR, M. W.; GEPTS, P. Genetic characterization and molecular mapping Pse-2 gene for resistance to halo blight in common bean. **Crop science**, v. 51, n. 6, p. 2439-2448, 2011. doi: 10.2135/cropsci2011.01.0046

MIKLAS, P. N.; FOURIE, D.; TRAPP, J.; DAVIS, J.; MYERS, J. R. New loci including Pse-6 conferring resistance to halo bacterial blight on chromosome Pv04 in common bean. **Crop Science**, v. 54, n. 5, p. 2099-2108, 2014. doi: 10.2135/cropsci2014.03.0213

MONTOYA, C. A.; LALLÈS, J. P.; BEEBE, S.; LETERME, P. Phaseolin diversity as a possible strategy to improve the nutritional value of common beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 443-449, 2010. doi: 10.1016/j.foodres.2009.09.040

MOURA A. D.; BRITO, L. M. Aspectos Socioeconômicos. In: CARNEIRO, J. E.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed). **Feijão do Plantio a Colheita**. Viçosa-MG: UFV, p. 16-36, 2015.

MOYIB, O. K.; ALASHIRI, G. O.; ADEJOYE, O. D. Chemometric dissimilarity in nutritive value of popularly consumed Nigerian brown and white common beans. **Food chemistry**, v. 166, p. 576-584, 2015. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.06.069

PAIVA, B. A. R.; WENDLAND, A.; TEIXEIRA, N. C.; FERREIRA, M. A. Rapid detection of *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* and *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* in common bean by Loop-Mediated Isothermal Amplification. **Plant disease**, v. 104, n. 1, p. 198-203, 2020. doi: 10.1094/PDIS-02-19-0325-RE

PAULA JÚNIOR, T. J.; WENDLAND, A. **Melhoramento genético do feijoeiro-comum e prevenção de doenças**. Viçosa, MG: EPAMIG Zona da Mata, p: 41-53, 2012.

RAVA, C.A.; COSTA, J.G.C.; SARTORATO, A.; ZIMMERMANN, M. J. DE O. Obtenção de linhagens de feijoeiro resistentes ao crestamento bacteriano comum

originadas do cruzamento entre *Phaseolus vulgaris* e *P. acutifolius*. **Summa Phythopatologica**, v. 22, p. 33-36, 1996.

PARADELA FILHO, O.; CARVALHO, A.; POMPEU, A. Ocorrência de *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* (Burk.) Starr Burk, em feijões secos no Estado de São Paulo, 1967. **Bragantia** 26:1-5. doi: 10.1590/S0006-87051967000100034

ROBBS, C. A bacteriose do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Distrito Federal. **Agronomia** 12:445-448.

SALINAS, A.D.; BONET, A.; GEPTS, P. The wild relative of *Phaseolus vulgaris* in Middle America. In: **Genetic resources of Phaseolus beans**. Springer, Dordrecht, p. 163-184, 1988. doi: 10.1007/978-94-009-2786-5_9

SCHAAD, N. W.; POSTNIKOVA, E.; LACY, G.; SECHLER, A.; AGARKOVA, I. V.; STROMBERG, P. E.; STROMBERGB, V. K.; VIDAVER, A. M. Emended classification of xanthomonad pathogens on citrus. **Papers in Plant Pathology**, p. 96, 2006. doi: 10.1016/j.syapm.2006.08.001

SCHMUTZ, J.; MCCLEAN, P. E.; MAMIDI, S.; WU, G. A.; CANNON, S. B.; GRIMWOOD, J.; JENKINS, J.; SHU, S.; SONG, Q.; CHAVARRO, C.; M.; GEFFROY, V.; MOGHADDAM, S. M.; GAO, D.; ABERNATHY, B.; BARRY, K.; BLAIR, M.; BRICK, M. A.; CHOVIATIA, M.; GEPTS, P.; GOODSTEIN, D. M.; GONZALES, M.; HELLSTEN, U.; HYTEN, D. L.; JIA, G.; KELLY, J. D.; KUDRNA, D.; LEE, R.; RICHARD, M. M. S.; MIKLAS, P. N.; OSORNO, J. M.; RODRIGUES, J.; THAREAU V.; URREA C. A.; WANG, M.; YU, Y.; ZHANG, M.; WING, R. A.; CREGAN, P.B.; D. S.; JACKSON, S. A. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature genetics**, v. 46, n. 7, p. 707, 2014. doi: 10.1038/ng.3008

SCHWARTZ, H.F.; STEADMAN, J.R.; HALL, R.; FORSTER, R.L. **Compendium of bean diseases**. APS Press, St. Paul., MN. p. 49-50, 2005. ISBN: 0890543275

SINGH, P. S. Common bean Improvement in the Tropics. **Plant Breeding Review**, v. 10, p.199-269. 1992.

SINGH, S. P.; SCHWARTZ, H. F. Breeding common bean for resistance to diseases: a review. **Crop Science**, v. 50, n. 6, p. 2199-2223, 2010. doi: 10.2135/cropsci2009.03.0163

SINGH, S. P.; MIKLAS, P. N. Breeding common bean for resistance to common blight: A review. **Crop Science**, v. 55, n. 3, p. 971-984, 2015. doi: 10.2135/cropsci2014.07.0502

SUN, S.; ZHI, Y.; ZHU, Z.; JIN, J.; DUAN, C.; WU, X.; XIAOMING, W. An emerging disease caused by *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* threatens mung bean production in China. **Plant disease**, v. 101, n. 1, p. 95-102, 2017. doi: 10.1094/PDIS-04-16-0448-RE

TAYLOR, J. D.; TEVERSON, D. M.; DAVIS, J. H. Sources of resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* races in *Phaseolus vulgaris*. **Plant Pathology**, 45(3), 479-485, 1996. doi: 10.1046/j.1365-3059.1996.d01-148.x

TOCK, A.J.; FOURIE, D.; WALLEY, P. G.; HOLUB, E. B.; SOLER, A.; CICHY, K. A.; PASTOR-CORRALES, M.A.; SONG, Q.; PORCH, T.G; HART, J.P. Vasconcellos, R.C.C., Vicente, J.G., Barker, G.C., Miklas, P. N. Genome-wide linkage and association mapping of halo blight resistance in common bean to race 6 of the globally important bacterial pathogen. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1170, 2017. doi:10.3389/fpls.2017.01170

WANG, J.; SHAO, X.; ZHANG, Y.; ZHU, Y.; YANG, P.; YUAN, J.; WANG, T.; YIN, C.; WANG, W.; CHEN, S.; LIANG, H.; DENG, X. HrpS is a global regulator on type III secretion system (T3SS) and non-T3SS genes in *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 31, n. 12, p. 1232-1243, 2018. doi: 10.1094/MPMI-02-18-0035-R

YORINORI, M. A.; FUNADA, C. K.; RODRIGUES; BIANCHINI, A.; LEITE JR., R.P.; BUENO, B. Ocorrência do crestamento bacteriano aureolado do feijoeiro causado por *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira** 23(Suplemento): 218, 1998.

YU, K.; PARK, S. J.; POYSA, V. Marker-assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: efficacy and economics. **Plant breeding**, v. 119, n. 5, p. 411-415, 2000. doi: 10.1046/j.1439-0523.2000.00514.x