

MAPEAMENTO ASSOCIATIVO QUANTO À REAÇÃO DO
FEIJOEIRO AO CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM POR
MARCADORES SNPs

KARINA KAZUE NAKAMURA FUKUJI

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2024

MAPEAMENTO ASSOCIATIVO QUANTO À REAÇÃO DO
FEIJOEIRO AO CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM POR
MARCADORES SNPs

KARINA KAZUE NAKAMURA FUKUJI

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas”

Orientadora: Prof.^a. Rosana Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2024

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

F961

Fukuji, Karina Kazue Nakamura.

Mapeamento associativo quanto a reação do feijoeiro ao crestamento bacteriano comum por marcadores SNPs / Karina Kazue Nakamura Fukuji. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2024.

114 f. : il.

Bibliografia: 69 - 94.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2024.

Orientadora: Rosana Rodrigues.

1. *Phaseolus vulgaris* L. 2. *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. 3. associação genômica ampla multi-locus. 4. herança de resistência poligênica. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

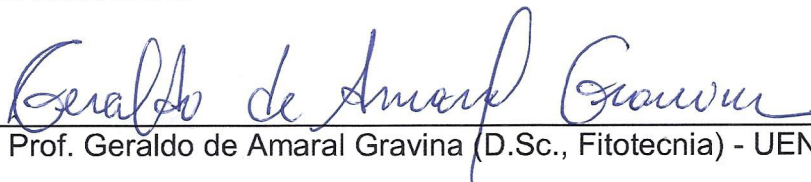
MAPEAMENTO ASSOCIATIVO QUANTO A REAÇÃO DO
FEIJOEIRO AO CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM POR
MARCADORES SNPs

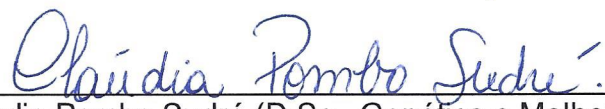
KARINA KAZUE NAKAMURA FUKUJI

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas.”

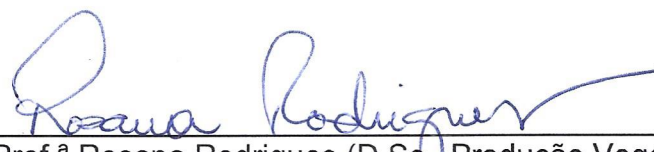
Aprovada em 11 de março de 2024.

Comissão Examinadora:


Prof. Geraldo de Amaral Gravina (D.Sc., Fitotecnia) - UENF


Dr.^a Cláudia Pombo Sudré (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF


Prof.^a Cíntia dos Santos Bento (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UFES


Prof.^a Rosana Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF
(Orientadora)

“Todos precisam ser valorizados. Todos têm o potencial de dar algo em troca”

Diana Frances Spence

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese ao meu marido, Anderson Yusei Suzuki Fukuji, o amor da minha
vida

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF e ao Programa de Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade de aprimorar meus conhecimentos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) –, código de financiamento 001, pela concessão da bolsa de estudos;

À professora Dr.^a Rosana Rodrigues por sua sagacidade e paciência em sua orientação, gostaria de expressar a imensa honra que foi trabalhar, na condução e desenvolvimento de uma pesquisa de tamanha magnitude, apenas palavras galantes não serão o suficiente para expressar o quão agradecida estou, não somente correspondente a carreira acadêmica, mas o quão ser humano me demonstrou ser em momentos difíceis, em momentos de tormenta me foi mostrada outra face, com um toque sereno e carinhoso, o meu eterno agradecimento à senhora;

Ao professor Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves, a sua engenhosidade e ambição me fizeram acreditar nessa pesquisa, por muitas vezes me perdi, mas nunca desisti, pois, nunca quis decepcioná-lo, sempre confiei no senhor, e segui em frente, gosto de pensar no senhor como meu mentor, a sua intelectualidade sempre me inspirou, obrigada por acreditar em mim;

À pesquisadora do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, Dr.^a Vania Moda-Cirino, agradeço a permissão pelo espaço, insumos e o painel de germoplasma para condução experimental dos ensaios;

À pesquisadora da Grupo Don Mario, Ph.D Jessica Delfini, pela realização da genotipagem no laboratório do professor Ph.D Paul Gepts da Universidade da Califórnia, agradeço, pois é graças ao seu empenho e esforço realizados, foi possível o desenvolvimento desta pesquisa;

À professora Dr.^a. Valdirene Moreira Gomes agradeço de coração as palavras gentis de apoio e encorajamento, bem como, seus conselhos para o desenvolvimento desta pesquisa, aprimorei muito o meu conhecimento sobre fitopatologia, graças a sua forma apaixonante de ministrar suas aulas;

Ao professor Dr. Geraldo de Amaral Gravina agradeço o incentivo, ensinamentos e seus conselhos valiosos prestados, a sua experiência com a cultura do feijoeiro foi muito importante para a presente pesquisa;

À professora Dr.^a Cíntia dos Santos Bento agradeço a sua dedicação na correção da minha tese, seu apoio e carinho;

Ao professor Dr. Alexandre Pio Viana agradeço o esforço e ensinamentos ministrando suas aulas sempre com muita destreza, com certeza levarei suas orientações e palavras sábias adiante;

À professora Ph.D Telma Nair Santana Pereira, quero de uma forma imensa, expressar o meu muito obrigada por todo o apoio, pela forma carinhosa e generosa com que sempre me incentivou e ajudou em momentos desafiadores;

À professora Dr.^a Maria Isabel Balbi Peña, sempre serei grata a essa mulher forte e inteligente, pela qual tenho muito respeito, carinho e admiração e fez com que eu me apaixonasse pela fitopatologia;

Ao secretário do PPGMP José Daniel Valle de Almeida agradeço a sua disponibilidade e por me auxiliar no entendimento dos procedimentos burocráticos;

À técnica de laboratório do LMGV da UENF Dr.^a Cláudia Pombo Sudré, sua dedicação e profissionalismo foram fundamentais para o meu desenvolvimento como cientista, você sempre esteve disponível para me ajudar. Seu conhecimento e experiência foram inestimáveis para mim. Sou grata por seu constante apoio e carinho, suas palavras me fizeram ter forças para seguir a jornada acadêmica;

Aos colegas de laboratório da Universidade Estadual de Londrina, quero agradecer-lhes os momentos, por vezes memoráveis que passamos. Agradeço o bom convívio, as boas discussões e a alegria que por vezes se instalava: Alison, Renato, Karoline (*in memoriam*), Douglas e Nicholas;

Agradeço aos funcionários envolvidos na instalação experimental do Instituto de Desenvolvimento Rural de Londrina;

Aos meus colegas de bancada da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, agradeço a amizade e reconhecimento, Elisângela, Thâmara, Rosimara, Cleiton, Sidicleiton, Marlon (*in memoriam*), André e Eduardo;

Agradeço a minha amiga Maria Lúcia Rangel Ferreira por sua imensa demonstração de carinho, amor e apoio incondicional. Nossa amizade é um dos meus maiores tesouros. Sou grata por todas as risadas, as conversas sinceras e os momentos de apoio mútuo que compartilhamos;

Agradeço a minha família, vocês foram a minha base e minha força;

Ao meu marido Anderson Yusei Suzuki Fukuji. Sem o seu apoio, amor e incentivo esta conquista não teria sido possível. Você foi meu companheiro de todas as horas, desde o início da minha graduação até a conclusão da minha tese. Você sempre acreditou em meu potencial. Você me apoiou nos meus estudos, nas minhas pesquisas e nas minhas apresentações. Você também foi meu porto seguro. Você sempre esteve ao meu lado para me ouvir, me aconselhar e me fazer rir. Obrigada por tudo, Anderson. Você é o meu maior presente;

A todos os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
2.1. Objetivo geral.....	5
2.2. Objetivos Específicos.....	5
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. Aspectos gerais da cultura do feijoeiro	6
3.2. Aspectos morfológicos e de cultivo do feijoeiro	7
3.3. Aspectos socioeconômicos do feijoeiro	9
3.4. Importância da diversidade e melhoramento genético da cultura do feijoeiro	11
3.5. Principais ocorrências de doenças na cultura do feijoeiro	12
3.6. Crestamento Bacteriano Comum – <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>	13
3.7. Sintomas do CBC	14
3.8. Etiologia do CBC	15
3.9. Medidas de controle do CBC	16
3.10. Resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	17
3.11. Marcadores moleculares.....	19

3.12. Marcador de polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs - <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>).....	20
3.13. Genotipagem por sequenciamento (<i>Genotyping by Sequencing</i> - GBS)	21
3.14. Estudo de associação genômica ampla (GWAS – <i>Genome wide association study</i>)	22
3.15. Métodos de associação Single-locus e Multi-locus.....	24
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1. Localização, Germoplasma e Delineamento experimental	27
4.2. Preparo do inóculo bacteriano - <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>	32
4.3. Inoculação da suspensão bacteriana em folhas.....	33
4.4. Inoculação em vagens	34
4.5. Avaliação da reação ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas	34
4.6. Avaliação da reação ao Crestamento Bacteriano Comum em vagens de feijoeiro	36
4.7. Análise estatística para a avaliação dos dados fenotípicos de severidade da doença (NF, AACPD, LV).	37
4.8. Análise genotípica	38
4.9. Estrutura de população.....	38
4.10. Análise de associação genômica ampla	38
4.10.1. Análise de associação genômica ampla single-locus.....	38
4.10.2. Análise de associação genômica ampla multi-locus.....	39
4.11. Identificação de alelos favoráveis	39
4.12. Pesquisa por genes candidatos.....	39
5. RESULTADOS.....	41
5.1. Resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas de feijão	41
5.1.1. Análise de componentes principais - PCA.....	48
5.2. Genotipagem, estrutura populacional e decaimento do desequilíbrio de ligação	50
5.3. Resultado GWAS método single-locus.....	52
5.4. Resultado GWAS método multi-locus.....	54
5.5. Alelos favoráveis.....	57
5.6. Identificação de genes candidatos.....	58
6. DISCUSSÃO	61

6.1. Parâmetros genéticos para resistência ao Crestamento Bacteriano Comum.....	61
6.2. Análise de componentes principais – PCA.....	64
6.3. Estrutura populacional.....	64
6.4. GWAS.....	65
6.5. Identificação de genes candidatos relacionados à resistência quantitativa ao Crestamento Bacteriano Comum.....	66
7. CONCLUSÕES	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Implantação do experimento de avaliação da resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas e vagens de genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. em casa de vegetação do IDR-Londrina, PR. IDR-PR, Londrina – PR, 2024.....28
- Figura 2.** Preparo do isolado bacteriano de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. A - fluxo laminar, B – isolado Xap 139-y, C – crescimento bacteriológico, D – meio com DYGS com colônias de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* incubadas em estufa bacteriológica, E – colônias bacterianas de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. UEL, Londrina – PR, 2024.33
- Figura 3.** Etapas da inoculação em folhas de *Phaseolus vulgaris* L. com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. A – Ajuste da concentração do inóculo em espectrofotômetro, B – concentração da suspensão bacteriana em 10^7 UFC/mL⁻¹, C – inoculação em folíolos de feijão aos 20 dias após a semeadura, D – conservação do inóculo em caixa de poliestireno expandido, E – método de inoculação por auxílio de tesoura, F – inoculação em folíolos por dois cortes de um centímetro equidistantes. UEL, Londrina - PR, 2024.34
- Figura 4.** Escala de notas para determinação do grau de severidade quanto à reação a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em folhas de feijoeiro inoculadas pelo método de inoculação por corte com auxílio de tesoura à concentração de 10^7 UFC/mL. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024.....35

Figura 5. Determinação da severidade do Crestamento Bacteriano Comum causado por <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> em vagens de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. A - Isolado Xap 139-y; B – inoculação pelo método de infiltração por auxílio de agulha entomológica; C - medição da lesão por paquímetro; D - Escala de nota para determinação do grau de severidade quanto à reação <i>X. axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> em vagens de feijoeiro inoculadas. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024.....	36
Figura 6. Análise de componentes principais referente a variáveis de resistência ao Crestamento Bacteriano Comum NF, AACPD, LV, correlacionadas para cor de semente.	49
Figura 7. Análise de componentes principais referente a variáveis de resistência ao Crestamento Bacteriano Comum NF, AACPD, LV, correlacionadas para instituição de desenvolvimento do genótipo.....	49
Figura 8. Distribuição de densidade de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) identificados por genotipagem por sequenciamento (GBS) ao longo do genoma do feijão-comum em um tamanho de janela de 1 Mb. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.....	50
Figura 9. Valor estimado de Delta K para dez execuções de replicação de cada uma, de K1 a K10. O gráfico Delta K determinou o valor máximo em K = 2. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.....	51
Figura 10. Análise da estrutura populacional utilizando 126 genótipos de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. com K = 2: (1) formado preferencialmente por genótipos do grupo comercial do feijão-carioca, identificado em vermelho; (2) formado preferencialmente por genótipos do grupo comercial do feijão-preto, identificado na cor verde. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.	52
Figura 11. Gráficos de Manhattan plots com os métodos single-locus GLM e MLM, para determinar os QTNs associados aos parâmetros de resistência NF e AACPD. A coluna X representa os cromossomos, e a coluna Y representa o -log ₁₀ (p-value). quantil-quantil (Q-Q plots) com os métodos single-locus GLM e MLM para determinar os QTNs associados aos parâmetros de resistência NF e AACPD. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.	54

Figura 12. Gráficos de Manhattan plot com os métodos multi-locus FASTmrMLM, ISIS-EM-BLASSO, mrMLM e pLARmEB. A coluna X representa os cromossomos, e a coluna Y representa o $-\log_{10}(p\text{-value})$. Gráficos de quantil-quantil (Q-Q plots) com os métodos multi-locus FASTmrMLM, ISIS-EM-BLASSO, mrMLM e pLARmEB. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.....	55
Figura 13. Diagrama de Venn-Euler com os métodos multi-locus para identificação dos QTNs em <i>Phaseolus vulgaris</i> L. inoculados com <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.....	57
Figura 14. Acúmulo de alelos favoráveis em relação às médias para cada uma das duas variáveis em duas épocas, para resistência em folha ao Crestamento Bacteriano Comum presentes no painel de feijão-comum. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.....	58

LISTADE TABELAS

- Tabela 1.** Principais doenças bacterianas, fúngicas e virais do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024..... 13
- Tabela 2.** Painel de germoplasma de *Phaseolus vulgaris* L. do *pool* gênico mesoamericano pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma do IDR-PR para estudar a associação genômica ampla para identificar genes de resistência ao Crestamento Bacteriano Comum. IDR-PR, Londrina – PR, 2024.....29
- Tabela 3.** Descrição da escala de notas usada para determinar a severidade do Crestamento Bacteriano Comum causado por *X. axonopodis* pv. *phaseoli* em vagens de *Phaseolus vulgaris* L. inoculadas pelo método de fermento com agulha entomológica. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024..... 37
- Tabela 4.** Análise de deviance para as variáveis de resistência NF, AACPD em folhas de feijão inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em duas épocas e para variável de resistência LV em vagens de feijão em uma época. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024.....41
- Tabela 5.** Estimativas dos parâmetros genéticos via procedimento REML/BLUP, para as variáveis de resistência NF, AACPD em folhas de feijão em duas épocas, inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, na concentração de 10^7 ufc/mL¹, pelo método de inoculação por auxílio de tesoura. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024.....42

Tabela 6. Estimativas dos parâmetros genéticos via procedimento REML/BLUP, para a variável de resistência lesão de vagem - LV em vagens de feijão, inoculadas com colônias de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> , pelo método de inoculação com auxílio de agulha entomológica. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024.	43
Tabela 7. Médias ajustadas via procedimento REML/BLUP, para as variáveis de resistência NF, AACPD e LV. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024.....	44
Tabela 8. Análise Bayesiana de agrupamento populacional com base no método de DK. O valor em negrito de Delta K indica o número mais provável de <i>clusters</i> (K = 2). UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.....	51
Tabela 9. Nucleotídeos de características quantitativas (QTNs) associados à resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas de feijão, que foram detectados pelo menos duas vezes usando métodos diferentes e/ou em ambientes diferentes. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.	56
Tabela 10. Anotação funcional dos 48 genes favoráveis próximos aos QTNs de acordo com o decaimento do desequilíbrio de ligação, associados à resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas de feijão. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024.....	59

RESUMO

FUKUJI, Karina Kazue Nakamura; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março de 2024; Mapeamento associativo quanto à reação do feijoeiro ao crestamento bacteriano comum por marcadores SNPs; Orientadora: D.Sc. Rosana Rodrigues; Conselheiros: D.Sc. Geraldo de Amaral Gravina e D.Sc. Valdirene Moreira Gomes.

O crestamento bacteriano comum (CBC), causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, é a principal doença bacteriana que afeta a produção de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), com impactos significativos na agricultura brasileira. A busca por genótipos resistentes é uma estratégia fundamental, dada a prevalência e persistência do patógeno em condições tropicais. Este estudo visa identificar genes candidatos para a resistência ao CBC por meio de estudos de mapeamento associativo, utilizando 126 genótipos de feijão mesoamericano do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico do Paraná (IDR-Paraná). Foi utilizado o delineamento blocos ao acaso (DBC) com quatro repetições. Para as avaliações em folhas, foi utilizado o método de inoculação por corte com auxílio de tesoura, usando o isolado Xap-139y na concentração de 10^7 ufc.mL, foi observada as variáveis nota final (NF) e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), para a avaliação da resistência em vagens foi utilizado colônias da Xap-139y pelo método de inoculação por infiltração com auxílio de agulha entomológica, para averiguar a variável tamanho de lesão na vagem (LV). Foram estimados o desempenho esperado das médias e os parâmetros genéticos pelo programa

Selegen. Foi utilizado o modelo 25 para NF e AACPD em que considera os dois experimentos e prediz as novas médias. Foi utilizado modelo 21 para LV. A variabilidade observada para resistência ao CBC entre os genótipos para a variável NF obteve uma amplitude de 1,92 a 4,82, para a AACPD a variação foi de 23,72 a 46,30. O genótipo GEN203 foi considerado resistente para AACPD e NF. Para a variável LV, não foi observado nenhum genótipo altamente resistente ou resistente, com amplitude de notas de 2,47 a 4,29. O genótipo GEN184 apresentou resistência para a variável AACPD, e moderada resistência para variável LV. Por meio de modelos multi-locus (FASTmrMLM, ISIS-EM-BLASSO, mrMLM, pLARmEB), identificamos onze nucleotídeos de características quantitativas (QTNs) associados à resistência ao CBC e 48 genes candidatos implicados na resposta de resistência. Esses genes atuam em diversas vias metabólicas, sugerindo uma herança poligênica complexa. Os resultados enfatizam a importância desses genes como alvos para futuros estudos e estratégias de melhoramento genético visando aumentar a resistência ao CBC em culturas de feijão. Este trabalho contribui significativamente para a compreensão da base genética da resistência ao CBC e abre caminhos para o desenvolvimento de variedades de feijão com melhor adaptabilidade e produtividade em regiões afetadas pela doença.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.; *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, associação genômica ampla multi-locus, herança de resistência poligênica.

ABSTRACT

FUKUJI, Karina Kazue Nakamura; D.Sc.; State University of North Fluminense Darcy Ribeiro; March 2024; Associative mapping regarding the bean plant's reaction to common bacterial blight by SNP markers; Advisor: D.Sc. Rosana Rodrigues; Counselors: D.Sc. Geraldo de Amaral Gravina and D.Sc. Valdirene Moreira Gomes.

Common bacterial blight (CBB), caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, is the main bacterial disease that affects the production of beans (*Phaseolus vulgaris* L.), with significant impacts on Brazilian agriculture. The search for resistant genotypes is urgent, given the prevalence and persistence of pathogens in tropical conditions. This study aims to identify candidate genes for resistance to CBB through associative mapping studies, using 126 Mesoamerican bean accessions from the germplasm bank of the Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná). A randomized block design (RBD) with four blocks was used. For leaf evaluations, the method of inoculation by cutting with the aid of scissors was used, using the isolate Xap-139y at a concentration of 10^7 cfu.mL, the variables final grade (FG) and area under the disease progress curve were observed. (AUDPC), to evaluate resistance in pods, Xap-139y colonies were used using the infiltration inoculation method with the aid of an entomological needle, to verify the variable size of the lesion in the pod (LP). The expected performance of the averages and genetic parameters were estimated using the Selegen program. Model 25 was used for LP and AUDPC, which considers both experiments and predicts the new means.

Model 21 was used for LP. The variability observed for resistance to CBB between accessions for the NF variable ranged from 1.92 to 4.82, for AUDPC the range was 23.72 to 46.30. Accession GEN203 was considered resistant to AUDPC and FG. For the LP variable, no highly resistant or resistant access was provided, with a range of scores from 2.47 to 4.29. The GEN184 genotype showed resistance to AUDPC, and moderate resistance to VG. Using multilocus models (FASTmrMLM, ISIS-EM-BLASSO, mrMLM, pLARmEB), we identified eleven quantitative trait nucleotides (QTNs) associated with CBB resistance and 48 candidate genes implicated in the resistance response. These genes act in several metabolic pathways, providing a complex polygenic inheritance. The results emphasize the importance of these genes as targets for future studies and genetic improvement strategies that increase resistance to CBB in bean crops. This work contributes significantly to the understanding of the genetic basis of resistance to CBB and opens the way for the development of bean varieties with better adaptability and productivity in regions affected by the disease.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L.; *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, multi-locus genome-wide association, inheritance of polygenic resistance.

1. INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) ostenta o título de leguminosa mais consumida no mundo, com um cultivo extensivo que abrange aproximadamente 36 milhões de hectares (FAOSTAT, 2022). Sua posição central como alimento básico em diversos países, principalmente na América Latina, na África Oriental e Austral, destaca sua importância dietética (Broughton et al., 2003). Em suma, o feijão se destaca como um alimento essencial para a segurança alimentar global, combinando valor nutritivo e benefícios socioeconômicos.

O Brasil se destaca como um dos líderes mundiais na produção e consumo de feijão (FAOSTAT, 2022). O consumo é fortemente preferencial pelas variedades mesoamericanas, atribuído em sua maioria ao feijão-carioca, que é caracterizado pelo tegumento de cor creme com listras marrons, representando 70% da produção nacional. O feijão preto, por sua vez, também é bastante popular, ocupando 15% da produção (Pereira et al., 2019). Essa preferência demonstra não apenas o valor cultural do feijão na culinária brasileira, mas também a importância dessas variedades para atender às necessidades alimentares e às tradições do país.

Um dos principais fatores negativos relacionados ao cultivo do feijão, está relacionada a ocorrência de doenças, associada à baixa produtividade (Wendland et al., 2016; Paula Júnior et al., 2015; Canale et al., 2021). Dentre as principais doenças da cultura em termos de importância econômica, destaca-se o crestamento bacteriano comum (CBC), causado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Thung e Sartorato, 2002; Bianchini et al., 2005; Wendland,

2021). Esta doença manifesta-se por meio de manchas necróticas escuras com um halo amarelo, afetando folhas, caules e vagens. Sua disseminação é favorecida pela água de irrigação, chuva, vento e equipamentos agrícolas contaminados (Carneiro et al., 2015; Wendland, 2021). O comprometimento da fotossíntese e a desfolha prematura resultantes da infecção reduzem drasticamente o rendimento das lavouras de feijão.

Promover práticas agrícolas ambientalmente sustentáveis que reduzam a dependência de defensivos químicos, se faz necessário para garantir a segurança alimentar. O manejo do CBC envolve uma abordagem integrada, incluindo práticas preventivas e curativas. O Manejo Integrado de Pragas e Doenças (MIPD) e a implementação de estratégias como o uso de cultivares resistentes, rotação de culturas, uso de sementes certificadas, são fundamentais para reduzir a incidência da doença, minimizando os impactos negativos causados ao meio ambiente, além de reduzir os custos de produção (Harveson e Schwartz, 2007; Trindade et al., 2015). O controle químico tem sido amplamente utilizado para controle de doenças fúngicas, porém para o crescimento bacteriano não a tratamento curativo (Yu et al., 2000), há produtos que podem ajudar a retardar o aparecimento de sintomas nas lavouras, como os da base de cobre (Wendland et al., 2016). Portanto, o desenvolvimento de cultivares resistentes é considerada a estratégia mais sustentável e rentável a longo prazo (Trindade et al., 2015; Borkar e Yumlembam, 2016; Costa et al., 2019).

Do ponto de vista do melhoramento genético, diversos trabalhos vêm sendo conduzidos visando a identificação de cultivares resistentes ao CBC. Abo-Elyousr et al. (2022), estudaram a potencialidade dos ácidos salicílico (SA) e benzoico (BA) no controle do CBC. *In vitro*, a aplicação de ambos suprimiu significativamente o crescimento do patógeno. Em condições de casa de vegetação, a aplicação de BA e SA reduziu consideravelmente o desenvolvimento da doença em 81 e 71%, respectivamente, após quatro dias da aplicação. Costa et al. (2020), investigaram o potencial do uso de fosfitos de manganês (Mn) e zinco (Zn) no feijoeiro comum para o controle do CBC. As plantas infectadas foram pulverizadas em solução de 7,5 ml/L de fosfitos de Mn e Zn, o que resultou em uma AACPD significativamente menor em 34% e 59% para Mn e Zn, melhorando sua resposta de defesa, reduzindo o estresse oxidativo desencadeado pelo CBC. Os pesquisadores Uysal e Bastas (2018), estudaram as enzimas antioxidantes para resistência ao CBC. As atividades

da ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) foram estudadas em genótipos de feijoeiro resistentes e suscetíveis. O aumento temporal das atividades das enzimas CAT e APX apresentou atividade máxima às 12h após inoculação na cultivar resistente e na suscetível aumentou às 72h após a inoculação para CAT e 12, 24h para as enzimas APX. Estas descobertas sugerem que o controle das doenças é proporcional à quantidade aumentada de CAT e enzima APX.

A pesquisa sobre os mecanismos genéticos subjacentes à resistência do feijão ao CBC identificou várias percepções importantes. Segundo estudos como o de Singh e Miklas (2015), a resistência ao CBC no feijoeiro comum é governada por múltiplos fatores genéticos, incluindo genes menores com efeitos quantitativos. Esses genes contribuem para diferentes aspectos da resposta imune da planta, incluindo o reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e a ativação de vias de sinalização de defesa. Outras pesquisas, como o trabalho de Melotto et al. (2017), destacaram o papel das quinases semelhantes a receptores (RLKs) e proteínas semelhantes a receptores (RLPs) na mediação da resistência a patógenos bacterianos no feijoeiro comum. Essas proteínas estão envolvidas no reconhecimento de elicitores microbianos, ativando respostas de defesa como a produção de compostos antimicrobianos e reforço da parede celular vegetal. Além disso, estudos como o de Xie et al. (2017) identificaram locus de características quantitativas específicas (QTLs) no Pv08 e Pv03 associados à resistência ao CBC em feijoeiro comum. Esses QTLs contribuem para a variação na resistência a doenças entre diferentes cultivares de feijão e podem ser direcionados para seleção assistida por marcadores em programas de melhoramento que visam o desenvolvimento de variedades resistentes. Essas descobertas ressaltam a complexa base genética da resistência ao CBC no feijoeiro comum e destacam o potencial de abordagens de melhoramento assistido por marcadores para aumentar a resistência a doenças em cultivares de feijão. A investigação contínua sobre os mecanismos moleculares de resistência será crucial para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de gestão de doenças e para a criação de variedades de feijão resilientes.

O uso de estudo de associação genômica ampla (GWAS - *Genome Wide Association Studies*), é uma ferramenta poderosa para identificar regiões genômicas associadas a características fenotípicas que possuem controle genético (Ziegler et al., 2018). O GWAS é aplicado a uma população com material genético

diverso que inclui genótipos de coleções de germoplasma, nos quais, são identificados marcadores SNPs, que possuem associação significativa com características fenotípicas complexas (Hayward et al., 2015). Por conseguinte essa ferramenta possibilita a identificação de múltiplos polimorfismos que ocorrem de forma natural dentro de uma espécie (Korte e Ashley, 2013).

Muitos trabalhos visando a busca por genes de resistência tem utilizado essa abordagem. Barbosa et al. (2022) estudaram 149 cultivares de feijão-comum, e 1.616 SNPs foram avaliados para CBC visando identificar QTLs, destes pela análise GWAS utilizando o modelo BLINK, foi possível identificar um SNP no cromossomo Pv07 associado. Considerando um intervalo de confiança de 100 kb, a anotação genética identificou 13 genes candidatos relacionados a genes associados à defesa. Simons et al. (2021) testaram 852 genótipos, para GWAS com intuito de identificar genes candidatos associados à resistência ao CBC. Foram filtrados 41.998 SNPs para o *pool* genético da América Central e 30.285 SNPs do Andino. Os autores identificaram duas novas regiões associadas à resistência CBC, as quais estão localizadas em Pv10:22,91–23,36 e Pv11:52,4. Uma lipoxigenase-1 no Pv10 emergiu como um gene candidato para resistência ao CBC. Zia et al. (2022) realizaram GWAS para identificar marcadores SNP associados à resistência em três isolados de *Curtobacterium laccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em 168 genótipos de feijão-comum. Identificaram 14 SNP associados à resistência, usando modelos lineares mistos MLMs. Esses SNPs foram localizados nos cromossomos Pv02, Pv04, Pv07, Pv08 e Pv09.

Portanto, devido a representatividade do cultivo e consumo da cultura do feijoeiro para os brasileiros e a expressividade da doença CBC comprometendo a produção e impactando diretamente na balança comercial, o propósito deste estudo foi fenotipar os genótipos de feijão quanto à resistência ao CBC, visando identificar genes candidatos para a resistência, por meio de estudos de mapeamento associativo, usando modelos multilocus (FASTmrMLM, ISIS-EM-BLASSO, mrMLM, pLARmEB). Esse estudo tem como finalidade, contribuir para a compreensão da base genética da resistência ao CBC e dar subsídios para o desenvolvimento de variedades de feijão com melhor adaptabilidade e produtividade em regiões afetadas pela doença.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Este estudo visa identificar genes candidatos para a resistência ao CBC por meio de estudos de mapeamento associativo, utilizando 126 genótipos de feijão mesoamericano do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico do Paraná (IDR-Paraná).

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a resistência dos genótipos de feijão ao crestamento bacteriano;
- Estimar a severidade final da doença (NF) e o tamanho da lesão na vagem (LV);
- Estimar a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD);
- Estimar e prever os valores genotípicos, por meio dos modelos mistos pelo programa Selegen;
- Correlacionar a severidade da doença às marcas polimórficas SNPs, usando a análise de associação genômica ampla;
- Avaliar os métodos single-locus: MLM, GLM e multi-locus: FASTmrEMMA, pKWmEB, FASTmrMLM, ISIS-EM-BLASSO, mrMLM e pLARmEB, para identificar qual o modelo é o mais apropriado;
- Identificar os QTNs significativos relacionados à resistência ao CBC;
- Identificar genes candidatos associados à resistência ao CBC;
- Indicar genótipos com resistência ao crestamento bacteriano comum para o Programa de Melhoramento de feijoeiro.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Aspectos gerais da cultura do feijoeiro

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), pertence à classe Dicotiledônea, família Leguminosae (Fabaceae), subfamília *Papilionoidae* (Faboideae) e gênero *Phaseolus* (Santos e Gavilanes, 2008; POWO, 2020). O gênero *Phaseolus* L. compreende cerca de 90 espécies (POWO, 2021). *P. vulgaris* (feijão-comum e feijão-de-vagem), *P. lunatus* (feijão-de-lima e fava-de-lima), *P. coccineus* (feijão-da-espanha), *P. acutifolius* e *P. polyanthus* são consideradas espécies domesticadas (Debouck, 1991; Delgado-Salinas, 2006; Bitocchi et al., 2017).

O feijão-comum é uma cultura diploide e dispõe de $n = 11$ cromossomos ($2n = 2x = 22$) com um genoma de tamanho estimado de 588 Mbp (Bennett, 1995; Vieira et al., 1999, Ron et al., 2015). O feijão-comum é originário da região central do México (Rendón-Anaya et al., 2017), sendo que as populações silvestres desenvolvem do norte do México até o norte da Argentina, em altitudes de 500 a 2.000 m (Debouck, 1986; Schmutz et al., 2014). Houve separação em dois centros de origem e domesticação diferentes, mesoamericano e andino, em torno de 168.000 anos atrás, com intervalo de confiança entre 146.000 e 184.000 (Bitocchi et al., 2012).

Koenig e Gepts (1989) classificou dois *pools* gênicos distintos, denominados *pool* Mesoamericano (genótipos do México, Guatemala, Costa Rica, Colômbia e sul do Peru) e *pool* Andino (sul do Peru ao norte da Argentina), os feijões do norte do Peru, são considerados por eles uma região de transição entre

os dois *pools* gênicos. Bitocchi et al. (2012) identificaram presença de faseolina tipo I na região do norte do Peru e Equador, não sendo encontrada em nenhum dos outros *pools* gênicos.

A partir de trabalhos realizados por Schmutz et al. (2014) e Vlasova et al. (2016), com sequenciamento dos genomas do feijão Andino G19833 e do feijão Mesoamericano BAT 93, respectivamente, dois *pools* gênicos foram confirmados, indicando que o primeiro centro de origem da espécie foi o México devido a maior diversidade de linhagens no Norte em relação às regiões Centro e Sul da América Central. A classificação para a determinação do centro de origem é feita considerando-se a presença do gene *Phs*, que é um codificador da proteína faseolina, encontrada nas reservas da semente correspondendo a pelo menos 10 tipos de alelos diferentes (Gepts, 1990).

O tamanho e o peso de cem sementes variam de acordo com o tipo de faseolina: cultivares com faseolinas T, C e H apresentam peso superior a 40 g, enquanto as de grãos pequenos, com faseolinas S e B, pesam menos de 25 g (Coelho et al., 2007). Assim, a análise da faseolina nos permite traçar a história do feijão e compreender a rica diversidade.

De Ron et al. (2015) relatam que o feijão-comum se disseminou para diversas regiões do mundo, sendo domesticado de acordo com o interesse do mercado local, sendo adaptado às preferências de cada local. As variedades andinas, com grãos maiores e cores vibrantes, conquistaram o paladar global, enquanto na Ásia e no Brasil, a preferência recai sobre os grãos menores e mais escuros da origem mesoamericana. Essa diversificação demonstra a versatilidade do feijão e sua capacidade de se integrar à cultura alimentar de diferentes povos.

3.2. Aspectos morfológicos e de cultivo do feijoeiro

A espécie de *P. vulgaris*, é uma espécie autógama, porém pode apresentar uma taxa de fecundação cruzada de aproximadamente de 3%, dependendo de fatores como umidade relativa do ar, temperatura, distância de semeadura entre as cultivares, coincidência e duração do período de florescimento, atividade de insetos polinizadores e tamanho de flor, podendo atingir valores mais elevados (Marques Júnior e Ramalho, 1995; Burle et al., 2010).

O feijoeiro possui quatro tipos de hábitos de crescimento, (Aguiar et al., 2014; Embrapa, 2017). As plantas do tipo I, apresentam crescimento determinado, com

ramificação ereta e fechada, o caule e os ramos laterais terminados em uma inflorescência, têm número limitado de nós e floração com início do ápice para a base da planta com ciclo de 60 a 80 dias; as plantas do tipo II têm crescimento indeterminado, arbustivo, com ramificação ereta e fechada, as vagens não tocam o solo e o ciclo vai de 82 a 95 dias; já as do tipo III, têm crescimento indeterminado, prostrado, com ramificação aberta e as vagens geralmente chegam a ter contato com solo, tem ciclo de 85 a 100 dias; e as do tipo IV, cujo crescimento é indeterminado trepador, levam mais de 100 dias para completar o ciclo. As plantas do tipo II, III e IV por apresentarem hábitos de crescimento indeterminado, o caule principal tem crescimento contínuo, com sucessão de nós e entrenós. As inflorescências são axilares e a floração inicia-se da base para o ápice da planta (Oliveira et al., 2018).

O feijão-comum exibe características morfológicas tais como: folhas trifolioladas alternas. A flor do feijoeiro é formada pelo cálice e pela corola. O cálice é verde e a corola composta de cinco pétalas que podem ser brancas, rosadas ou violáceas. O estandarte é a pétala maior e as asas são as duas menores. As outras duas, soldadas uma à outra, formam a quilha. A quilha é retorcida, em forma de espiral, e no seu interior se encontram o androceu e o gineceu (Costa, 2023). As vagens são formadas por duas valvas unidas por duas suturas. As sementes não possuem albume, suas reservas ficam dispostas no cotilédone e expõem uma enorme diversidade de cores, podendo apresentar desenhos de pontuações, estrias e manchas opacas ou brilhosas com presença ou ausência de halo. Essa diferenciação é bem evidente no mercado nacional, onde são cultivados diferentes grupos de feijões, entre eles, o Carioca, Preto, Mulatinho, Roxinho, Vermelho, entre outros (Silva, 2005).

O ciclo pode variar de 65 a 110 dias (Souza et al., 2019). As cultivares de feijão comerciais apresentam, aproximadamente, ciclo intermediário de 90 dias, e as cultivares precoces, ciclo de cerca de 70 dias (Singh et al., 1991). O ciclo pode ser dividido em duas fases, a fase vegetativa (V) e reprodutiva (R), com cinco etapas em cada fase: V0 = germinação; V1 = emergência; V2 = folhas primárias; V3 = primeira folha trifoliolada; V4 = terceira folha trifoliolada; R5 = pré-floração; R6 = floração; R7 = formação das vagens; R8 = enchimento de vagens; e R9 = maturação (Mariot, 1989; Oliveira et al., 2023).

A faixa de temperatura para o seu ótimo desenvolvimento, compreende entre 18 e 30°C, devido a esta ampla flutuação de temperatura, se torna possível o seu cultivo em regiões com temperaturas amenas até temperaturas elevadas. No entanto, a cultura é extremamente sensível a intempéries climáticas extremos, não suportando em demasia o frio e geadas e alta ou baixa umidade do solo (Andrade et al., 2015; Silva e Heinemann, 2023).

Em relação à precipitação pluviométrica, estima-se que o consumo hídrico da cultura do feijão varie de 300 a 600 mm de acordo com seus estádios de desenvolvimento, sendo seu consumo diário, em média, de 3 a 4 mm, ou seja, aproximadamente 100 mm mensais. Ao longo do seu desenvolvimento, as necessidades hídricas ficam críticas durante a emergência, floração e vagem na fase de enchimento de grão (Kandel e Endres 2019). A precipitação, em conjunto com os demais fatores agroclimáticos, pode limitar o crescimento e o desenvolvimento do feijoeiro (Dourado-Neto e Fancelli, 2000).

O Brasil por apresentar uma grande diversidade edafoclimática possibilita o cultivo do feijoeiro em diversas regiões, com condições distintas de clima e solo, sendo possível obter três safras durante o ano agrícola (SEAB, 2016; Myers e Kmiecik, 2017; CONAB, 2021). A primeira delas é a safra de verão, também conhecida como “das águas”, isso porque é semeada entre os meses de outubro e novembro, período em que há maior volume de chuvas. A segunda safra é a outonal, ou “da seca”, exatamente por ser plantada em fevereiro e março, quando está se fechando o ciclo de chuvas do verão. E a terceira é a safra de inverno, que vai de abril a junho.

3.3. Aspectos socioeconômicos do feijoeiro

O feijão-comum é a leguminosa de grão mais importante consumida diretamente pelos seres humanos (Kelly, 2010; Kalavacharla et al., 2011, FAOSTAT, 2022). A produção mundial foi de 53 milhões de toneladas no ano de 2021. Dentre os maiores produtores de feijão estão a China com 20 milhões, a Índia com 7 milhões e o Brasil com 2,9 milhões de toneladas. Esses países correspondem a 57,1% de toda a produção mundial. O Brasil corresponde a 5,5% da produção mundial de feijão, em relação à produção histórica. Com relação à exportação o Brasil corresponde a 17ª posição nas safras de (2000 a 2021), com

um montante de 155 mil toneladas. O Brasil exportou cerca de 112 milhões de dólares em feijão em 2021 (FAOSTAT, 2022). A previsão de produção para safra 23/24 de feijão no Brasil é de 3,0 milhões de toneladas. Os estados com maiores estimativas para safra 2023/24 são o Paraná (721.6 mil toneladas), Minas Gerais (549.6 mil toneladas), Bahia (295,7 mil toneladas) e Goiás (280,2 mil toneladas). As regiões sul e sudeste são responsáveis por 54% de toda produção (CONAB, 2024).

A cultura se consolidou como a principal forma de proteína vegetal e se tornou a base da alimentação diária dos brasileiros, sendo um alimento que todas as classes sociais consomem, e que é cultivado em todas as regiões do país, em diferentes biomas e contextos socioculturais (Vieira, 1988; Yokoyama et al., 1996; Darmon e Drewnowski, 2015; Chiorato et al., 2018). O Brasil é detentor de uma vasta diversidade de germoplasma e é considerado um centro de diversidade secundário (Burle et al., 2010; Cavalcanti et al., 2021). De acordo com o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA, 2013) a cada dez brasileiros, sete consomem feijão diariamente, sendo o consumo médio *per capita* dos brasileiros em torno de 15,0 kg/hab/ano (CONAB, 2016).

Segundo estimativas da Embrapa Arroz e Feijão (2023), o consumo médio aparente *per capita* de feijão-comum em 2021 foi 12,2 kg/hab. Dentro do período de 1996-2021, houve um declínio no consumo aparente *per capita*, com consumo máximo de 18,8 kg/hab, em 1996. Ao longo dos anos, o consumo *per capita* tem sido decrescente, em razão de diversos fatores, dentre os quais é possível destacar a substituição por outros alimentos mais acessíveis e convenientes no seu preparo, não sendo necessariamente considerados nutritivos (Embrapa, 2023). Segundo Granado et al. (2021) o consumo regular de feijão deixará de ser o hábito predominante no país, isso representa uma fragilidade de uma cultura alimentar tradicional. Mundialmente o feijão corresponde a 50% dos grãos consumidos. É responsável por 36% da ingestão diária de proteínas, bem como o fornecimento de 18% de carboidratos e vitaminas A1, complexo B, C e E, além de minerais como ferro, zinco, cobre e fósforo (Shailendar et al., 2015).

3.4. Importância da diversidade e melhoramento genético da cultura do feijoeiro

O cultivo do feijoeiro no Brasil é tradicionalmente realizado por pequenos e médios produtores em pequenas áreas, sem incentivo fiscal e desenvolvimento tecnológico (Borém e Carneiro, 2015) sendo a agricultura familiar responsável por 70% do feijão produzido no país (CONAFER, 2020). O seu cultivo na maioria das vezes é realizado com sementes próprias, sendo uma parte da produção reservada da safra anterior, sendo considerado uma prática de risco pela baixa tecnificação, uso de sementes de baixa qualidade, períodos críticos de plantio, colheita e a suscetibilidade a pragas e doenças (CONAB, 2016).

No entanto, devido a representatividade socioeconômica que o feijão proporciona à população brasileira, o Brasil possui instituições desenvolvedoras de cultivares de feijão, sendo em sua maioria instituições públicas, como Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IAPAR-EMATER (IDR-Paraná), Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Empresa de Pesquisa Agropecuária de Santa Catarina (EPAGRI), e também universidades como a Universidade Federal de Lavras (UFLA), Universidade Federal de Viçosa (UFV) e a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

O conhecimento da diversidade genética entre as cultivares, linhagens e variedades crioulas é importante para subsidiar programas de melhoramento de plantas, não obstante, pouco foi explorado. Deste modo, é imprescindível estudar a diversidade genética existente antes de iniciar atividades de melhoramento de plantas (Koten et al., 2022).

Os estudos de fenotipagem podem fornecer informações valiosas sobre a diversidade genética de uma amostra. Essas informações podem ser usadas para identificar e descrever o germoplasma, bem como para identificar a divergência genética entre genótipos. Isso pode levar ao desenvolvimento de material genético com alto valor tecnológico, produtivo e resistente a ações de fatores bióticos e abióticos. (Kouonon et al., 2020).

Estudos aplicando características morfológicas, agronômicas e moleculares estão sendo amplamente utilizadas como forma de otimização de recursos e tempo,

tomando como exemplos pesquisas focando em associação genômica ampla para resistência à *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em café arábica (Ariyoshi et al., 2022); estudo de associação genômica para conteúdo mineral de grãos em um painel de diversidade de feijoeiro comum brasileiro (Delfini et al., 2021); caracterização morfoagronômica e diversidade genética em pimenteiras (*Capsicum* spp.) (Silva e Silva, 2021).

3.5. Principais ocorrências de doenças na cultura do feijoeiro

O feijoeiro pode ser afetado por mais de 40 doenças durante todo o ciclo, causadas por vírus, bactérias, fungos e nematoides, as quais contribuem para o seu baixo rendimento, em todas as regiões do mundo onde é cultivado (Bianchini et al., 2005; Wendland et al., 2018; Ferreira e Junior, 2021). As doenças do feijoeiro constituem uma das principais causas da baixa produtividade quando não controladas.

Os patógenos de parte aérea podem causar as principais patologias do feijão, como o crestamento bacteriano comum (Paula Júnior et al., 2008). Dentre as principais doenças que ocorrem no feijoeiro-comum (Tabela 1), o CBC é considerado a principal doença, causada por bactéria em feijão no Brasil (Sartorato et al., 1996; Díaz et al., 2001; Thung e Sartorato, 2002; Bianchini et al., 2005; Wendland et al., 2016; Ferreira e Junior, 2021). As principais doenças que ocorrem no feijoeiro comum estão listadas na Tabela 1. O maior entrave para a produção do feijão é a suscetibilidade a muitas pragas e doenças que reduzem seriamente a produção e qualidade das sementes (Boersma et al., 2015; Carneiro et al., 2015).

O feijoeiro é um potencial hospedeiro de inúmeras doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides. A importância de cada doença varia de acordo com o ano, a época, o local e a cultivar plantada. Doenças bacterianas são um dos principais fatores de diminuição da produtividade do feijoeiro em todo o Brasil, devido ao seu rápido desenvolvimento em alta umidade e temperatura (Bianchini et al., 2005; Ferreira e Junior, 2021).

Tabela 1. Principais doenças bacterianas, fúngicas e virais do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024

DOENÇA	AGENTE CAUSAL
BACTÉRIAS	
Crestamento bacteriano comum	<i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>phaseoli</i>
Mancha angular	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>
Murcha de <i>Curtobacterium</i>	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>
Podridão mole	<i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>carotovora</i>
FUNGOS	
Antracnose	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>
Mela do feijoeiro	<i>Thanatephorus cucumeris</i>
Mancha-angular	<i>Pseudocercospora griseola</i>
Sarna	<i>Colletotrichum dematium</i> f. sp. <i>truncata</i>
Ferrugem	<i>Uromyces appendiculatus</i>
Mancha de alternaria	<i>Alternaria alternata</i> e <i>A. tenuis</i>
Oídio	<i>Eryshipe polygoni</i>
Podridão-radicular-seca	<i>Fusarium solani</i>
Podridão do colo	<i>Sclerotium rolfsii</i>
Podridão-radicular	<i>Rhizoctonia solani</i>
Mofo-branco	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Podridão-cinzenta do caule	<i>Macrophomina phaseolina</i>
NEMATÓIDES	
Nematoide das galhas	<i>Meloidogyne</i> spp.
Nematoide das lesões	<i>Pratylenchus brachyurus</i> spp.
VÍRUS	
Mosaico-dourado do feijoeiro	<i>Bean golden mosaic virus</i> – BGMV
Mosaico-comum	<i>Bean common mosaic virus</i> - BCMV
mosaico-comum-necrótico	<i>Bean common mosaic necrosis virus</i> - BCMNV
Mosaico-rugoso	<i>Bean rugose mosaic virus</i> - BRMV

Fonte: Embrapa (2017).

3.6. Crestamento bacteriano comum – *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*

Os primeiros relatos do surgimento do CBC foram em 1892, nos Estados Unidos da América (Zaumeyer e Thomas, 1957). A doença rapidamente se espalhou para as regiões produtoras de feijão das Américas, México, Colômbia e

Brasil, e atualmente a doença já alcança todas as regiões produtoras de feijão do mundo (Karavina et al., 2011). O CBC ocorre em todo o mundo e a ocorrência mais grave é em regiões de altas temperaturas e umidade. O CBC é considerado a principal doença de etiologia bacteriana na cultura do feijoeiro no Brasil (Miklas et al., 2003; Singh e Miklas, 2015; Ferreira e Junior, 2021).

No Brasil, o CBC foi identificado pela primeira vez no estado do Pará por Robbs (1954). Mais tarde, Kimati e Mascarenhas (1967) e Paradelo Filho et al. (1967) encontraram a doença no estado de São Paulo. A doença ocorre principalmente nos estados do Paraná, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e região Centro-oeste. A doença é prejudicial na safra das águas, devido as condições favoráveis ao desenvolvimento e disseminação do patógeno (Carneiro et al., 2015; Ferreira e Junior, 2021). Estima-se que as perdas de rendimento possam variar entre 10 e 70% (Díaz et al., 2001; Bianchini et al., 2005). No entanto, em pesquisa realizada por Simons et al. (2021), as perdas de produtividade causadas por doenças de plantas podem chegar a 100%, dependendo da agressividade do patógeno.

A portaria nº 3 de 5 de janeiro de 2004 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), considera *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* como praga não quarentenária e adota tolerância zero para a presença deste patógeno em lotes de sementes.

3.7. Sintomas do CBC

Os sintomas do CBC são observáveis em toda a planta, provocando lesões nas folhas, frutos, caule e o consequente desfolhamento, expondo os frutos ao sol. O resultado é a redução significativa na produção de frutos comercializáveis (Rezene et al., 2018, Belete e Bastas, 2017). Nas folhas, os sintomas se iniciam com a anasarca, que progride para lesões necróticas com halos cloróticos. As lesões podem estar esparsas no limbo, bem como na parte marginal, progredindo para o centro dos folíolos. Com o desenvolvimento da doença, as folhas podem ficar presas à planta ou destacarem-se. Nas vagens, as lesões variam em forma e tamanho. Inicialmente são circulares em anasarca, tornando-se necróticas de cor avermelhada. As sementes podem apresentar descoloração no hilo, manchas amarelas no tegumento (sementes de tegumento claro), enrugamento e

malformação. Em alguns casos, a infecção na semente é assintomática (Bianchini et al., 2005; Carneiro et al., 2015; Ferreira e Junior, 2021).

3.8. Etiologia do CBC

O gênero *Xanthomonas* compreende um grupo de bactérias fitopatogênicas Gram-negativas dentro da classe III Gammaproteobacteria (Saddler e Bradbury, 2005). A bactéria é descrita como baciliforme, possui um flagelo polar, estritamente aeróbia (Torres et al., 2009; Bedendo e Belasque, 2018). A doença é favorecida por temperaturas que variam de 20 a 30°C, elevada umidade (>90%), chuvas e ventos (Inoue-Nagata et al., 2016). Pertence ao gênero *Xanthomonas*, do qual faz parte um vasto número de fitopatógenos cosmopolitas, isto é, que atacam uma ampla gama de variedades de plantas, incluindo várias espécies agrícolas de interesse econômico, as infecções provocadas por espécies de *Xanthomonas* ocorrem em pelo menos 68 famílias de plantas monocotiledôneas e em mais de 240 gêneros (Hayward, 1993). As colônias bacterianas cultivadas em meio artificial são geralmente amarelas devido à presença de um pigmento nas membranas conhecido como xantomonadina, que as protege de dano oxidativo (He et al., 2014).

A utilização de sementes de qualidade deve ser prioridade na semeadura de todas as culturas, principalmente no cultivo do feijoeiro em que este material propagativo pode transportar um número significativo de patógenos potencialmente danosos para a cultura (Frare et al., 2002). A associação de patógenos com sementes constitui um dos aspectos de maior importância do ponto de vista sanitário, em razão das consequências danosas que esta interação pode produzir (Gadaga, Siqueira e Machado, 2018).

A disseminação pelas sementes, podem transportar o patógeno a longas distâncias e são importantes fontes primárias de inóculo, a bactéria pode sobreviver dentro da semente formando uma película que a protege de condições ambientais desfavoráveis. Pode sobreviver em restos vegetais e no solo, durante o impacto das gotas de chuva pode ser transportada para a parte aérea das plantas e entrar através de aberturas ou feridas naturais (Jacques et al., 2005; Ferreira e Junior, 2021). A água de chuva ou de irrigação por aspersão são eficientes disseminadores secundários e alguns insetos (Bianchini et al., 2005; Ferreira e Junior, 2021).

Wallen e Sutton (1965) verificaram, em Ontário, Canadá, que 0,5% de sementes contaminadas foi suficiente para iniciar a disseminação da doença. Posteriormente, Weller e Saettler (1980) demonstraram experimentalmente que uma população mínima de 10^3 e 10^4 ufc/mL de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* por semente contaminada externamente foi necessária para originar plantas doentes em condições de campo. Contaminações de 0,5% de sementes é suficiente para ocasionar séria epidemia na cultura em campo (Wendland et al., 2018).

Quanto a sobrevivência nas sementes, podem variar de 2 a 15 anos em estado hipobiótico tanto interna e externamente, sob condições adversas, sem perder a virulência (Schuster e Coyne, 1977, Torres e Maringoni, 2018). Em solo autoclavado umedecido, sobrevivem por dez dias e, em solo autoclavado seco, por 150 dias. Seu período de sobrevivência em restos culturais infectados no solo é variável em função das condições ambientais. O patógeno sobrevive em diversas plantas hospedeiras, principalmente espécies da Família *Solanaceae*, tais como: *Capsicum frutescens*, *Solanum melongena*, *Solanum tuberosum*, *Lycopersicon pimpinellifolium* e diversas plantas daninhas como *Datura stramonium*, *Hyoscyamus aureus*, *Hyoscyamus niger*, *Lycium chinense*, *Lycium halimifolium*, *Nicandra physaloides*, *Nicotiana rustica*, *Solanum dulcamara*, *Solanum nigrum* e *Solanum rostratum* (Jones et al., 1998). A sobrevivência nessas hospedeiras pode ocorrer de forma epífita, onde não há o desenvolvimento de sintomas visíveis (Bianchini et al., 2005; Stall et al., 2009; Inoue-Nagata et al., 2016).

Temperatura e umidade elevadas favorecem o desenvolvimento da doença. Sob condições controladas, plantas incubadas a 28°C desenvolveram os sintomas da doença após nove dias, enquanto naquelas submetidas a 20°C ou 16°C, os primeiros sintomas da doença foram observados, respectivamente, aos 23 e 27 dias após a inoculação (Bianchini et al., 2005; Ferreira e Junior, 2021).

3.9. Medidas de controle do CBC

O Crestamento Bacteriano Comum, representa um desafio significativo para a produção de feijão. Apesar das dificuldades no controle da doença, diversas estratégias podem ser utilizadas para minimizar seus impactos na lavoura. O Manejo Integrado de Pragas e Doenças (MIPD) é uma combinação de diferentes estratégias para reduzir a severidade do Crestamento Bacteriano Comum e aumentar a produtividade da lavoura. Além do uso de cultivares resistentes (Costa

et al., 2019), outras medidas importantes incluem a utilização de sementes certificadas e livres de patógenos; evitar o cultivo de feijão em áreas infestadas com a bactéria; o manejo cultural de adubação equilibrada, irrigação adequada e controle de insetos vetores.

O controle químico tem sido amplamente utilizado para controle de doenças fúngicas, porém para o Crestamento Bacteriano não há tratamento curativo (Yu et al., 2000), há produtos que podem ajudar a retardar o aparecimento de sintomas nas lavouras, como os a base de cobre (Wendland et al., 2016). O controle químico é eficaz apenas para a desinfestação da semente, mas não para a erradicação do patógeno, uma vez que o controle químico disponível geralmente é ineficaz e de alto custo econômico e ambiental (Maringoni, 1990). As práticas agrícolas de controle servem apenas para evitar a entrada do patógeno na área e diminuir a fonte de inóculo, mas sua erradicação é pouco provável devido aos métodos alternativos de sobrevivência da bactéria por longos períodos (Bianchini et al., 2005).

A estratégia de manejo de doenças mais eficaz, portanto, é a utilização de cultivares geneticamente resistentes, principalmente, para o cultivo em áreas com alto potencial de infestação do patógeno, podendo ainda ser utilizada com as demais medidas de controle. Além disso, é de fácil adoção pelos produtores agrícolas em razão de seu baixo custo, minimizando o uso indiscriminado de defensivos agrícolas e os impactos causados ao meio ambiente (Costa e Rava, 2003; Trindade et al., 2015).

3.10. Resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em *Phaseolus vulgaris* L.

O controle por melhoramento genético desse patógeno, tem sido realizado por meio da identificação e utilização de *Loci* de Caracteres Quantitativos distribuídos por todo o genoma, que se expressam sob influência do ambiente, pressão de seleção do patógeno, maturidade e tecido da planta (Santos et al., 2003; Kelly et al., 2003; Miklas et al., 2006). Desta forma, a avaliação da resistência do feijoeiro ao CBC se faz necessária tanto em fase vegetativa quanto na fase reprodutiva (Zapata et al., 1985; Trindade et al., 2012; Santos et al., 2014).

A resistência do feijoeiro ao CBC tem sido reportada como geneticamente complexa, sendo oligogênica ou poligênica (Kelly et al., 2003; Santos et al., 2003; Manzanera et al., 2005). A arquitetura genética do CBC envolve genes menores, já foram identificados 25 *loci* associados à resistência de efeitos menores em todo o genoma do feijão-comum (Simons et al., 2021).

A cultivar Montcalm foi uma das pioneiras conferindo resistência ao CBC, apresenta QTL ligado ao marcador SAP6, em Pv10 (Viteri, 2014). Uma das principais fontes de resistência ao CBC é a cultivar G.N. Nebraska n°1 sel. 27, que apresenta uma baixa porcentagem de sementes colonizadas por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* - Xap (Maringoni et al., 1993).

Os marcadores mais utilizados para seleção assistida e desenvolvimento de cultivares resistentes ao CBC são *BC420*, e *SAP 6* e, em especial, o *SU91* ligado a QTLs que conferem resistência ao CBC localizados nos cromossomos Pv05 e Pv08 (Pedraza et al., 1997; Perry et al., 2013). Kelly et al. (2003) e Manzanera et al. (2005) indicaram a existência de mais de 20 QTLs relacionados à resistência ao CBC, com efeitos genéticos variáveis e distribuídos por todos os 11 cromossomos do feijoeiro. Singh e Miklas (2015), encontraram mais dois QTLs, identificados em Pv05 *SU91* (Perry et al., 2013) e Pv11 *Xa11.4* (Viteri et al., 2015).

Em um estudo conduzido por Santo et al. (2003) foram utilizados 143 marcadores RAPD, em plantas F₃ do cruzamento do genótipo resistente BAC-6 e o genótipo suscetível HAB-52. Neste estudo foi possível identificar cinco QTLs em folhas, e um QTL de resistência em vagens, localizado em um grupo de ligação distinto, portanto comprovando que os genes que controlam a herança para resistência em folhas não são os mesmos que controlam os genes de resistência nas vagens.

Pesquisa conduzida por Barbosa et al. (2022), na qual, genotiparam um painel de 149 cultivares de feijão-carioca, permitiu identificar 1.616 SNPs para avaliar a resistência ao CBC. Foi identificado SNP no cromossomo Pv07, considerando um intervalo de confiança de 100 kb e a anotação funcional identificou 13 genes candidatos associados à defesa.

Shi et al. (2011) testaram 395 linhagens de feijão e encontraram doze SNPs para resistência ao CBC. Ambachew et al. (2021) detectaram 14 SNPs significativos associados ao CBC, localizados nos cromossomos Pv02, Pv04, Pv08, Pv10 e Pv11. Simons et al. (2021) avaliaram 852 genótipos de feijão do BAG do

North Dakota State University e 41.998 SNPs e 30.285 SNPs foram usados em GWAS para os *pools* genéticos da América Central e dos Andes, respectivamente, foram identificadas oito regiões, incluindo seis previamente mapeadas e dois novos *loci* Pv11 e Pv10.

3.11. Marcadores moleculares

Pesquisas envolvendo os marcadores moleculares no melhoramento vegetal surgiram a partir da década de 80 (Soller e Beckmann, 1983). Sendo caracterizado como qualquer caráter visível ou um fenótipo molecular proveniente de um segmento específico de DNA, que pode ser expresso ou não (Sansaloni, 2012). Os segmentos de DNA podem estar fisicamente ligados a *locus* responsáveis por alguma característica de interesse (Faleiro, 2007) e que permitem a distinção de indivíduos geneticamente diferentes (Borém e Carneiro, 2015).

Os principais tipos de marcadores moleculares utilizados são os Microssatélites (SSR – *Simple Sequence Repeats*) conhecidos também como *Short Tandem Repeats* (STRs) ou *Simple Sequence Length Polymorphism* (SSLP), são repetições em tandem de um a seis nucleotídeos que podem ser classificados de acordo com seu tamanho e o tipo de unidade de repetição (Litt e Luty, 1989); ISSR (*Inter Single Sequence Repeats*) é uma técnica baseada em SSR em que a amplificação é realizada com um único iniciador consistindo em várias repetições e ancorado geralmente com dois a quatro nucleotídeos arbitrários (Zietkiewicz et al., 1994); SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) podem ser originados de mutações pontuais no DNA como as transições e transversões. Alguns autores consideram Indels (adição de nucleotídeos extras ou a exclusão de um nucleotídeo) (Kahl et al., 2005); AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*). Essa classe de marcadores é baseada na associação dos polimorfismos gerados por enzimas de restrição com posterior amplificação por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (Vos et al., 1995). A diferença entre os tipos de marcadores moleculares está na tecnologia utilizada para detectar o polimorfismo, mostrando a dissimilaridade entre os indivíduos.

Enquanto um sequenciador capilar é capaz de processar até 96 fragmentos por vez, os sequenciadores de nova geração podem ler até bilhões de fragmentos ao mesmo tempo. Portanto, com o desenvolvimento do sequenciamento de nova geração, surgiu o conceito de *genotype by sequencing* (GBS), viabilizando a

detecção de um elevado número de SNPs. Por apresentar características de alta densidade de SNPs detectados, elevado polimorfismo, e a facilidade de utilização, muitos pesquisadores e grandes programas de melhoramento têm visado pela sua utilização em estudos de mapeamento (Deschamps et al., 2012; Schröder et al., 2016; Simons et al., 2021; Barbosa et al., 2022).

3.12. Marcador de polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs - *Single Nucleotide Polymorphism*)

Os SNPs são amplamente distribuídos no genoma e ocorrem variações em um único nucleotídeo (adenina, timina, citosina ou guanina) em uma determinada posição no DNA, dando origem a diferentes alelos, caracterizando assim os diferentes indivíduos (Jayakanthan et al., 2019). Essas alterações podem ser causadas por uma mutação ou *indels* que são inserção ou exclusão de bases no genoma (*insertions or deletions*) (Nadeem et al., 2018).

Os SNPs são uma forma abundante de variação do genoma, herdado como marcadores codominantes e presentes na população com frequência alélica igual ou superior a 1% (Yao et al., 2018; Jayakanthan et al., 2019). Os SNPs são bi alélicos e são encontradas apenas duas variantes em uma espécie (Ex: um alelo corresponde a um par de bases A/T e o outro a um G/C) (Brookes, 1999).

As mutações mais comuns são as transições, trocas entre purinas (A/G) ou pirimidinas (C/T) constituem 67% dos SNPs. Ocorrem com menor frequência as transversões que é a troca de uma purina por uma pirimidina (C/T por A/G). As mutações transicionais são mais comuns do que as mutações transversais porque as purinas e as pirimidinas são estruturalmente semelhantes. Isso torna mais provável que uma purina seja substituída por outra purina ou uma pirimidina seja substituída por outra pirimidina (Mangabeira-Silva et al., 2020).

Os SNPs podem ocorrer em regiões codificadoras ou com função regulatória, porém, na maior parte das vezes são encontrados em espaços intergênicos, sem função determinada (Edwards et al., 2007; Patel et al. 2015). Portanto, os SNPs podem estar localizados em diferentes regiões do genoma. Em regiões codificantes, os SNPs podem resultar na troca de bases que não alteram o aminoácido codificado (SNP sinônimo), ou na troca do aminoácido codificado (SNP não sinônimo). Os SNPs não sinônimos podem ser divididos em dois tipos: missense e nonsense. Os SNPs missense são aqueles em que a alteração de um

único nucleotídeo resulta em um códon que codifica um aminoácido diferente. Os SNPs nonsense são aqueles em que a alteração do nucleotídeo passa a codificar um códon de terminação, o que resulta na interrupção da síntese da proteína (Patel et al. 2015; Sukhumsirichart, 2018). Em plantas a frequência de SNPs tende a ser maior em regiões não codantes (Ching et al. 2002; Huang e Han 2014).

A construção de mapas genéticos de marcadores SNPs e estudos de associação genômica ampla, são amplamente úteis para identificar características genéticas de interesse que podem ser aplicados aos programas de melhoramento de plantas (Torkamaneh e Belzile 2015; Alqudah et al., 2020; Delfini et al., 2021; Ariyoshi et al., 2022). Por meio do sequenciamento de baixa a média cobertura, é possível identificar SNPs distribuídos por todo o genoma de plantas de uma mesma população, por um custo aproximado de 20 dólares por amostra utilizando a técnica de genotipagem por sequenciamento (Torkamaneh et al., 2018).

3.13. Genotipagem por sequenciamento (*Genotyping by Sequencing* - GBS)

O GBS usa tecnologias de sequenciamento para descobrir milhares de polimorfismos de nucleotídeo único para mapeamento (He et al., 2014). O mapeamento de associação usando populações grandes, diversas e coleções densas de SNPs pode identificar novos QTLs, confirmar QTL anteriores e reduzir o intervalo necessário para a identificação do gene candidato (Hyten et al., 2010; Song et al., 2015).

A metodologia da genotipagem por sequenciamento foi desenvolvida pelo grupo do pesquisador Robert J. Elshire na Universidade de Cornell em 2011, com seu desenvolvimento, hoje é possível identificar centenas de milhares de SNPs no genoma (Elshire et al., 2011). A tecnologia é proveniente da metodologia RADseq – *Restriction-site associated DNA sequencing* (Elshire et al., 2011; Marrano et al., 2017). O GBS é uma técnica altamente multiplicável, robusta, de alto rendimento, econômica e simples para obter milhares de marcadores de muitos indivíduos, sendo adequada para estudos populacionais e caracterização de germoplasma (Davey et al., 2011).

O GBS consiste em algumas etapas como a extração de DNA; clivagem com enzimas de restrição; ligação de adaptadores nas extremidades dos fragmentos clivados; PCR com todas as amostras; sequenciamento dos fragmentos amplificados e análises de bioinformática para a detecção de SNPs utilizando

softwares específicos (Elshire et al., 2011; Davey et al., 2011). Os dados brutos obtidos por meio de GBS podem ser reanalisados, permitindo obter novas informações genóticas do mesmo indivíduo genotipado (Poland e Rife, 2012).

O sequenciamento completo do genoma de *P. vulgaris* (Schmutz et al., 2014) permitiu a realização de pesquisas relacionadas ao GWAS em espécies de feijão usando dados SNP gerados por GBS. Vários estudos têm sido conduzidos para avaliação de características agronômicas, de qualidade alimentar e de resistência a doenças (Zuiderveen et al., 2016; Soltani et al., 2017; Zitnick-Anderson et al., 2020) com GWAS, tornando uma ótima ferramenta para mapear genes e encontrar novas fontes de variabilidade genética para incorporar em programas de melhoramento.

3.14. Estudo de associação genômica ampla (GWAS – *Genome wide association study*)

Meuwissen et al. (2001) propõem a técnica de seleção genômica ampla tornando-se uma ferramenta consolidada e promissora. Essa metodologia tem sido empregada para aumentar a eficiência e acelerar o melhoramento genético. A seleção genômica ampla tornou-se capaz de encurtar o intervalo de geração, reduzir o custo por ciclo e economizar custos de mão de obra (Wang et al., 2018). O GWAS consiste na predição simultânea dos efeitos genéticos de grande número de marcadores genéticos dispersos em todo o genoma de um organismo, de forma a capturar os efeitos de todos os *loci*, de pequenos e grandes efeitos, e explicar grande parte da variação genética de um caráter quantitativo e qualitativo (Meuwissen et al., 2001).

O mapeamento associativo, também conhecido como mapeamento por DL, é um método estatístico que identifica regiões do genoma que estão associadas a uma característica fenotípica de interesse. Esse método é baseado na análise da associação entre marcadores genéticos e a característica fenotípica (Resende et al., 2014).

O desequilíbrio de ligação (DL) é caracterizado como uma associação não aleatória de alelos de diferentes *loci* em uma população, isto é, a ocorrência de gametas com frequências diferentes daquelas esperadas sob segregação independente (Hedrick, 2010). Ou seja, de acordo com a lei de equilíbrio de Hardy-Weinberg, o DL é definido como qualquer desvio nas frequências alélicas

esperadas sob o cruzamento ao acaso Hardy (1908) e Weinberg (1908). Os eventos de recombinação que ocorreram na população determinam a taxa de decaimento do DL (Huang e Han 2014).

Pesquisas usando GWAS buscam estimar quantos e quais os QTNs responsáveis pela variação nas características fenotípicas, localizar sua posição no genoma e estimar seus efeitos (Wei et al., 2016). Uma vantagem é que o efeito ambiental é minimizado, tendo em vista que a população apresenta indivíduos independentes (Abdurakhmonov e Abdukarimov, 2008). A desvantagem é que o marcador poderá estar longe do gene alvo (Aranzana et al., 2005).

O GWAS se divide em duas metodologias, a de genes candidatos (*candidate genes*) que se restringe a regiões específicas do genoma (Gebhardt, 2007) e a análise do genoma como um todo (*whole genome scanning*), que busca associação entre marcadores e a característica de interesse em todo o genoma e todos os genes são avaliados simultaneamente, necessitando de uma cobertura maior de marcadores e DL (Zhu et al., 2008).

Muitas pesquisas envolvendo GWAS usando SNPs na cultura do feijão tem sido abordada, sendo capaz de identificar a herança da resistência a doenças em plantas (Uffelman et al., 2021): resistência ao patossistema feijoeiro - antracnose e mancha angular (Perseguinte et al., 2016); resistência ao patossistema feijoeiro – *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Shi et al., 2011; Simons et al., 2021; Barbosa et al., 2022); e pesquisas relacionadas a conteúdo mineral (Delfini et al., 2021). Barbosa et al. (2022) estudaram 149 cultivares de feijão-comum, 1.616 SNPs foram avaliados para CBC visando identificar QTLs. A análise GWAS utilizando o modelo BLINK identificou um SNP no cromossomo Pv07. Considerando um intervalo de confiança de 100 kb, a anotação genética identificou 13 genes candidatos relacionados a genes associados à defesa. Simons et al. (2021) estudaram um total de 852 genótipos. Estes foram testados para GWAS com intuito de identificar genes candidatos associadas à resistência ao CBC. Foram filtrados 41.998 SNPs para o *pool* genético da América Central e 30.285 SNPs Andino. Foram identificadas duas novas regiões associadas à resistência CBC que estão localizados em Pv10:22,91–23,36 e Pv11:52,4. Uma lipoxigenase-1 no Pv10 emergiu como um gene candidato para resistência ao CBC. Zia et al. (2022) realizaram GWAS para identificar marcadores SNP associados à resistência em três isolados de *Curtobacterium laccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em 168 genótipos de feijão-comum. Estes autores

identificaram 14 SNP associados à resistência, usando modelos lineares mistos MLMs. Esses SNPs foram localizados em cromossomos Pv02, Pv04, Pv07, Pv08 e Pv09.

Para que possa ser realizado com excelência, o mapeamento por associação requer a seleção de um painel de germoplasma com grande diversidade genética, sendo necessário fenotipar esse painel para alguma característica de interesse, bem como a genotipagem dos indivíduos com alta densidade de marcadores. Também deve ser aferida a quantificação da extensão do LD no genoma da população, e assim avaliar o nível de diferenciação genética entre grupos dentro do painel de indivíduos amostrados e o coeficiente de parentesco entre pares de indivíduos dentro de uma amostra. Após essas etapas, deve-se levar em consideração as informações obtidas através da quantificação de LD e da estrutura da população para a correlação de dados fenotípicos e genotípicos com a aplicação estatística apropriada (Abdurakhmonov e Abdukarimov, 2008).

3.15. Métodos de associação Single-locus e Multi-locus

Os métodos de GWAS, para associar o marcador à característica alvo, podem ser de modelo single-locus ou modelos multi-locus. O modelo single-locus usa o modelo linear generalizado (GLM - *Generalized Linear Model*), que foi proposto para a análise genética de características qualitativas, este utiliza apenas a PCA para corrigir a estrutura populacional (Price et al., 2006). No modelo linear misto (*MLM – Mixed Linear Model*) ocorre varreduras unidimensionais no genoma, em que é avaliada a significância da associação marcador-característica considerando um marcador por vez. Este método usa informações de estrutura genética populacional (matriz Q) e da relação de parentesco (matriz K) entre os indivíduos da população. No entanto, tanto a matriz Q como a matriz K podem ser usadas separadamente ou adicionadas em conjunto, esses ajustes devem ser empregados para uma melhor associação (Yu et al., 2006; Bradbury et al., 2007). Embora o poder estatístico da detecção de QTNs melhore após o controle do *background* poligênico, a maioria dos pequenos efeitos associados a características complexas ainda não são capturados pelos métodos GWAS de single-locus (Lan et al., 2020).

Para reduzir associações de falso-positivo, resultando em associações significativas, é usado um rigoroso teste de correção de múltiplos testes por Bonferroni. A correção de Bonferroni é amplamente utilizada para modificar o valor limite para controlar a taxa de falsos positivos (FPR). No entanto, este tipo de método de correção é tão restritivo que os verdadeiros QTNs podem ser eliminados (Lan et al., 2020). Portanto, a melhor maneira de resolver este problema é utilizar um método GWAS multi-locus que não requeira correção de múltiplos testes. Os métodos GWAS multi-locus envolvem uma varredura genômica multidimensional, na qual os efeitos de todos os marcadores são estimados simultaneamente (Cui, et al., 2018).

Portanto, a abordagem do uso de modelos multi-locus, resulta objetivando sanar a deficiência do modelo single-locus e reduzir o tempo de execução dessas análises. O programa R, utilizando o pacote mrMLM.GUI, inclui os seguintes métodos: a) o método mrMLM, é um modelo linear misto de efeito aleatório de marcador único usado para identificar os marcadores potencialmente associados. São selecionados os marcadores que apresentam valor de $p < 0,01$. Além disso, para reduzir o efeito da colinearidade, são eliminados os marcadores consecutivos com valor de p até 0,01 (Wang et al., 2016); b) o FASTmrMLM, é semelhante ao mrMLM, mas utiliza transformação de matrizes e identidades para selecionar os marcadores na primeira etapa, portanto realiza a seleção mais rapidamente que o mrMLM (Tamba e Zhang, 2018); c) o FASTmrEMMA multi-locus de efeito aleatório do SNP (Zhang et al., 2020); d) o pKWmEB baseado no teste de Kruskal-Wallis com Bayesiana empírico sobre controle de *background* poligênico (Zhang et al., 2020); e) o pLARmEB cujo algoritmo de regressão de menor ângulo (LAR) é usado para selecionar os marcadores potencialmente associados. Neste método, enquanto os marcadores em um cromossomo são adicionados a um modelo multi-locus, os marcadores dos outros cromossomos são usados para calcular a matriz K para controlar o *background* poligênico (Zhang et al., 2017). Já o método f) ISIS EM-BLASSO, utiliza uma abordagem Bayesiana para a identificação de associações, a primeira etapa tem duas fases de triagem: uma usando o método iterativo de triagem de independência segura (ISIS) e outra usando o método de desvio absoluto suavemente recortado (SCAD) (Tamba et al., 2017). Essas abordagens foram propostas, com a vantagem de que a correção de Bonferroni para múltiplos testes não é necessária.

O pacote mrMLM.GUI resolve o problema associado à seleção de cofatores no modelo GWAS multi-locus quando há muitos marcadores. Todos esses métodos envolvem algoritmos de duas etapas. Durante a primeira etapa um método GWAS de single-locus é aplicado para escanear todo o genoma $p \leq 0,005$. Durante a segunda etapa, todos os supostos QTNs selecionados são examinados por um modelo GWAS multi-locus para detectar QTNs verdadeiros (Chang et al., 2018).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Localização, Germoplasma e Delineamento experimental

O experimento para avaliação da resistência dos genótipos a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em folhas de feijoeiro foi realizado em casa de vegetação de vidro, pertencente ao Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná), Londrina, Paraná, Brasil. As temperaturas médias dentro da casa de vegetação para os experimentos foram de 33 e 26°C para o primeiro e segundo experimento, respectivamente. Já as temperaturas máximas foram de 45°C para o primeiro experimento e 33°C para o segundo experimento. E as temperaturas mínimas foram de 24°C para o primeiro experimento e 17°C para o segundo experimento.

Foram avaliados 126 genótipos de feijões do Banco de Germoplasma de feijão do IDR-Paraná do tipo mesoamericano. O banco é constituído por genótipos provenientes de diferentes instituições de pesquisa, como a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), o Instituto Agronômico de Campinas (IAC), o Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IAPAR-EMATER (IDR-Paraná), a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Santa Catarina (EPAGRI), e as universidades como a Universidade Federal de Lavras (UFLA) e a Universidade Federal de Viçosa (UFV). Algumas empresas privadas de melhoramento de feijão são a FT Pesquisa e

Sementes, a Terra Alta Agropecuária (TAA) e a Sementes Agronorte, contendo linhagens, raças locais e linhas endogâmicas de programas de melhoramento genético (Tabela 2). A cultivar de feijão-de-vagem Alessa da Embrapa, foi incluída como padrão de suscetibilidade na avaliação da reação ao CBC.

O experimento da avaliação da reação ao CBC em folhas foi conduzido sob o delineamento em blocos ao acaso (DBC) contendo quatro repetições, com uma planta por parcela. A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido com 128 células, contendo substrato organovegetal. Após sete dias as mudas foram transplantadas para vaso de cinco litros. O experimento foi realizado em duas épocas distintas. O primeiro experimento teve início em outubro de 2021 e o segundo em março de 2022, em ambos foram realizadas avaliações para a resistência ao CBC em folha. A irrigação foi realizada no solo em dois turnos diariamente. Os demais tratos culturais foram realizados segundo as recomendações para a cultura do feijoeiro (Figura 1).



Figura 1. Implantação do experimento de avaliação da resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas e vagens de genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. em casa de vegetação do IDR-Londrina, PR. IDR-PR, Londrina – PR, 2024.

Tabela 2. Dados de passaporte dos 126 genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. do pool gênico mesoamericano pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma do IDR-PR para estudar a associação genômica ampla para identificar genes de resistência ao Crestamento Bacteriano Comum. IDR-PR, Londrina – PR, 2024.

Código	Nome	Grupo	Instituição	Tipo
GEN12	Aporé	Cultivar	EMBRAPA	Carioca
GEN13	BRS_Ametista	Cultivar	EMBRAPA	Carioca
GEN20	BRS_FC402	Cultivar	EMBRAPA	Carioca
GEN21	BRS_FP403	Cultivar	EMBRAPA	Preto
GEN23	BRS_Horizonte	Cultivar	EMBRAPA	Carioca
GEN24	BRS_Notável	Cultivar	EMBRAPA	Carioca
GEN25	BRS_Pitanga	Cultivar	EMBRAPA	Roxo
GEN27	BRS_Requinte	Cultivar	EMBRAPA	Carioca
GEN28	BRS_Supremo	Cultivar	EMBRAPA	Preto
GEN29	BRS_Valente	Cultivar	EMBRAPA	Preto
GEN31	BRSMG_Pioneiro	Cultivar	EMBRAPA	Carioca
GEN33	Bambuí	Cultivar	EMBRAPA	Creme
GEN34	Guapo_Brilhante	Cultivar	EMBRAPA	Preto
GEN35	Macanudo	Cultivar	EMBRAPA	Preto
GEN36	Minuano	Cultivar	EMBRAPA	Preto
GEN37	Ouro_Negro	Cultivar	UFV/EPAMIG	Preto
GEN38	Pérola	Cultivar	EMBRAPA	Carioca
GEN39	Rudá	Cultivar	EMBRAPA	Carioca
GEN40	Safira	Cultivar	EMBRAPA	Vermelho
GEN41	FT_120	Cultivar	FTSementes	Preto
GEN42	FT_NOBRE	Cultivar	FTSementes	Preto
GEN43	FT_41	Cultivar	FTSementes	Preto
GEN46	IAC_Akitã	Cultivar	IAC	Carioca
GEN47	IAC_Alvorada	Cultivar	IAC	Carioca
GEN48	IAC_Carioca	Cultivar	IAC	Carioca
GEN51	IAC_Imperador	Cultivar	IAC	Carioca
GEN52	IAC_Milênio	Cultivar	IAC	Carioca
GEN55	IAC-Carioca_Aruã	Cultivar	IAC	Carioca
GEN56	IAC-Carioca_Pyatã	Cultivar	IAC	Carioca
GEN58	IAC-Maravilha	Cultivar	IAC	Preto
GEN61	RAI_214	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN62	IAPAR_57	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN63	IAPAR_65	Cultivar	IAPAR	Preto
GEN64	IAPAR_14	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN66	IAPAR_31	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN67	IAPAR_72	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN68	IAPAR_80	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN69	IAPAR_81	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN70	IPR_139_Juriti_Claro	Cultivar	IAPAR	Carioca

Tabela 2. Cont.

Código	Nome	Grupo	Instituição	Cor
GEN72	IPR_Bem-te-vi	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN73	IPR_Campos_Gerais	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN74	IPR_Celeiro	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN75	IPR_Chopim	Cultivar	IAPAR	Preto
GEN77	IPR_Corujinha	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN78	IPR_Curió	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN82	IPR_Juriti	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN84	IPR_Nhambu	Cultivar	IAPAR	Preto
GEN85	IPR_Quero-quero	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN88	IPR_Siriri	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN89	IPR_Tangará	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN90	FEB200	Linhas	CIAT	Carioca
GEN91	IPR_Tuiuiú	Cultivar	IAPAR	Preto
GEN92	IPR_Uirapuru	Cultivar	IAPAR	Preto
GEN94	Rio_Iguaçu	Cultivar	IAPAR	Preto
GEN95	Rio_Negro	Cultivar	IAPAR	Preto
GEN98	Rio_Tibagi	Cultivar	IAPAR	Preto
GEN99	Rio_Vermelho	Cultivar	IAPAR	Roxo
GEN100	Rio_Doce	Cultivar	IAPAR	Carioca
GEN101	Gordo	Cultivar	IPA	Creme
GEN102	HF_465.63.1	Cultivar	IPA	Creme
GEN104	IPA_10	Cultivar	IPA	Preto
GEN107	IPA_74-19	Cultivar	IPA	Creme
GEN109	Princesa	Cultivar	IPA	Carioca
GEN112	TAA_Gol	Cultivar	UEM	Carioca
GEN114	Flor_Diniz	Cultivar	UFV	Carioca
GEN115	Rico23	Cultivar	Agristar	Preto
GEN118	ICA_Pijão	Cultivar	IAC	Preto
GEN119	ICA_Quetzal	Cultivar	IAC	Preto
GEN120	ICA_Tui	Cultivar	IAC	Preto
GEN122	Emgopa_Ouro	Cultivar	CIAT	Creme
GEN123	A775	Linhas	CIAT	Creme
GEN125	AETE2	Cultivar	IAC	Creme
GEN126	ARC1	Linhas	CIAT	Preto
GEN127	ARC2	Linhas	CIAT	Preto
GEN128	BAT1215	Linhas	CIAT	Vermelho
GEN131	BAT451	Linhas	CIAT	Preto
GEN132	BAT58	Linhas	CIAT	Preto
GEN136	Black_Hawk	Cultivar	CENA/USP	Preto
GEN138	Carioca1070	Linhas	CIAT	Carioca
GEN139	DOR191	Linhas	CIAT	Vermelho

Tabela 2. Cont.

Código	Nome	Grupo	Instituição	Cor
GEN140	DOR351	Linhas	CIAT	Roxo
GEN141	DOR365	Linhas	CIAT	Carioca
GEN144	DOR483	Linhas	CIAT	Vermelho
GEN148	EMP250	Linhas	CIAT	Carioca
GEN149	ESAL583	Linhas	CIAT	Carioca
GEN150	FEB149	Linhas	CIAT	Creme
GEN151	FEB151	Linhas	CIAT	Creme
GEN153	FEB159	Linhas	CIAT	Creme
GEN154	G1261	Linhas	CIAT	Vermelho
GEN155	G14866	Linhas	CIAT	Preto
GEN156	G17666	Linhas	CIAT	Amarelo
GEN157	G18141	Linhas	CIAT	Branco
GEN160	G3593	Linhas	CIAT	Vermelho
GEN161	G4002	Linhas	CIAT	Carioca
GEN163	G5285	Linhas	CIAT	Vermelho
GEN169	MUS49	Linhas	CIAT	Vermelho
GEN170	MUS80	Linhas	CIAT	Vermelho
GEN171	NAB87	Linhas	CIAT	Preto
GEN172	NEP171	Linhas	CIAT	Preto
GEN174	Porrillo_Sintético	Cultivar	CIAT	Preto
GEN175	RIZ57	Linhas	CIAT	Carioca
GEN183	XAN206	Linhas	CIAT	Preto
GEN184	XAN236	Linhas	CIAT	Preto
GEN193	LP16243	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN197	LP16521	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto
GEN198	LP16575	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto
GEN199	LP16752	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto
GEN200	LP13343=55	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN203	LP12601	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto
GEN204	LP13379	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN205	LP15293	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN206	LP15323	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN207	LP15366	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN208	LP15433	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN209	LP1635	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN210	LP1679	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN211	LP15645	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto
GEN213	LP15842	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto
GEN215	LP15895	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto
GEN217	LP0754	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto
GEN218	LP0796	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca

Tabela 2. Cont.

Código	Nome	Grupo	Instituição	Cor
GEN219	LP08112	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN220	LP08176	Linhas	IAPAR_Linhas	Carioca
GEN225	LP0826	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto
GEN227	LP0879	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto
GEN228	LP09183	Linhas	IAPAR_Linhas	Preto

4.2 Preparo do inóculo bacteriano - *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*

Para avaliar a resistência ao Crestamento Bacteriano Comum (CBC), foi utilizado o isolado Xap 139-y de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, proveniente da coleção bacteriana do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). O isolado Xap 139-y foi preparado em câmara de fluxo, usando o meio DYGS (*Dextrose Yeast Glucose and Sucrose*), composto por 2 g de glicose, 1,5 g de peptona, 2 g de extrato de levedura, 0,5 g de KH₂PO₄·7H₂O, 0,5 g de MgSO₄·7H₂O, 1,5 g de ácido glutâmico e 18 g de ágar, com pH ajustado para 7,0, em um litro de água deionizada e autoclavada. O isolado foi incubado em estufa bacteriológica a 26°C por 36 horas, conforme metodologias descritas em estudos anteriores (Rodrigues Neto et al., 1986; Rodrigues et al., 1999; Souza et al., 2008; Trindade et al., 2015). Posteriormente, as colônias formadas foram suspensas em água esterilizada, ajustando a concentração para 10⁷ UFC/mL com o suporte de um espectrofotômetro (640 nm e 0,460 de absorbância). Para preservar a viabilidade das células bacterianas até o momento da inoculação, a suspensão foi armazenada em caixas de poliestireno expandido resfriadas, baseando-se em protocolos previamente validados (Arnaud-Santana et al., 1994; Rodrigues et al., 1999; Ferreira et al., 2004; Trindade et al., 2015) (Figura 2).

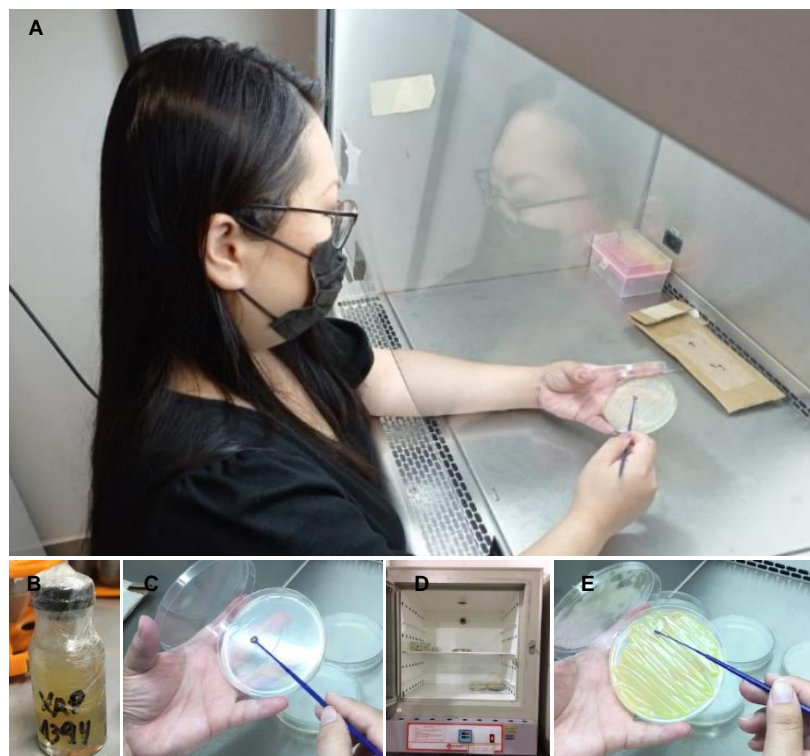


Figura 2. Preparo do isolado bacteriano de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. A - fluxo laminar, B – isolado Xap 139-y, C – crescimento bacteriológico, D – meio com DYGS com colônias de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* incubadas em estufa bacteriológica, E – colônias bacterianas de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. UEL, Londrina – PR, 2024.

4.3 Inoculação da suspensão bacteriana em folhas

A inoculação das plantas de feijão para avaliar a resistência ao Crestamento Bacteriano Comum foi realizada durante o estágio vegetativo V3-V4. Para tal, um trifólio de cada planta, previamente marcado com fios de lã coloridos para facilitar a identificação, foi submetido ao método de inoculação por corte com auxílio de tesoura, utilizando uma concentração bacteriana de 10^7 UFC/mL. Esse procedimento consistiu na esterilização de uma tesoura, seguida pela imersão de aproximadamente um centímetro da ponta da tesoura na suspensão bacteriana. Em seguida, foram feitos dois cortes paralelos de um centímetro cada, ao longo da margem mediana do folíolo, introduzindo aproximadamente 0,1 mL da suspensão em cada folíolo (Andrus, 1948). Para o controle negativo como testemunha, um segundo trifólio de cada planta foi inoculado com água deionizada esterilizada, empregando a mesma técnica de inoculação (Figura 3).

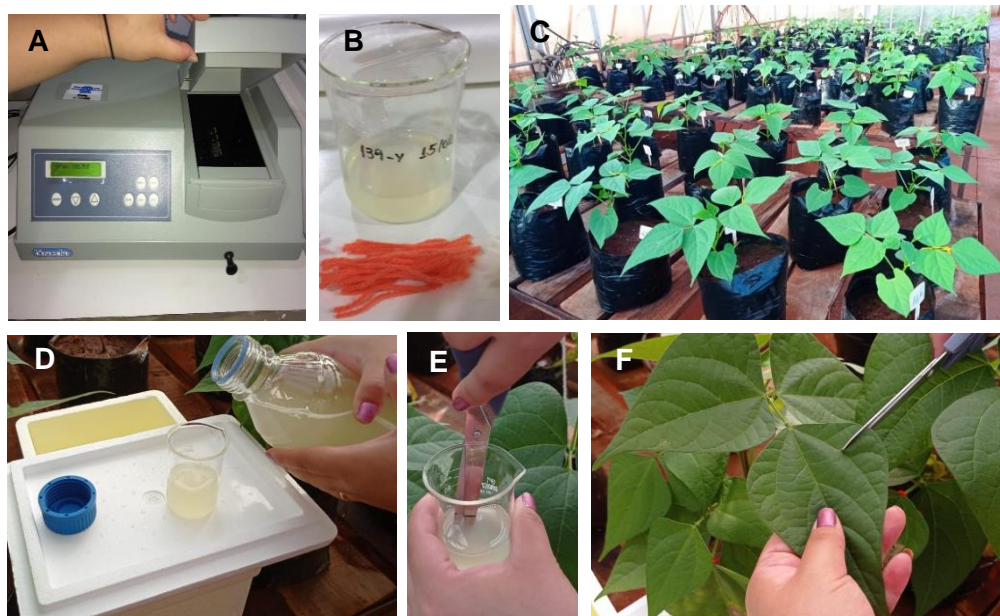


Figura 3. Etapas da inoculação em folhas de *Phaseolus vulgaris* L. com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. A – Ajuste da concentração do inóculo em espectrofotômetro, B – concentração da suspensão bacteriana em 10^7 UFC/mL⁻¹, C – inoculação em folíolos de feijão aos 20 dias após a semeadura, D – conservação do inóculo em caixa de poliestireno expandido, E – método de inoculação por auxílio de tesoura, F – inoculação em folíolos por dois cortes de um centímetro equidistantes. UEL, Londrina - PR, 2024.

4.4. Inoculação em vagens

As vagens foram inoculadas em frutos não destacados, vinte dias após a antese, pelo método de inoculação por meio da punção com uma agulha entomológica esterilizada e previamente umedecida em cultura bacteriana em três vagens de cada planta, com três furos entre os vãos das sementes. Para o controle negativo foi efetuado ferimentos entre as sementes de uma vagem por planta com apenas a agulha entomológica esterilizada. As vagens foram identificadas usando fios de lã coloridas (Santos, 2013). Após sete dias as vagens foram colhidas e mensuradas as lesões com auxílio de paquímetro.

4.5. Avaliação da reação ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas

A quantificação da suscetibilidade dos genótipos de feijão ao Crestamento Bacteriano Comum (CBC), em folha, foi efetuada por meio de avaliação visual, utilizando uma escala de severidade da doença que varia de um a cinco. Esta

escala é detalhada da seguinte maneira: 1 representa alta resistência, evidenciada pela ausência de lesões; 2 indica resistência, com necrose afetando de 1 a 5% da área foliar; 3 denota resistência moderada, com 6 a 25% de necrose; 4 classifica como suscetível, com 26 a 50% de necrose; e 5 caracteriza alta suscetibilidade, com mais de 50% da área foliar apresentando necrose (Figura 4).



Figura 4. Escala de notas para determinação do grau de severidade quanto à reação a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em folhas de feijoeiro inoculadas pelo método de inoculação por corte com auxílio de tesoura à concentração de 10^7 UFC/mL. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024.

A primeira avaliação ocorreu 24 horas após a inoculação do patógeno, seguida de avaliações diárias que continuaram por 16 dias no primeiro ensaio e 20 dias no segundo, conforme metodologia estabelecida por Pastor-Corrales et al. (1981). Para uma avaliação compreensiva da progressão da doença nos genótipos avaliados, os dados obtidos nas avaliações diárias foram empregados no cálculo da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Esta análise foi realizada seguindo a formulação matemática proposta por Shaner e Finney (1977), fornecendo uma medida quantitativa da intensidade com que cada genótipo foi afetado pelo patógeno ao longo do tempo.

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{x_i + x_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Onde:

n = o número de observações;

x_i = a severidade da doença na “ i ”-ésima observação;

t_i = o tempo em dias na “ i ”-ésima observação.

4.6. Avaliação da reação ao Crestamento Bacteriano Comum em vagens de feijoeiro

Para a avaliação da reação dos genótipos ao CBC em vagens foi realizada apenas uma avaliação ao sétimo dia após a inoculação, as vagens foram destacadas no sétimo dia e aferidas quanto ao tamanho da lesão com o auxílio de um paquímetro.

A severidade do CBC em vagens foi quantificada, usando como referência uma escala de severidade baseada no diâmetro da lesão (Pastor-Corrales et al., 1981) (Figura 5 e Tabela 3).

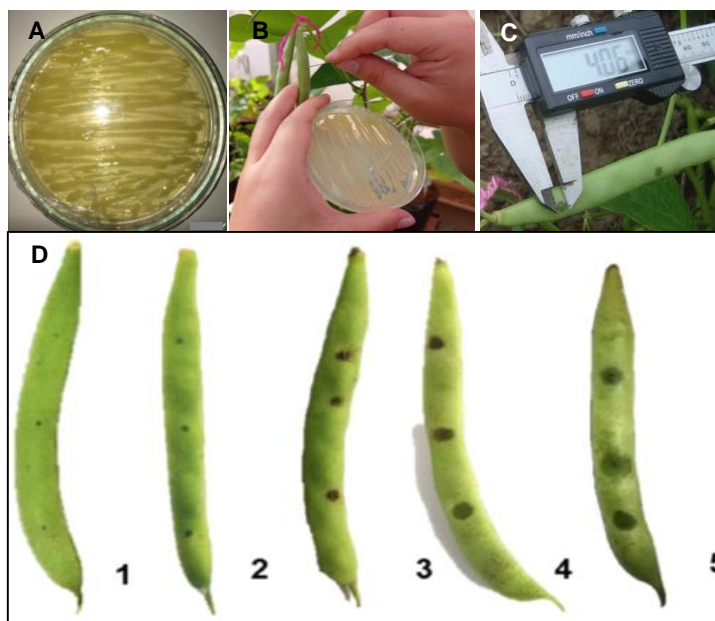


Figura 5. Determinação da severidade do Crestamento Bacteriano Comum causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em vagens de *Phaseolus vulgaris* L. A - Isolado Xap 139-y; B – inoculação pelo método de infiltração por auxílio de agulha entomológica; C - medição da lesão por paquímetro; D - Escala de nota para determinação do grau de severidade quanto à reação *X. axonopodis* pv. *phaseoli* em vagens de feijoeiro inoculadas. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024.

Tabela 3. Descrição da escala de notas usada para determinar a severidade do Crestamento Bacteriano Comum causado por *X. axonopodis* pv. *phaseoli* em vagens de *Phaseolus vulgaris* L. inoculadas pelo método de ferimento com agulha entomológica. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024

Inoculação de vagens por ferimento com agulha entomológica	
Grau de severidade	Tamanho da lesão
1 - Altamente resistente	<1mm
2 – Resistente	1 a 2 mm
3 - Moderadamente resistente	2,01 a 3 mm
4 – Suscetível	3,01 a 4 mm
5- Altamente suscetível	>4 mm

4.7. Análise estatística para a avaliação dos dados fenotípicos de severidade da doença.

Os componentes de variância e parâmetros genéticos foram estimados pelo método da Máxima Verossimilhança Restrita (*Restricted Maximum Likelihood - REML*) e a predição dos valores genéticos foram realizados pelo Melhor Preditor Linear Não Viciado (*Best Linear Unbiased Prediction - BLUP*) utilizando o modelo disponíveis no software SELEGEN-REML/BLUP (Resende, 2016).

Foi utilizado o modelo 25, blocos completos em vários locais, para as variáveis NF e AACPD.

Modelo estatístico:

$$y = Xr + Zg + Wi + e$$

Onde:

y é o vetor de dados,

r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral,

g é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios),

i é vetor dos efeitos da interação genótipo x ambiente (aleatórios) e

e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios).

As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

Foi utilizado o modelo 21, blocos completos, para a variável LV.

Modelo estatístico:

$$y = Xr + Zg + e$$

Onde:

y é o vetor de dados,

r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral,

g é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios),

e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios).

As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

Foi realizada análise de componentes principais pelo software R, usando os pacotes `factoextra`, `ggplot2`, para averiguar correlação Pearson entre as variáveis de resistência NF, AACPD e LV com a cor da semente, instituição de desenvolvimento.

4.8. Análise genotípica

A genotipagem com SNPs obtidos pelo GBS foram de 25.011 SNPs (Delfini et al., 2021). As análises genotípicas foram realizadas utilizando o software TASSEL versão 5.2.53 (Bradbury et al., 2007).

4.9. Estrutura de população

A estrutura populacional foi inferida usando o algoritmo de agrupamento Bayesiano em estrutura do software STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). O modelo compreendeu 10.000 burn-ins, 10.000 simulações de Cadeias de Markov por Monte Carlo e 10 réplicas para números hipotéticos de subpopulações (K) entre 1 e 10.

O parâmetro estatístico ΔK foi utilizado para determinar o número de grupos (Evanno et al., 2005). Somente genótipos com um coeficiente de adesão $\geq 0,6$ foram atribuídos a um grupo genético, enquanto aqueles com coeficientes $< 0,6$ foram colocados em um grupo designado como mistura.

4.10. Análise de associação genômica ampla

4.10.1 Análise de associação genômica ampla single-locus

A GWAS single-locus para determinar SNPs associados à característica de resistência qualitativa para as características de resistência à AACPD e NF, foi

realizada usando o programa TASSEL versão 5.2.53 com dois métodos: GLM (Prince et al., 2006) e MLM (Yu et al., 2006). A correção de Bonferroni foi utilizada para controlar falsos positivos, e por ser altamente restritiva, pode resultar na exclusão de loci importantes relacionados às características de estudo (Ding et al., 2019).

4.10.2 Análise de associação genômica ampla multi-locus

Para identificar os polimorfismos de nucleotídeo único associados à resistência ao CBC em folhas de feijão, empregou-se o ambiente de programação R, com destaque para o uso do pacote mrMLM.GUI, conforme descrito por Zhang et al. (2018). A análise foi enriquecida pela aplicação de seis abordagens de GWAS multi-locus avançadas: FASTmrEMMA (Wen et al., 2018), pKWmEB (Ren et al., 2018), FASTmrMLM (Tamba e Zhang, 2018), ISIS-EM-BLASSO (Tamba et al., 2017), mrMLM (Wang et al., 2016) e pLARmEB (Zhang et al., 2017). Para todas essas metodologias, estabeleceu-se um valor de LOD crítico de três para a identificação de QTNs (*Quantitative Trait Nucleotides*) significativos. Os dados fenotípicos empregados nas análises GWAS abrangeram as médias das variáveis AACPD e nota final da doença (NF). A significância dos QTNs foi determinada pela sua detecção em ao menos dois métodos distintos, uma estratégia rigorosa que visa assegurar a confiabilidade na seleção de alelos favoráveis e na identificação de genes candidatos. Adicionalmente, o pacote GAPIT3 (Wang e Zhang, 2021) foi utilizado para a elaboração de gráficos de distribuição de densidade de SNPs, facilitando a interpretação dos dados genômicos.

4.11. Identificação de alelos favoráveis

Alelos favoráveis foram identificados para cada um dos QTNs que mostraram repetibilidade, isto é, os alelos associados a redução da severidade da doença. Seguido de uma análise para saber se o acúmulo desses alelos refletiu na redução da severidade dos genótipos. Os resultados mostraram uma gradual diminuição nas variáveis de resistência NF e AACPD em folhas de feijão-comum de acordo com o número de alelos favoráveis presentes nos genótipos.

4.12 Pesquisa por genes candidatos

Foi realizada uma busca por genes no genoma em torno de cada QTN identificado. Usando a notação GO, no site *Phytozome* v10.3. O raio de busca foi

de 294 kbp, determinado de acordo com o decaimento do desequilíbrio de ligação corrigido para a estrutura populacional e parentesco (r^2_{vs}). Os genes foram agrupados por mecanismos de defesas gerados por processos fisiológicos que induzem a formação de proteínas de sinalização de resistência.

5. RESULTADOS

5.1. Resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas de feijão

Os valores de deviance, cujos resultados demonstram a existência de diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado a 5% de probabilidade para as características Nota Final, Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença e Lesão de Vagem, indicando a existência de variabilidade genética entre os genótipos avaliados, o que possibilita o sucesso na seleção de genótipos superiores (Tabela 4).

Tabela 4. Análise de deviance para as variáveis de resistência NF, AACPD em folhas de feijão inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em duas épocas distintas e para variável de resistência LV em vagens de feijão em uma época. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024

Efeito	NF		AACPD		LV	
	Deviance	LRT (X ²)	Deviance	LRT (X ²)	Deviance	LRT (X ²)
Genótipos	177,240	34,190**	3650,610	83,540**	190,300	206,930**
Modelo completo	211,430		3734,150		397,230	

NF- Nota Final; AACPD- Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença; LV- Lesão de Vagem.

** significativo a 5% de probabilidade pelo teste Qui-quadrado. LRT(x²): teste de razão de verossimilhança.

Foi observado para a variância fenotípica total, uma contribuição de 46,32% da variância genética para a Nota Final, 44,42% para a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença e 35,67% para a Lesão de Vagem. A variância ambiental de

0,28, 13,05 demonstraram altos valores para as variáveis NF, AACPD, respectivamente (Tabela 5). A variância ambiental foi maior em relação à Vg para lesão de vagem (Tabela 6).

Os valores de herdabilidade no sentido amplo apresentaram valores de magnitude média. A nota final, área abaixo da curva de progresso da doença e lesão de vagem tiveram as respectivas herdabilidades 0,46, 0,44 e 0,36. A herdabilidade na média de genótipos foi de 0,80 para nota final, 0,75 para área abaixo da curva de progresso de doença e 0,87 para lesão em vagens, além de acurácia seletiva dos genótipos de 0,89, 0,87 e 0,93 (Tabela 5 e 6).

Esse valor aliado ao coeficiente de determinação dos efeitos da interação genótipo x ambiente (Vint) 13% para nota final e 21% para a área abaixo da curva de progresso da doença. O rgloc correlação genotípica entre o desempenho entre os dois experimentos foi de 77% e 67% para nota final e área abaixo da curva de progresso da doença, respectivamente (Tabela 5 e 6).

Tabela 5. Estimativas dos parâmetros genéticos via procedimento REML/BLUP, para as variáveis de resistência NF, AACPD em folhas de feijão em duas épocas, inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, na concentração de 10^7 ufc/mL¹, pelo método de inoculação com auxílio de tesoura. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024.

Parâmetros genéticos	Variáveis	
	NF	AACPD
Vg	0,318860	16,961017
Vint	0,090499	8,164510
Ve	0,278983	13,054553
Vf	0,688342	38,180080
h2g	0,463230	0,444237
c2int	0,131474	0,213842
h2mc	0,799184	0,748002
Acclon	0,893971	0,864871
rgloc	0,778926	0,675051
Média geral	4,121618	40,163174

Vg: variância genotípica. Vint: variância da interação genótipo x ambiente. Ve: variância residual. Vf: variância fenotípica individual. h2g = h2: herdabilidade de parcelas individuais no sentido amplo, ou seja, dos efeitos genotípicos totais. c2int = c2: coeficiente de determinação dos efeitos da interação genótipo x ambiente. h2mc: herdabilidade da média de genótipo, assumindo sobrevivência completa. Acclon: acurácia da seleção de genótipos, assumindo sobrevivência completa. rgloc: correlação genotípica entre o desempenho nos vários ambientes. Média geral do experimento.

Tabela 6. Estimativas dos parâmetros genéticos via procedimento REML/BLUP, para a variável de resistência lesão de vagem - LV em vagens de feijão, inoculadas com colônias de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, pelo método de inoculação com auxílio de agulha entomológica. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024

Parâmetros Genéticos	Variável
	LV
Vg	0,191193
Ve	0,344831
Vf	0,536023
h2g	0,356687
h2mc	0,869340
Acclon	0,932384
CVgi%	13,093578
CVe%	17,584328
CVr%	74,461634
Média geral	3,339467

Vg: variância genotípica. Ve: variância residual. Vf: variância fenotípica individual. h2g = h2: herdabilidade de parcelas individuais no sentido amplo, ou seja, dos efeitos genotípicos totais. h2mc: herdabilidade da média de genótipo, assumindo ausência de perda de parcelas. Acclon: acurácia da seleção de genótipos, assumindo ausência de perda de parcelas. CVgi%: coeficiente de variação genotípica. CVe%: coeficiente de variação residual. CVr%: coeficiente de variação relativa. Média geral do experimento.

As médias avaliadas para NF, AACPD e LV foram classificadas conforme Pastor Corrales et al. (1981), o grau de resistência com base na AACPD foi estratificado em quatro grupos demonstrando uma amplitude de 23,72 a 46,30 (Tabela 7). Foram identificados que 64,56% dos genótipos são altamente suscetíveis, 33,07% dos genótipos suscetíveis, 1,57% dos genótipos foram considerados moderadamente resistentes e apenas 0,78% dos genótipos foi classificado como resistente para variável NF, ou seja, apenas o genótipo GEN203. Para grau de resistência com base na AACPD foi observado que 33,07% dos genótipos foram altamente suscetíveis, 48,03% suscetíveis, 14,96% moderadamente resistentes e 3,14% dos genótipos foram considerados resistentes, o GEN21, GEN151, GEN184, GEN204, e apenas um genótipo foi considerado altamente resistente o GEN203 correspondendo a 0,78%. Para a variável lesão de vagem foi identificado 5,51% dos genótipos altamente suscetíveis, 77,16% dos genótipos foram suscetíveis e 17,32% dos genótipos foram considerados moderadamente resistentes.

Tabela 7. Médias ajustadas via procedimento REML/BLUP, para as variáveis de resistência NF, AACPD e LV. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024

Código	NF	Resistência	AACPD	Resistência	LV	Resistência
GEN12	3,6959	S	37,957	AS	3,5698	S
GEN13	4,2221	AS	40,069	S	3,717	S
GEN20	4,0244	AS	40,509	S	3,444	S
GEN21	3,2439	S	30,798	R	2,9284	MR
GEN23	3,7247	S	36,909	MR	2,9427	MR
GEN24	3,6744	S	34,351	MR	2,6314	MR
GEN25	4,7657	AS	41,98	AS	3,0214	S
GEN27	4,4325	AS	44,758	AS	3,2358	S
GEN28	4,0244	AS	40,976	S	3,7781	S
GEN29	4,2221	AS	39,069	S	3,1342	S
GEN31	3,7247	S	37,47	S	3,5596	S
GEN33	4,5897	AS	40,443	S	3,5772	S
GEN34	4,2221	AS	41,279	S	3,3989	S
GEN35	4,6238	AS	41,537	S	3,1607	S
GEN36	4,4534	AS	40,363	S	3,5835	S
GEN37	4,3241	AS	42,986	AS	3,231	S
GEN38	4,2428	AS	39,817	S	3,3366	S
GEN39	4,2242	AS	41,537	S	3,1089	S
GEN40	3,2439	S	35,5	MR	3,1422	S
GEN41	3,9064	S	41,907	AS	2,5933	MR
GEN42	3,644	S	40,867	S	3,1695	S
GEN43	4,2567	AS	42,981	AS	3,3005	S
GEN46	3,6986	S	39,761	S	3,7308	S
GEN47	3,7881	S	37,483	S	2,9209	MR
GEN48	4,5551	AS	43,527	AS	3,48	S
GEN51	4,0244	AS	40,696	S	4,1141	AS
GEN52	4,2823	AS	41,374	S	3,748	S
GEN55	4,4701	AS	42,106	AS	2,8441	MR
GEN56	4,6238	AS	42,098	AS	3,4476	S
GEN58	4,4701	AS	44,554	AS	2,6592	MR

Tabela 7. Cont.

Código	NF	Resistência	AACPD	Resistência	LV	Resistência
GEN61	4,1243	AS	40,602	S	3,9762	S
GEN62	4,3792	AS	40,859	S	3,3798	S
GEN63	3,8891	S	39,216	S	3,0631	S
GEN64	4,0154	AS	38,752	S	3,2566	S
GEN66	4,6285	AS	42,548	AS	3,7075	S
GEN67	4,2221	AS	39,468	S	3,1356	S
GEN68	3,5249	S	36,722	MR	3,8957	S
GEN69	4,0116	AS	39,346	S	3,3682	S
GEN70	3,4023	S	34,197	MR	3,3274	S
GEN72	4,2428	AS	42,344	AS	3,5065	S
GEN73	4,0154	AS	41,245	S	3,3329	S
GEN74	4,7237	AS	42,519	AS	3,006	S
GEN75	4,5897	AS	43,199	AS	3,6244	S
GEN77	3,7881	S	36,906	MR	2,7395	MR
GEN78	3,8246	S	38,919	S	3,0755	S
GEN82	3,5607	S	37,098	MR	3,1598	S
GEN84	4,3446	AS	41,43	S	3,5417	S
GEN85	3,9465	S	40,203	S	3,0784	S
GEN88	4,1341	AS	41,783	S	2,9652	MR
GEN89	4,3446	AS	41,477	S	3,3338	S
GEN90	4,3792	AS	41,342	S	3,4638	S
GEN91	4,1243	AS	39,527	S	3,067	S
GEN92	3,9245	S	40,462	S	3,5837	S
GEN94	4,8236	AS	46,306	AS	3,5874	S
GEN95	4,7237	AS	44,389	AS	2,6175	MR
GEN98	3,8012	S	39,409	S	4,1726	AS
GEN99	4,2567	AS	40,397	S	3,2707	S
GEN100	4,424	AS	43,781	AS	3,0443	S
GEN101	4,5551	AS	44,502	AS	3,0172	S
GEN102	4,4768	AS	43,146	AS	3,8855	S
GEN104	4,8236	AS	44,155	AS	3,4767	S

Tabela 7. Cont.

Código	NF	Resistência	AACPD	Resistência	LV	Resistência
GEN107	4,6238	AS	40,976	S	3,873	S
GEN109	4,5596	AS	44,044	AS	3,274	S
GEN112	3,9245	S	40,275	S	4,0835	AS
GEN114	4,1169	AS	38,26	S	2,473	MR
GEN115	4,424	AS	40,322	S	3,5079	S
GEN118	4,7694	AS	45,873	AS	3,8999	S
GEN119	4,7237	AS	42,051	AS	3,6753	S
GEN120	4,8236	AS	44,81	AS	3,9595	S
GEN122	4,6776	AS	43,493	AS	3,1272	S
GEN123	2,6258	MR	33,122	MR	3,7391	S
GEN125	4,8001	AS	45,086	AS	4,0011	AS
GEN126	4,424	AS	42,659	AS	3,1622	S
GEN127	4,0154	AS	40,463	S	2,8987	MR
GEN128	3,7881	S	38,922	S	3,4291	S
GEN131	4,4701	AS	43,058	AS	3,4449	S
GEN132	4,5596	AS	44,339	AS	3,4322	S
GEN136	4,2242	AS	41,35	S	3,2598	S
GEN138	4,3241	AS	41,21	S	3,0878	S
GEN139	4,0116	AS	40,518	S	3,6522	S
GEN140	4,5551	AS	41,317	S	3,5124	S
GEN141	4,3241	AS	41,21	S	3,4424	S
GEN144	4,6776	AS	42,8	AS	3,2356	S
GEN148	3,9237	S	39,548	S	2,5326	MR
GEN149	4,4701	AS	41,381	S	3,0364	S
GEN150	3,5907	S	40,014	S	3,7244	S
GEN151	3,2439	S	32,588	R	2,7044	MR
GEN153	4,1243	AS	41,023	S	3,3297	S
GEN154	4,5239	AS	43,828	AS	2,7876	MR
GEN155	4,6238	AS	43,781	AS	3,3092	S
GEN156	4,8001	AS	43,599	AS	3,1262	S
GEN157	4,2394	AS	40,706	S	3,4208	S

Tabela 7. Cont.

Código	NF	Resistência	AACPD	Resistência	LV	Resistência
GEN160	4,2567	AS	42,985	AS	3,7963	S
GEN161	4,8001	AS	44,057	AS	3,191	S
GEN163	4,6776	AS	42,649	AS	2,7596	MR
GEN169	4,6776	AS	45,477	AS	2,9721	MR
GEN170	4,4701	AS	42,707	AS	3,2477	S
GEN171	3,9245	S	34,758	MR	3,6022	S
GEN172	4,3241	AS	42,332	AS	4,2937	AS
GEN174	4,1169	AS	41,508	S	2,7748	MR
GEN175	3,9245	S	40,088	S	3,5703	S
GEN183	4,2221	AS	40,014	S	2,5018	MR
GEN184	2,9075	MR	31,226	R	2,9303	MR
GEN193	3,5907	S	38,665	S	3,5755	S
GEN197	3,5907	S	38,447	S	3,5384	S
GEN198	3,5849	S	37,126	MR	3,3282	S
GEN199	3,8012	S	38,623	S	3,4937	S
GEN200	3,6986	S	37,937	S	3,1887	S
GEN203	1,9265	R	23,725	AR	3,4877	S
GEN204	3,2231	S	32,039	R	3,3489	S
GEN205	3,9018	S	39,155	S	3,3885	S
GEN206	3,5249	S	34,478	MR	3,6861	S
GEN207	4,4701	AS	41,177	S	3,2175	S
GEN208	3,425	S	34,899	MR	3,7743	S
GEN209	3,5907	S	32,963	MR	3,1885	S
GEN210	3,6959	S	36,865	MR	3,0792	S
GEN211	3,6786	S	36,821	MR	2,7581	MR
GEN213	4,0116	AS	37,224	MR	2,97	MR
GEN215	4,5596	AS	42,14	AS	3,3382	S
GEN217	3,857	S	38,843	S	3,0505	S
GEN218	4,5239	AS	42,799	AS	3,1394	S
GEN219	3,2439	S	33,948	MR	3,7708	S
GEN220	3,5734	S	36,751	MR	4,09	AS

Tabela 7. Cont.

Código	NF	Resistência	AACPD	Resistência	LV	Resistência
GEN225	4,5239	AS	40,742	S	3,2309	S
GEN227	4,6285	AS	41,755	S	4,0513	AS
GEN228	3,3251	S	36,348	MR	3,5497	S
ALESSA	4,7869	AS	44,916	AS	3,9165	S

R- Resistente; MR- Moderadamente Resistente; S- Suscetível; AS- Altamente Suscetível. NF- Nota Final; AACPD- Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença; LV- Lesão de Vagem.

5.1.1. Análise de componentes principais - PCA

A soma da PC1 mais PC2 explicaram 96,6% da variação total. O vetor de AACPD foi correlacionado com o vetor de nota final. Cada variável (NF, AACPD, LV) formou um vetor, representada por setas na cor azul. A análise de PCA está dividida em quatro quadrantes (Figura 6 e 7).

No primeiro quadrante foram posicionados os genótipos que tiveram a maior AACPD, NF e LV. No segundo quadrante, ficaram os genótipos de baixa AACPD e NF e valores altos para LV. Observa-se o genótipo GEN203 isoladamente, o qual apresentou a menor AACPD e NF. No terceiro quadrante são classificados os genótipos com menor AACPD e NF e LV. Os genótipos GEN151, GEN24, GEN21, GEN184, GEN114 e GEN148, se destacaram para as três variáveis. No quarto quadrante ficaram dispostos os genótipos com alto valores de AACPD, NF e baixa LV. Com destaque para os genótipos com menor AACPD e NF, GEN95, GEN58, GEN163, GEN154 e GEN55.

Houve formação discreta de grupo de linhagens do IAPAR no segundo quadrante: GEN203, GEN219, GEN208, GEN206, GEN228, GEN204, GEN198, GEN205, GEN199, GEN197, GEN193, GEN220, GEN209, GEN200, GEN210, GEN211, GEN213 e GEN217.

Com relação à variável lesão de vagem, foi observado que os genótipos mais bem ranqueados nos quadrantes três e quatro, são representados pelos genótipos GEN114 tipo carioca da UFV, GEN183 tipo preto do CIAT, GEN148 tipo carioca do CIAT, GEN41 tipo preto da FT sementes e o GEN95 tipo preto do IAPAR.

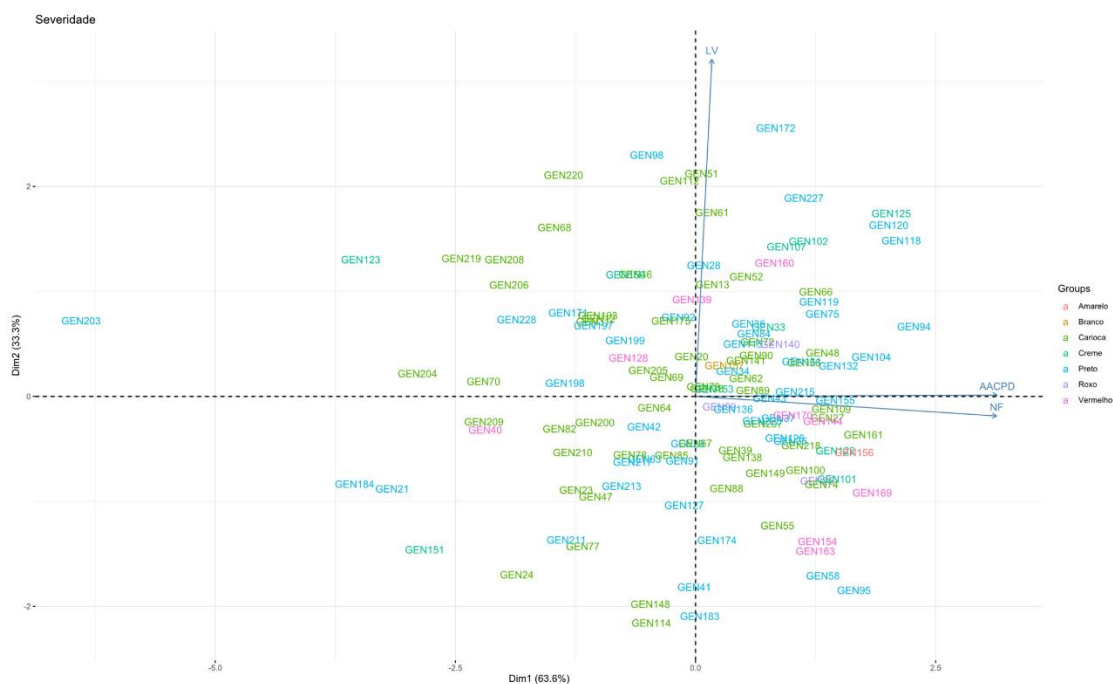


Figura 6. Análise de componentes principais referente a variáveis de resistência ao Crestamento Bacteriano Comum NF, AACPD, LV, correlacionadas para cor de semente.

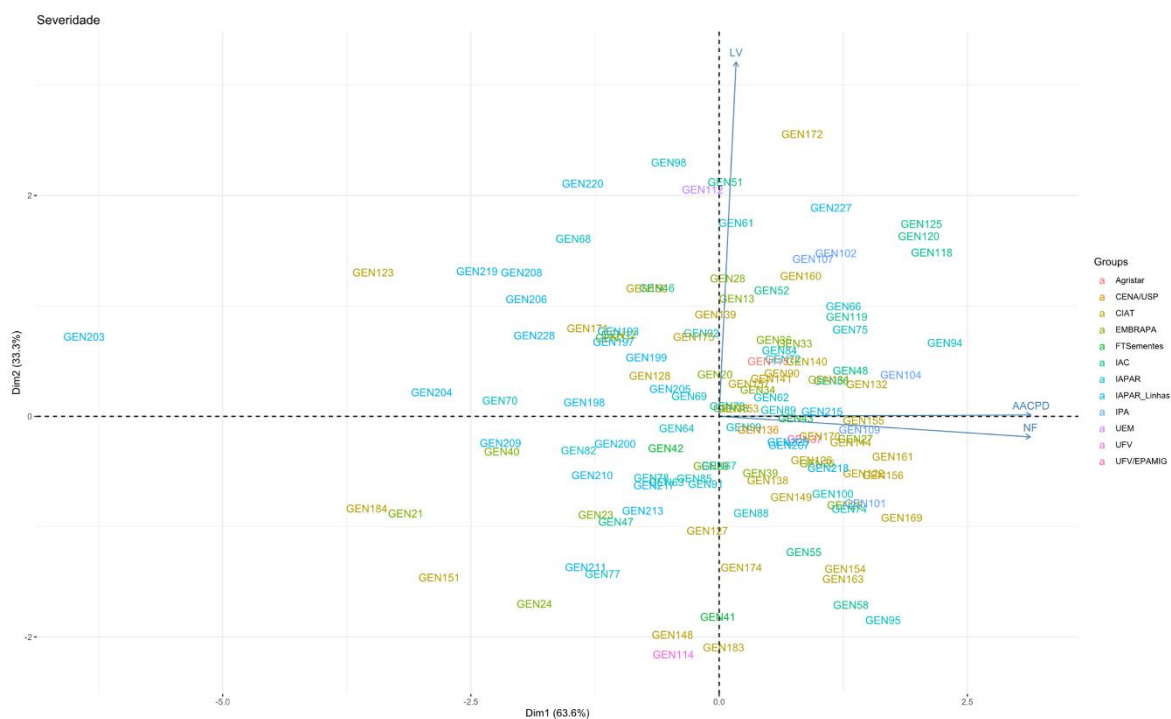


Figura 7. Análise de componentes principais referente a variáveis de resistência ao Crestamento Bacteriano Comum NF, AACPD, LV, correlacionadas para instituição de desenvolvimento do genótipo.

5.2. Genotipagem, estrutura populacional e decaimento do desequilíbrio de ligação

Foram utilizados 25.011 SNPs para análise de GWAS em 126 genótipos fenotipados para o Crestamento Bacteriano Comum (Figura 8). Entre os 11 cromossomos do feijão sequenciados, o cromossomo 8 apresentou um maior número de SNPs com 63Mb e uma densidade maior que 217 pb(Figura 8).

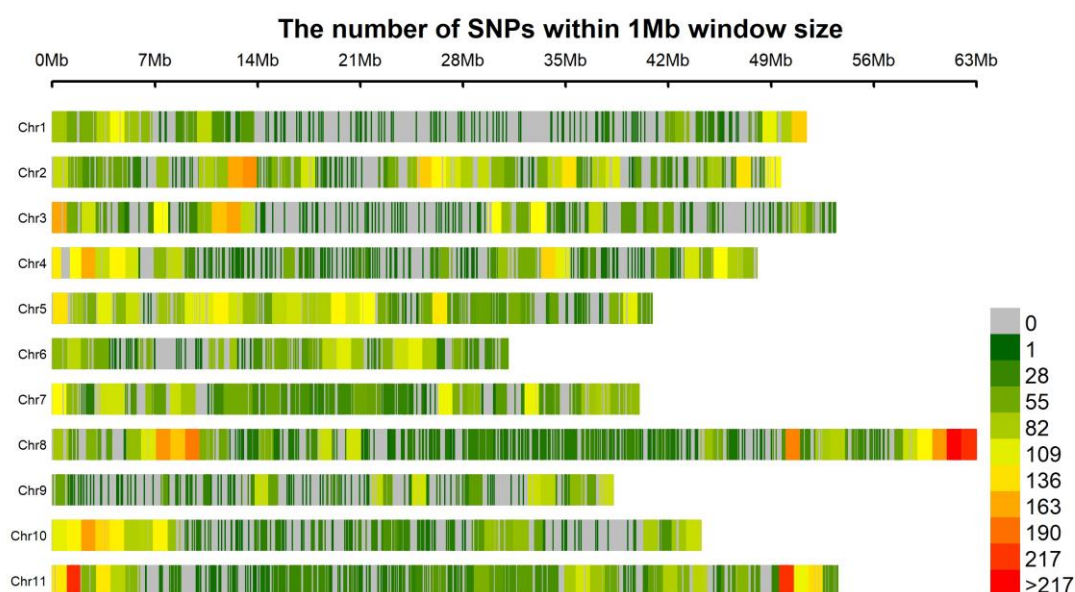


Figura 8. Distribuição de densidade de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) identificados por genotipagem por sequenciamento (GBS) ao longo do genoma do feijão-comum em um tamanho de janela de 1 Mb. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.

Análise da estrutura populacional indicou a formação de dois grandes grupos (Tabela 8 e Figura 10), constado como o maior Delta K (Figura 9).

Tabela 8. Análise Bayesiana de agrupamento populacional com base no método de DK. O valor em negrito de Delta K indica o número mais provável de *clusters* (K = 2). UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024

K	Repetição	Média da verossimilhança (K)	Desvio-padrão (K)	Derivada primeira (K)	Derivada segunda (K)	Delta K
1	11	-3074291,25	188,140136	—	—	—
2	10	-2783109,27	751,470045	291181,9845	155172,645	206,49212
3	10	-2647099,93	20114,3651	136009,34	1404504,26	69,825931
4	10	-3915594,85	4273899,53	-1268494,92	1673838,45	0,391642
5	10	-3510251,32	2631076,71	405343,53	4252023,34	1,616077
6	10	-7356931,13	11403048,7	-3846679,81	2317710,78	0,203254
7	10	-8885900,16	8503730,49	-1528969,03	150035876	17,643536
8	10	-160450745	270691865	-151564845	55295004,3	0,204273
9	10	-256720586	234941411	-96269840,9	64204466,4	0,273279
10	10	-288785961	220487073	-32065374,5	—	—

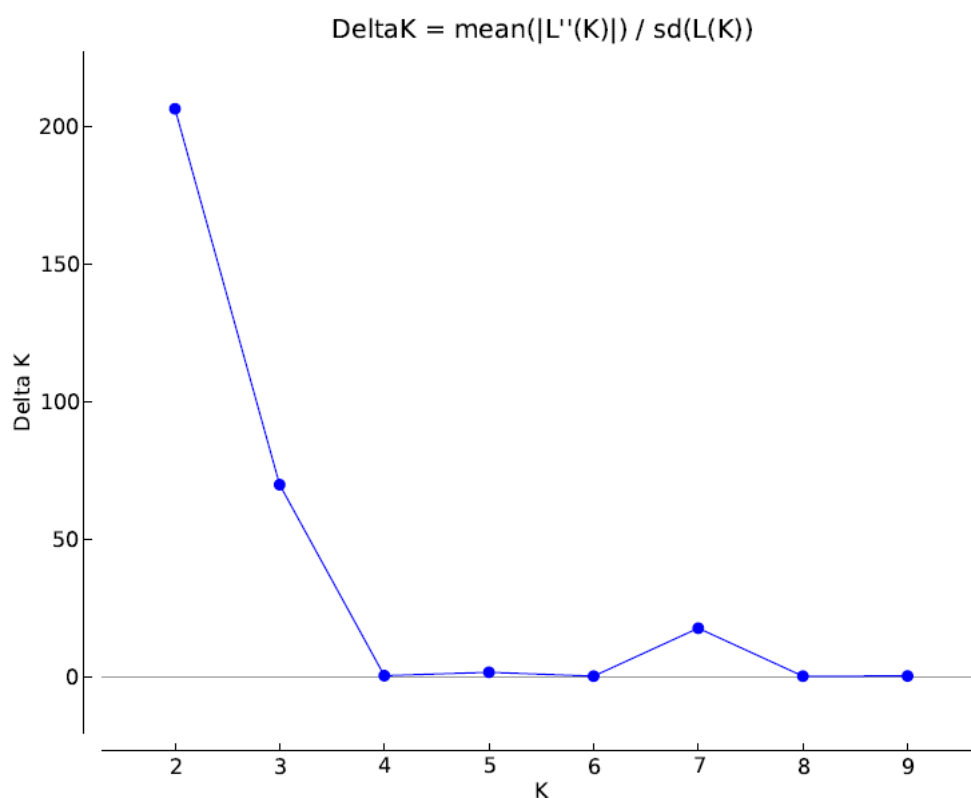


Figura 9. Valor estimado de Delta K para dez execuções de replicação de cada uma, de K1 a K10. O gráfico Delta K determinou o valor máximo em K = 2. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.

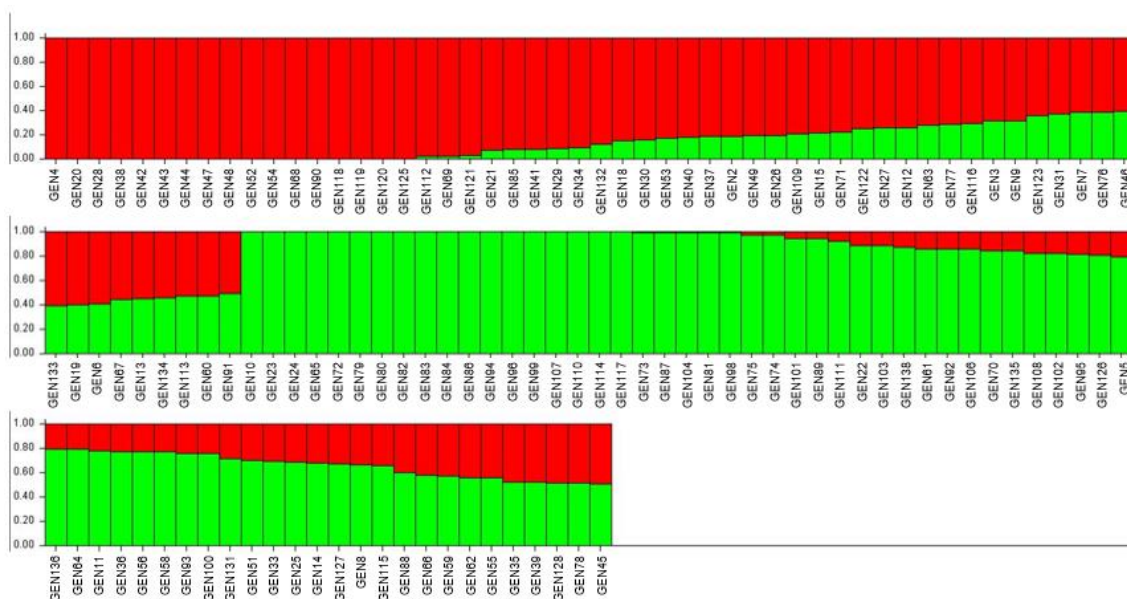
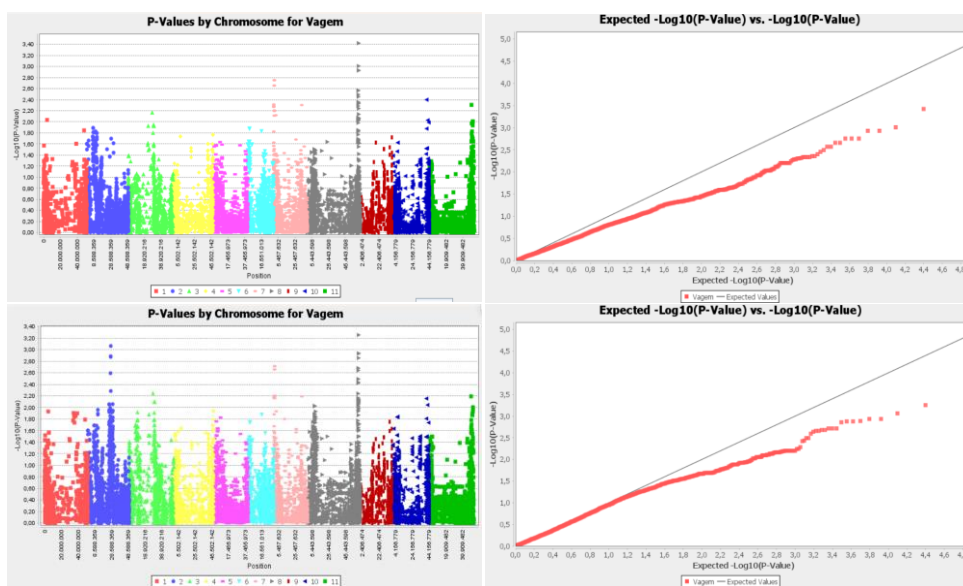
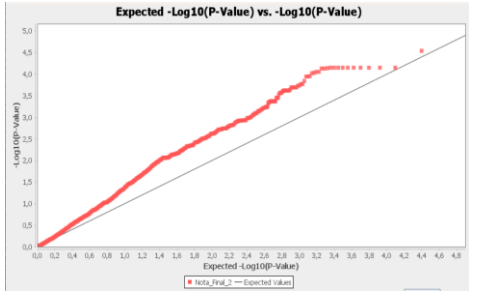
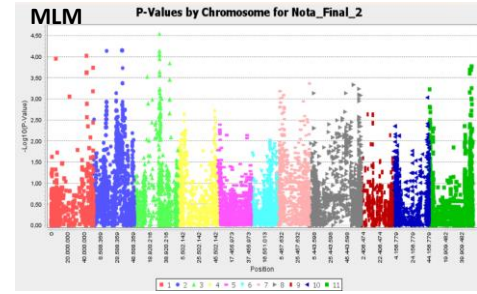
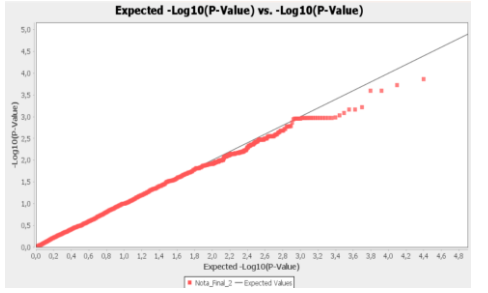
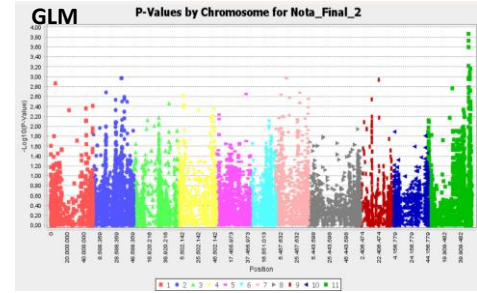
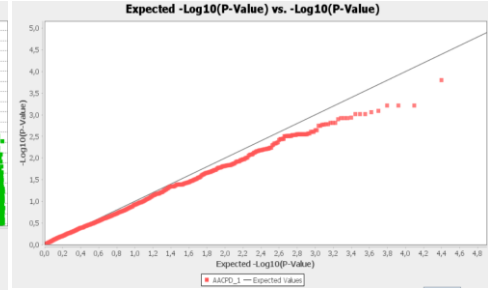
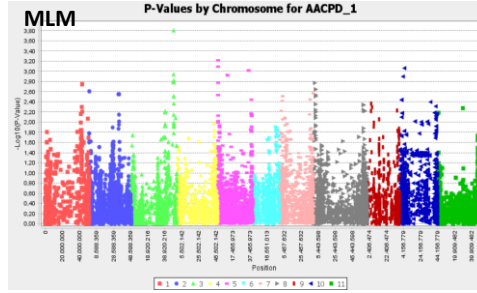
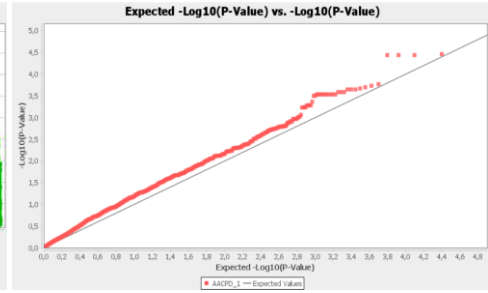
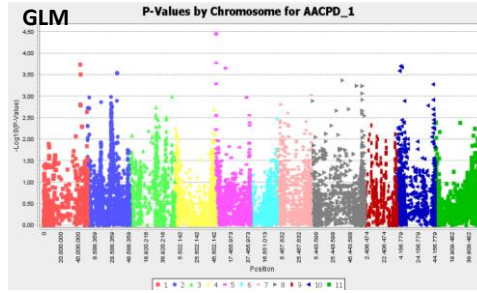
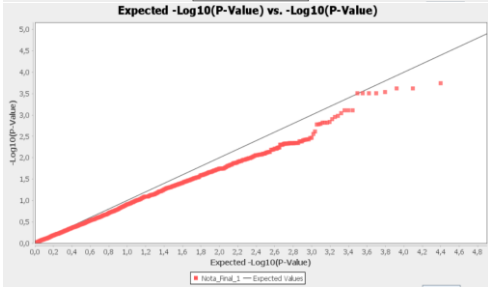
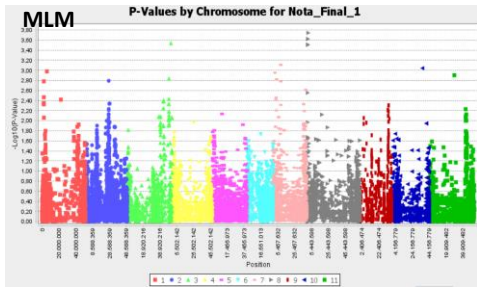
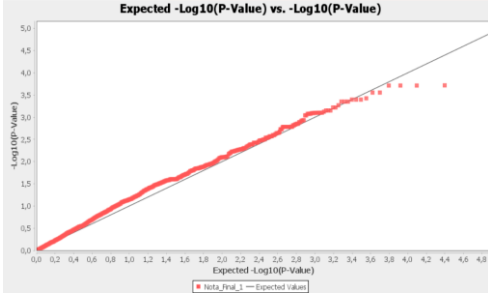
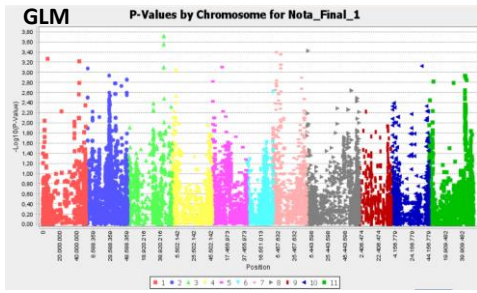


Figura 10. Análise da estrutura populacional utilizando 126 genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. com $K = 2$: (1) formado preferencialmente por genótipos do grupo comercial do feijão-carioca, identificado em vermelho; (2) formado preferencialmente por genótipos do grupo comercial do feijão-preto, identificado na cor verde. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.

5.3. Resultado GWAS método single-locus

De acordo com a análise de associação genômica ampla, não foi possível identificar QTNs monogênicos em nível qualitativo (Figura 11). O teste de correção por Bonferroni, não apresentou significância utilizando os métodos GLM e MLM.





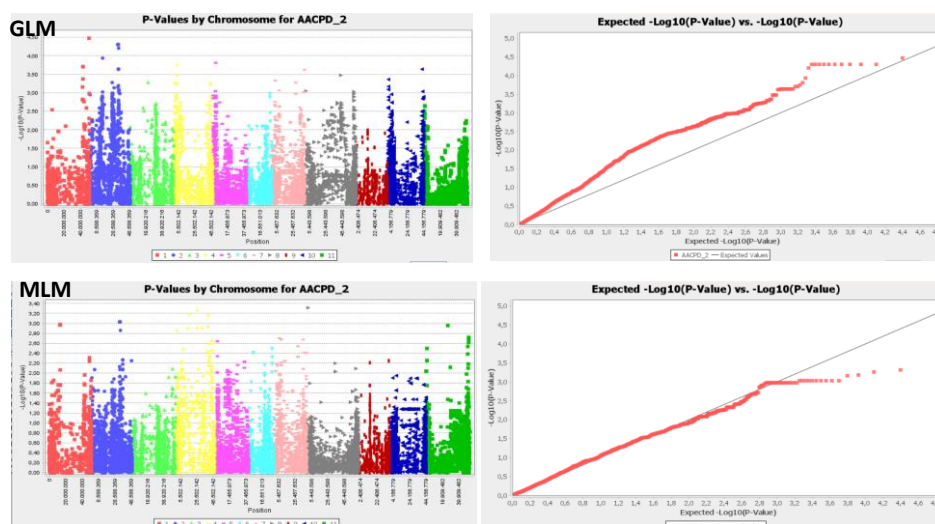


Figura 11. Gráficos de Manhattan plots com os métodos single-locus GLM e MLM, para determinar os QTNs associados aos parâmetros de resistência NF e AACPD. A coluna X representa os cromossomos, e a coluna Y representa o $-\log_{10}(p\text{-value})$. quantil-quantil (Q-Q plots) com os métodos single-locus GLM e MLM para determinar os QTNs associados aos parâmetros de resistência NF e AACPD. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.

5.4. Resultado GWAS método multi-locus

Utilizando abordagens multi-locos, foi possível identificar QTNs associados à resistência quantitativa ao CBC em folhas de feijão. A análise de gráficos de Manhattan plot e QQplot (Figura 12) revelou uma clara associação entre as características fenotípicas alvo e os QTNs identificados, evidenciando consistência nos resultados em todas as variáveis estudadas e em ambos os experimentos conduzidos. Contudo, apenas os QTNs detectados por mais de um método foram considerados confiáveis para inclusão neste estudo, resultando na seleção dos métodos FASTmrMLM, ISIS-EM-BLASSO, mrMLM e pLARmEB como os mais relevantes (Tabela 9). No total, 11 QTNs foram identificados: oito associados à variável AACPD, com cinco QTNs identificados no primeiro experimento e três no segundo; e três QTNs associados à variável NF, com um QTN encontrado no primeiro experimento e dois no segundo. A análise detalhada permitiu a localização cromossômica desses QTNs e a sua posição específica no genoma, facilitando a posterior identificação dos genes envolvidos e suas possíveis funções (Tabela 9).

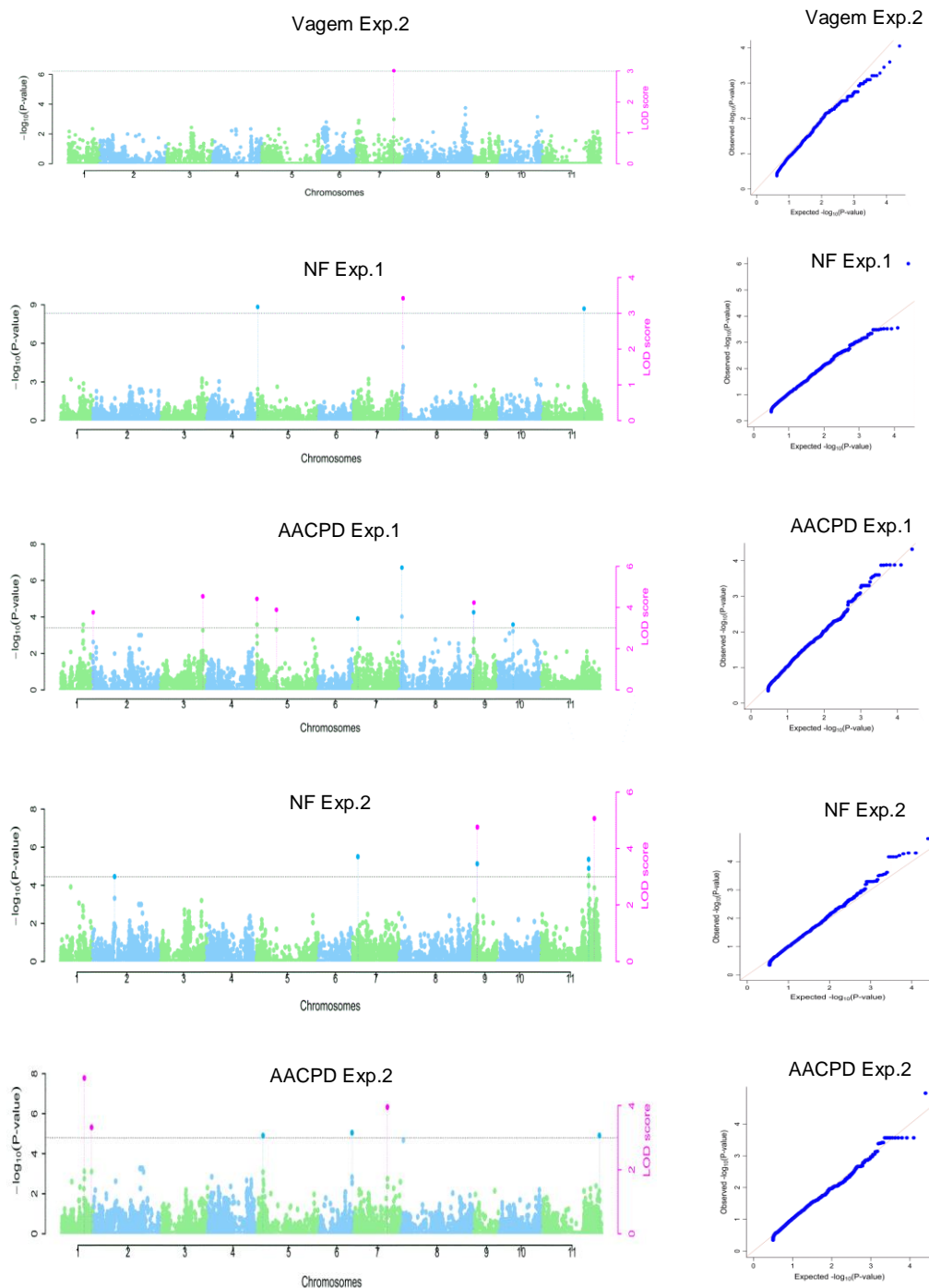


Figura 12. Gráficos de Manhattan plot com os métodos multi-locus FASTmrMLM, ISIS-EM-BLASSO, mrMLM e pLARmEB. A coluna X representa os cromossomos, e a coluna Y representa o $-\log_{10}(\text{p-value})$. Gráficos de quantil-quantil (Q-Q plots) com os métodos multi-locus FASTmrMLM, ISIS-EM-BLASSO, mrMLM e pLARmEB. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.

Tabela 9. Nucleotídeos de características quantitativas (QTNs) associados à resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas de feijão, que foram detectados pelo menos duas vezes usando métodos diferentes e/ou em ambientes diferentes. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024

Trait	SNP	Chr	Position (pb)	QTN effect ^a	LOD score ^b	PVE (%) ^c	MAF ^d	Gen	Env ^e	Meth ^f
AACPD	S02_339452	2	339452	0,8654~1,0278	3,7252~3,7961	2,7884~3,9326	0,264	A	1	2,4
	S03_49566239	3	49566239	1,374~1,4615	4,002~5,0828	5,4309~6,1444	0,184	A	1	1,2
	S05_11203900	5	11203900	-2,6355~-1,4829	3,2128~4,5593	3,3814~10,1396	0,0894	A	1	3,4
	S05_180803	5	180803	-1,2752~-1,2519	3,6235~5,1321	7,4949~7,7769	0,48	G	1	1,2,4
	S09_7645146	9	7645146	1,7308~1,7453	3,2722~4,4894	5,3483~5,4382	0,104	T	1	1,2,4
	S01_43414676	1	43414676	1,9476~2,2828	4,1965~5,5303	8,0795~11,1004	0,252	G	2	2,3
	S01_50735044	1	50735044	2,4315~3,7912	3,2143~4,4643	4,8664~11,8311	0,0813	T	2	1,2,4
	S07_29142414	7	29142414	1,4385~1,938	3,9045~4,0042	5,6523~10,2589	0,4228	A	2	2,3
NF	S08_1771253	8	1771253	0,4678~0,6235	3,0799~4,2681	3,0973~9,7569	0,0244	C	1	1,2,3
	S09_14077754	9	14077754	0,2292~0,2972	4,2979~5,2129	7,1042~11,3807	0,2846	C	2	3,4
	S11_50935764	11	50935764	-0,3523~-0,2451	4,457~5,6675	7,3492~14,4641	0,2439	G	2	3,4

^aQuantitative trait nucleotide effect; ^bLOD value, the significant threshold for transformed P-value; ^cPVE (%): phenotypic variation explained; ^dMinor allele Frequency; ^eEnvironment: 1-summer, 2-winter; ^fMethods: 1-FASTmrMLM, 2-ISIS-EM-BLASSO, 3-mrMLM, 4-pLARMmEB.

O diagrama de Venn (Figura 13) agrupou os métodos para identificação dos QTNs, demonstrando que os métodos ISIS-EM-BLASSO corresponderam a oito QTNs, seguidos por pLARmEB com sete QTNs, mrMLM com seis QTNs e FASTmrMLM com cinco QTNs. No entanto, nenhum QTNs foi associado a todas as abordagens.

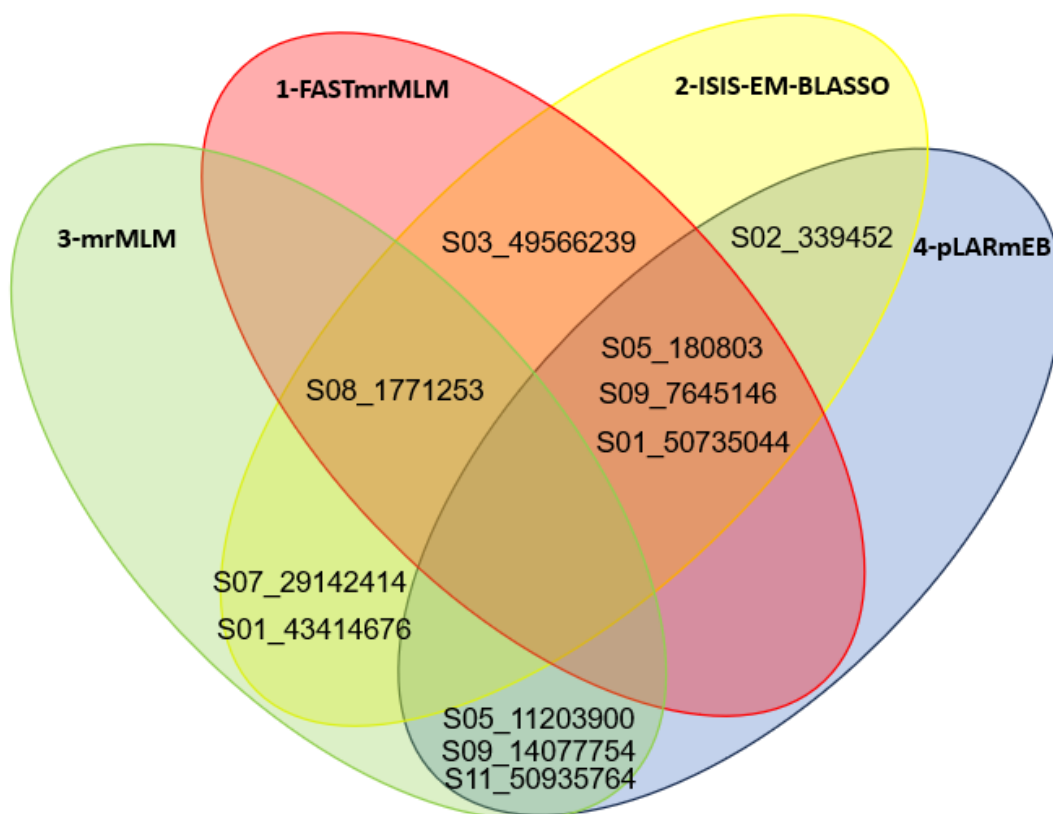


Figura 123. Diagrama de Venn-Euler com os métodos multi-locus para identificação dos QTNs em *Phaseolus vulgaris* L. inoculados com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.

5.5. Alelos favoráveis

Os alelos favoráveis foram identificados para cada um dos QTNs que mostrou repetibilidade para menor incidência da doença. Os resultados do *box-plot* mostraram uma redução gradual para todas as variáveis em ambos os experimentos (Figura 14).

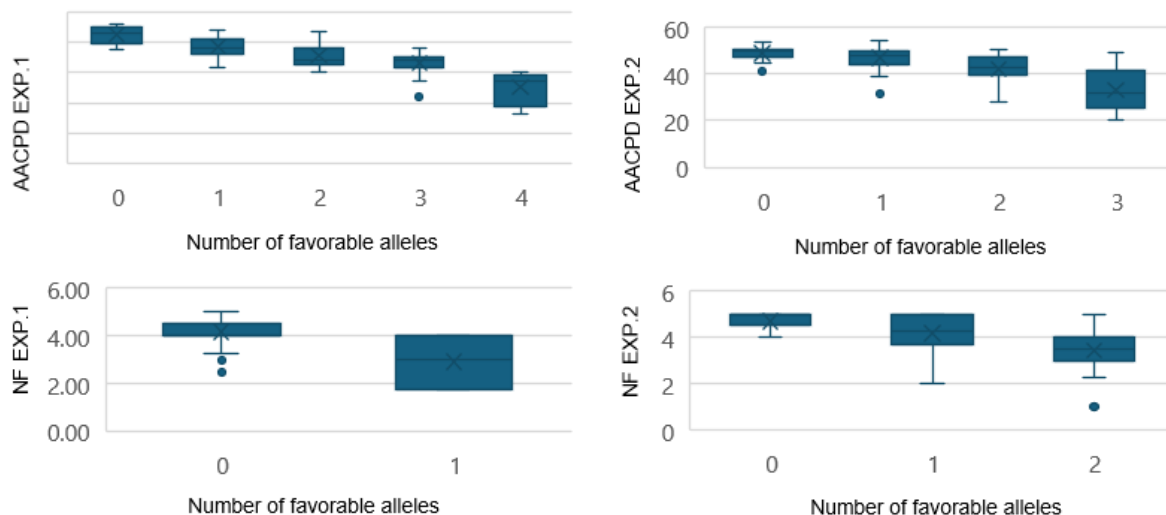


Figura 14. Acúmulo de alelos favoráveis em relação às médias para cada uma das duas variáveis em duas épocas, para resistência em folha ao Crestamento Bacteriano Comum presentes no painel de feijão-comum. UENF, Campos dos Goytacazes –RJ, 2024.

5.6. Identificação de genes candidatos

De acordo com o valor do decaimento do desequilíbrio de ligação de 296,54 KB, foi possível determinar a posição *upstream* e *downstream*, para a identificação e a posição dos genes candidatos. Com isso, foi observado 48 genes candidatos relacionados diretamente com a resistência ou aos processos fisiológicos da planta que levam a conferir à estímulos para resistência ao Crestamento Bacteriano na folha de feijão, desses, 14 genes são referentes a variável AACPD e 34 genes estão relacionados a variável NF (Tabela 10).

Tabela 10. Anotação funcional dos 48 genes favoráveis próximos aos QTNs de acordo com o decaimento do desequilíbrio de ligação, associados à resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas de feijão. UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, 2024

Genes Candidatos	Tratamento	Posição	Chr	Anotação Funcional
<i>Phvul.001G175900</i>	AACPD	43414676	1	<i>Defense response</i>
<i>Phvul.001G176800</i>	AACPD	43414676	1	<i>Protein tyrosine kinase activity/serine/threonine protein kinase</i>
<i>Phvul.001G178400</i>	AACPD	43414676	1	<i>Protein kinase activity/protein tyrosine kinase activity</i>
<i>Phvul.001G255800</i>	AACPD	50735044	1	<i>Protein tyrosine/serine/threonine phosphatase activity</i>
<i>Phvul.002G002000</i>	AACPD	339452	2	<i>Jasmonate zim domain-containing protein</i>
<i>Phvul.002G002200</i>	AACPD	339452	2	<i>Serine/threonine kinase</i>
<i>Phvul.002G002600</i>	AACPD	339452	2	<i>Protein kinase</i>
<i>Phvul.003G255801</i>	AACPD	49566239	3	<i>Jasmonate o-methyltransferase</i>
<i>Phvul.003G255900</i>	AACPD	49566239	3	<i>Jasmonate o-methyltransferase</i>
<i>Phvul.003G256100</i>	AACPD	49566239	3	<i>Jasmonate o-methyltransferase</i>
<i>Phvul.003G256300</i>	AACPD	49566239	3	<i>Jasmonate o-methyltransferase</i>
<i>Phvul.007G172900</i>	AACPD	29142414	7	<i>Tpl-binding domain in jasmonate signalling</i>
<i>Phvul.007G174200</i>	AACPD	29142414	7	<i>Serine/threonine-protein kinase nek</i>
<i>Phvul.007G174700</i>	AACPD	29142414	7	<i>Protein serine/threonine phosphatase activity</i>
<i>Phvul.008G018200</i>	NF	1771253	8	<i>Protein serine/threonine phosphatase activity</i>
<i>Phvul.008G019200</i>	NF	1771253	8	<i>Protein tyrosine kinase activity</i>
<i>Phvul.008G021001</i>	NF	1771253	8	<i>Protein tyrosine kinase activity</i>
<i>Phvul.008G021800</i>	NF	1771253	8	<i>Stress-induced protein kin1-related</i>
<i>Phvul.008G022300</i>	NF	1771253	8	<i>Stress-induced protein kin1-related</i>
<i>Phvul.008G022400</i>	NF	1771253	8	<i>Stress-induced protein kin1-related</i>
<i>Phvul.009G085400</i>	NF	14077754	9	<i>Protein phosphatase/protein serine/threonine Phosphatase activity</i>
<i>Phvul.009G085500</i>	NF	14077754	9	<i>Protein kinase superfamily protein/protein Kinase-like (pk-like)</i>
<i>Phvul.009G086400</i>	NF	14077754	9	<i>Protein phosphatase/protein serine/threonine phosphatase activity</i>
<i>Phvul.009G087500</i>	NF	14077754	9	<i>Interacting serine/threonine-protein kinase</i>

Tabela 10. Cont.

Genes Candidatos	Tratamento	Posição	Chr	Anotação Funcional
<i>Phvul.011G192900</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G193100</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G193800</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G193966</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G194800</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G195000</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G195200</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G195300</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G195400</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G195500</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G195600</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G195751</i>	NF	50935764	11	<i>Disease resistance protein signature</i>
<i>Phvul.011G193200</i>	NF	50935764	11	<i>Protein tyrosine kinase activity</i>
<i>Phvul.011G193400</i>	NF	50935764	11	<i>Protein serine/threonine kinase activity</i>
<i>Phvul.011G193900</i>	NF	50935764	11	<i>Protein kinase activity</i>
<i>Phvul.011G194100</i>	NF	50935764	11	<i>Threonine-specific protein kinase</i>
<i>Phvul.011G194200</i>	NF	50935764	11	<i>Protein serine/threonine kinase activity</i>
<i>Phvul.011G194300</i>	NF	50935764	11	<i>Threonine-specific protein kinase</i>
<i>Phvul.011G194401</i>	NF	50935764	11	<i>Protein serine/threonine kinase activity</i>
<i>Phvul.011G194600</i>	NF	50935764	11	<i>Protein serine/threonine kinase activity</i>
<i>Phvul.011G194700</i>	NF	50935764	11	<i>Protein serine/threonine kinase activity</i>
<i>Phvul.011G196200</i>	NF	50935764	11	<i>Protein serine/threonine kinase activity</i>
<i>Phvul.011G197500</i>	NF	50935764	11	<i>Protein tyrosine kinase activity/serine/threonine protein kinase</i>
<i>Phvul.011G197700</i>	NF	50935764	11	<i>Serine/threonine protein kinase</i>

6. DISCUSSÃO

6.1. Parâmetros genéticos para resistência ao Crestamento Bacteriano Comum

Foi observado uma alta variabilidade genética para as variáveis de resistência ao CBC, pelos parâmetros genéticos de variância genotípica, implicando em discriminar com precisão os genótipos, sendo possível realizar a seleção de genótipos superiores para severidade da doença. Sendo a variável Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença mais indicada para seleção.

A variabilidade observada nos fenótipos de um organismo é resultado da combinação de diversos fatores, tanto genéticos quanto ambientais. Essa variabilidade total, conhecida como variância fenotípica, que é a combinação entre a variância genotípica, que se refere à parte da variabilidade que é atribuída às diferenças genéticas entre os indivíduos, ou seja, o quanto os genes contribuem para a expressão do fenótipo, e a variância ambiental que se refere à parte da variabilidade que é atribuída a fatores externos ao organismo, como clima, solo, manejo e outros aspectos do ambiente. No experimento em questão, a maior parte da variância fenotípica observada nas variáveis NF, AACPD e LV foi atribuída ao ambiente, o que significa que as condições externas tiveram um impacto maior na expressão dessas características do que as diferenças genéticas entre os indivíduos. Especificamente, a variável lesão de vagem foi a mais influenciada pelo ambiente, demonstrando que a severidade da doença foi altamente dependente das condições em que as plantas se desenvolveram. As altas temperaturas foram

um fator limitante na avaliação da variável lesão de vagem, ocasionando em abortamento das flores no primeiro experimento, portanto, sendo possível apenas a avaliação no segundo experimento.

Caracteres quantitativos são geralmente controlados por vários genes e fortemente influenciados pelo ambiente (Falconer, 1993). Moreto (2008), também destaca a complexidade da estimativa dos parâmetros genéticos e fenotípicos, pois diversos fatores além da variância genética podem interferir nas medidas, como a unidade de avaliação, a precisão experimental, o número de plantas e a interação genótipo x ambiente. Portanto, o experimento demonstra que as características relacionadas à severidade da doença em questão são altamente influenciadas pelas condições ambientais. Essa influência deve ser considerada no estudo e manejo da doença, além da seleção de genótipos mais resistentes.

Uma boa herdabilidade no sentido amplo e a acurácia seletiva, indicam potencial para seleção de genótipos superiores. Segundo Resende (2002), a acurácia seletiva é um indicador crucial na seleção de genótipos para melhoramento genético. Ela avalia a confiabilidade com que os genótipos são ordenados de acordo com seus valores genéticos verdadeiros, fornecendo informações sobre precisão das inferências das médias genotípicas, o correto ordenamento dos genótipos para seleção e eficácia da inferência sobre o valor genotípico. A herdabilidade no sentido amplo, estimada neste trabalho, indica que as variáveis de resistência ao CBC, obtiveram valores de magnitude média (entre 0,15 e 0,50) segundo a classificação de Resende (2002), mesmo sendo observado um coeficiente de herdabilidade no sentido amplo de magnitude média, ainda existem boas possibilidades de seleção, pois, a estimativa de herdabilidade média foram consideradas altas, assim como a acurácia seletivas também foram altas. Isso significa que a variabilidade observada nos caracteres é explicada em parte por diferenças genéticas entre os indivíduos, o que é um fator importante para o sucesso do melhoramento genético. Os resultados, obtidos neste trabalho, sugerem que a seleção de indivíduos com características desejáveis para esses caracteres pode ser eficaz na obtenção de linhagens superiores para resistência ao CBC.

A variância da interação genótipo x ambiente (Vint) aliado ao coeficiente de determinação dos efeitos da interação genótipo x ambiente (c_{2int}) 13% para nota final e 21% para a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença, informa o quanto

da variância fenotípica foi explicada pela interação GxA, indicando que a interação do tipo complexa não foi predominante neste experimento. Pelo *rgloc* correlação genotípica entre o desempenho entre os dois experimentos foi de 77% e 67% para nota final e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença respectivamente. Os dados de interação genótipo x ambiente mostram que houve uma boa concordância entre as duas épocas de experimento. Os resultados da *Vint*, *c2int* e *rgloc* indicam que a interação genótipo x ambiente não foi um fator determinante no desempenho dos genótipos. Houve boa concordância entre os resultados dos dois experimentos, indicando que os genótipos resistentes identificados em um experimento também apresentaram boa performance no outro.

Outro parâmetro importante como estratégia de seleção para melhoramento é o coeficiente de variação relativa (*CVr*), que representa a razão entre o (*CVgi*) e o (*CVe*). Segundo Vencovsky (1987), quando o índice está próximo ou acima de 1, pode-se interpretar que existem ótimas condições para seleção de uma característica específica. No entanto, o *CVr*, obtido neste trabalho, foi de 74,46% para variável lesão de vagem, sendo considerada mediana.

As estimativas do coeficiente de variação experimental (*CVe*) demonstrou um valor consideravelmente baixo para a variável lesão de vagem e validaram boas condições e precisão na condução do experimento.

O coeficiente de variação genotípica (*CVgi*%) é o coeficiente que quantifica e confirma a disponibilidade da variabilidade genética, mostra que há variabilidade na população. A existência dessa variabilidade é fundamental para seleção dos genótipos superiores resistentes ao CBC. No entanto, os resultados para lesão de vagem foram de 13,09%, mostrando uma baixa variabilidade entre os genótipos.

Os parâmetros genéticos tais como a herdabilidade, acurácia seletiva, variância fenotípica e variância genotípica, são altamente específicos para cada variável, população e ambiente. Isso significa que eles podem ser facilmente alterados por diversos fatores, como o tamanho da amostra, o número de repetições, a densidade da população e os métodos de estimação utilizados. Como resultado, comparar parâmetros genéticos de diferentes estudos pode se tornar incoerente na maioria das vezes, pois as condições em que os estudos foram realizados podem ser muito diferentes (Pesek e Baker, 1971; Vencovsky e Barriga, 1992).

6.2. Análise de componentes principais – PCA

Para a análise de PCA, não foi possível identificar a formação de grupos para nenhuma variável (cor de semente e instituição) em relação às variáveis de resistência. A soma da PC1 mais PC2 explicam 96,6% da variação total. A análise de PCA está dividida em quatro quadrantes. No primeiro quadrante, foi possível identificar muitos genótipos suscetíveis ao CBC em folhas. No segundo quadrante, observa-se em destaque o genótipo GEN203, que apresentou a menor AACPD e NF, sendo está uma linhagem do IAPAR. É possível afirmar que devido ao longo processo de melhoramento em que as linhagens do IAPAR estão sendo desenvolvidas, é notável que as linhagens dos quadrantes dois e três: GEN203, GEN219, GEN208, GEN206, GEN228, GEN204, GEN198, GEN205, GEN199, GEN197, GEN193, GEN220, GEN209, GEN200, GEN210, GEN211, GEN213 e GEN217, estão indiretamente sendo selecionadas como genótipos mais resistentes ao Crestamento Bacteriano Comum. Foi observado moderada resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas para o GEN123, que é uma linhagem tipo creme do CIAT.

O GEN184 linhagem tipo preto do CIAT, para moderada resistência em folhas e em vagens, mostrado duplo propósito. Os genes responsáveis pela resistência ao CBC em folhas e em vagens no feijão não tem efeito pleiotrópico, portanto, a determinação de genótipos com resistência a ambas as variáveis é importante para a incorporação em programas de melhoramento genético visando a resistência ao CBC na cultura do feijoeiro.

Com relação à variável lesão de vagem, foi observado os genótipos mais bem ranqueados nos quadrantes três e quatro, representado pelos genótipos GEN114 tipo carioca da UFV, GEN183 tipo preto do CIAT, GEN148 tipo carioca do CIAT, GEN41 tipo preto da FT sementes e o GEN95 tipo preto do IAPAR.

6.3. Estrutura populacional

A análise de estrutura de população, apontam a formação de dois grandes grupos com base nos SNPs, sendo composto predominantemente por genótipos do grupo comercial feijão-carioca e outro composto por genótipos do grupo de feijão-preto.

6.4. GWAS

Neste estudo, foi possível identificar 11 QTNs associados à CBC em folhas de *P. vulgaris*. Contudo, a aplicação de modelos de efeito único, como o modelo linear generalizado (GLM) e o modelo linear misto (MLM), não resultou na detecção de QTNs de maior efeito. Esta observação pode ser atribuída à complexidade genética da resistência ao CBC em feijoeiro, amplamente caracterizada na literatura como oligogênica ou poligênica, envolvendo múltiplos genes com variação nos níveis de expressão e interações genéticas (Coyne e Schuster, 1974; Kelly et al., 2003; Santos et al., 2003; Manzanera et al., 2005, Zapata et al., 2011; Viteri et al., 2014). Métodos de análise de loci único oferecem uma abordagem unidimensional na varredura do genoma, onde cada marcador é avaliado individualmente. Esta estratégia se mostra menos eficiente na estimação dos efeitos de marcadores governados por interações entre múltiplos loci (Wang et al., 2016). Tais métodos adotam correções rigorosas para múltiplos testes, como o critério de Bonferroni, limitando sua eficácia na detecção de loci menores, responsáveis por características complexas (Segura et al., 2012; Wang et al., 2016). Em contrapartida, abordagens multi-locus permitem uma análise multidimensional, avaliando simultaneamente o efeito de todos os marcadores (Cui et al., 2018). Estes métodos, ao dispensarem a correção de Bonferroni, potencializam significativamente o poder estatístico e minimizam o risco de erros tipo I (Tamba et al., 2017; Wen et al., 2017; Zhang et al., 2017). A ausência de genes de resistência vertical, que desencadeiam respostas de hipersensibilidade, destaca a importância dos genes de efeito menor, os quais conferem uma resistência parcial e diminuem a população efetiva do patógeno, retardando a emergência de novas variantes virulentas (Brun et al., 2010).

A resistência quantitativa, evidenciada por este estudo, reflete a variação contínua dos fenótipos de resistência, desde a expressão leve até formas mais severas da doença. Tal resistência é conferida por loci poligênicos, conhecidos sob diversos termos como resistência complexa, parcial ou horizontal (Do Vale et al., 2001). Notavelmente, foi identificado 11 QTNs de efeito quantitativo utilizando abordagens multi-locus, cujas vantagens já foram documentadas em culturas como algodão e feijão (Li et al., 2018; Delfini et al., 2021). Este enfoque multidimensional facilita a compreensão do controle genético sobre características complexas (Wang et al., 2016). Nesse contexto, foram priorizados quatro métodos multi-locus para a

detecção de QTNs: FASTmrMLM, mrMLM, ISIS EM-BLASSO, e pLARmEB. A robustez dessas abordagens de associação foi demonstrada pela identificação de QTNs específicos em diferentes locais cromossômicos, refletindo a confiabilidade dos QTNs identificados. Curiosamente, QTNs localizados no cromossomo chr05 não foram associados à resistência ao CBC, evidenciando a complexidade e a diversidade dos mecanismos genéticos subjacentes à resistência.

6.5. Identificação de genes candidatos relacionados à resistência quantitativa ao Crestamento Bacteriano Comum

Neste trabalho, foi identificado um conjunto de 48 genes candidatos à resistência ao CBC, com destaque para 12 genes localizados no cromossomo 11, diretamente associados à sinalização de proteínas de resistência, a saber: *Phvul.011G192900*; *Phvul.011G193100*; *Phvul.011G193800*; *Phvul.011G193966*; *Phvul.011G194800*; *Phvul.011G195000*; *Phvul.011G195200*; *Phvul.011G195300*; *Phvul.011G195400*; *Phvul.011G195500*; *Phvul.011G195600*; e *Phvul.011G195751*. O gene *Phvul.001G175900*, localizado no cromossomo 1, foi identificado como crucial para a resposta defensiva a patógenos. A análise também permitiu conhecer a relevância do gene *Phvul.002G002000* no cromossomo 2 e de vários genes no cromossomo 3 associados ao ácido jasmonato, um fitormônio essencial nas respostas vegetais a estresses bióticos e abióticos (Turner et al., 2002; Yu et al., 2018).

Estudos prévios enfatizaram a importância do ácido jasmonato na resistência a patógenos em diversas espécies vegetais, destacando a função desses fitormônios como mediadores de respostas defensivas complexas (Thomma et al., 2000; Yao e Tian, 2005; Belhadj et al., 2006; Cao et al., 2008; Zhu e Tian, 2012; Andrade et al., 2013; Ferraz et al., 2015). Essas investigações evidenciam a capacidade das plantas de utilizar sinalizadores hormonais para orquestrar uma resposta coordenada ao estresse patogênico.

A iniciação do sistema defensivo em plantas é desencadeada pelo reconhecimento de patógenos por receptores específicos, que ativam uma rede de sinalização intracelular complexa, regulando as respostas de defesa (Spoel e Dong, 2012). Esta rede envolve diversas famílias de genes que codificam proteínas cruciais na resposta imune, incluindo as serina/treonina quinases (RSTK), que são

essenciais na imunidade inata desencadeada por padrões moleculares associados a microrganismos (MAMPs) (Zipfel, 2014; Ranf, 2017; Ranf, 2018; Boller, 2002).

Neste trabalho foi possível identificar 19 genes que codificam para as proteínas RSTK, destacando seu papel central na defesa contra patógenos através do reconhecimento de MAMPs e da ativação subsequente de respostas imunes. Ademais, 10 genes associados a proteínas quinases receptoras tipo RLK foram identificados, ressaltando a importância dessas proteínas na percepção de sinais extracelulares e na iniciação de vias de sinalização que mediam respostas defensivas. Melotto et al. (2017), destacaram o papel das quinases semelhantes a receptores (RLKs) e proteínas semelhantes a receptores (RLPs) na mediação da resistência a patógenos bacterianos no feijoeiro comum. Essas proteínas estão envolvidas no reconhecimento de elicitores microbianos, ativando respostas de defesa como a produção de compostos antimicrobianos e reforço da parede celular vegetal.

Os resultados aqui apresentados realçam a importância dos genes de resistência quantitativa no manejo da resistência ao Crestamento Bacteriano Comum (CBC) em feijoeiro. A descoberta desses genes possibilita o desenvolvimento de estratégias de melhoramento genético que visam a combinação desses genes de resistência, a fim de conferir uma proteção eficaz e duradoura contra patógenos. A resistência quantitativa, por impor menor pressão seletiva sobre os patógenos, oferece uma abordagem sustentável para o manejo de doenças em culturas agrícolas, promovendo a durabilidade da resistência e mitigando o risco de superação da resistência.

7. CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos neste trabalho, foi possível observar uma grande variabilidade genética entre os genótipos de feijão avaliados para resistência ao Crestamento Bacteriano Comum em folhas e em vagens. Foi possível determinar por meio da escala de notas em folhas, a identificação do genótipo GEN203 resistente ao CBC em folhas. Também foi identificado que o genótipo GEN184 foi resistente ao CBC em folha e moderadamente resistente quando se refere a vagem. Esses genótipos poderão ser utilizados como fonte de resistência em futuros programas de melhoramento do feijão ao CBC.

Por meio do estudo da análise de associação genômica ampla, o GWAS, foi possível identificar regiões genômicas de interesse relacionadas à resistência ao CBC. Houve a identificação de muitos polimorfismos que resultaram em 11 QTNs associados à resistência ao CBC, dos quais, corroboraram com 48 genes candidatos. Os genes identificados neste trabalho desempenham funções diferentes no metabolismo da planta, sendo, portanto, recomendado a sua utilização como alvo de estudos futuros para o melhoramento da resistência ao CBC no feijão. Os SNPs associados possuem potencial para serem usados em Seleção Assistida por Marcadores e transcriptômica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdurakhmonov, Y.I., Abdugarimov, A. (2008) Application of association mapping to understand the genetic diversity of plant germoplasm resources. *International Journal of Plant Genomics*, New York, p. 1-18.
- Abo-Elyousr, K. A. I., Muhammad, A., Najeeb, A., Esmat, H., Sabry, S., Nashwa, K., Youssef, A. R., Ismail, B., Hadeel, M. (2022) Controlling of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* by induction of phenolic compounds in bean plants using salicylic and benzoic acids. *Journal of Plant Pathology*. Vol. 104. 10.1007/s42161-022-01102-5.
- Aguiar, A.T.E., Gonçalves, C., Paterniani, M.E.A.G.Z., Tucci, M.L.S., Castro, C.E.F. (2014) Introduções agrícolas para as principais culturas econômicas. *Boletim número 200. 7ª edição*. Instituto Agronômico de Campinas, 170-172.
- Alqudah, A.M. Sallam, A., Baenziger, P.S., Börner, A. (2020) GWAS: Fast-forwarding gene identification and characterization in temperate Cereals: lessons from Barley – A review. *Journal of Advanced Research* 22. 119–135 <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.10.013>
- Ambachew, D., Joshua, J., Mmbaga, M.T., Blair, M.W. (2021) Sources of resistance to common bacterial blight and charcoal rot disease for the production of mesoamerican common beans in the southern United States. *Plants* 10: 998.

- Andrade, C. C. L., Resende R. S., Rodrigues F. A., Silveira P. R., Rios J. A., Oliveira J. R., Mariano, R. L. R. (2013) Inducers of resistance on the control of tomato bacterial speck and on the activity of defense enzymes. *Trop. plant pathol.* 38 (1). doi: 10.1590/S1982-56762013000100004
- Andrade, M.J.B.O., Figueiredo, M.A., Martins, F.A.D. (2015) *Exigências Edafoclimáticas*. In: Carneiro. J. E; De Paula Junior. T. J.; Borém, A. (ed) Feijão. Viçosa: Ed. UFV, p. 67-95.
- Andrus, C. F. (1948) A method of testing beans for resistance to bacterial blights. *Phytopathology*, 38:757-759.
- Aranzana, M. J., Kim, S., Zhao, K., Bakker, E., Horton, M., Jakob, K., Lister, C., Molitor, J., Shindo, C., Tang, C., Toomajian, C., Traw, B., Zheng, H., Bergelson, J., Dean, C., Marjoram, P., Nordborg, M. (2005) Genome Wide association mapping in *Arabidopsis* identifies previously known flowering time and pathogen resistance genes. *Plos Genetics*, v. 5, n.1, p. 531-539.
- Ariyoshi C, Sant'ana GC, Felicio MS, Sera GH, Nogueira LM, Rodrigues LMR, Ferreira RV, da Silva BSR, de Resende MLV, Destéfano SAL, Domingues DS, Pereira LFP. (2022) Genome-wide association study for resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* in *Coffea arabica*. *Front Plant Sci.*18;13:989847. doi: 10.3389/fpls.2022.989847. PMID: 36330243; PMCID: PMC9624508.
- Arnaud-Santana, E., D.P. Coyne, D.P., Eskridge K.M., and Vidaver, A.K. (1994) Inheritance; Low Correlations of Leaf, Pod, and Seed Reactions to Common Blight Disease in Common Beans; and Implications for Selection. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119(1):116-121.
- Barbosa, C.C.F. Paulino, J.F.C., Almeida, C.P., Carbonell, S.A.M, Chiorato, A.F., Benchimol-Reis, L.L. (2022). Association mapping for common bacterial blight in carioca beans. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 22 (3) doi.org/10.1590/1984-70332022v22n3a32

- Bedendo, I. P., Belasque, J. (2018) Bactérias fitopatogênicas. In: Amorim, L., Bergamin Filho, A., Rezende, J. A. M. *Manual de Fitopatologia*, UFV, volume 1, p.143-160 cap.9.
- Belete, T. e Bastas, K.K. (2017) Common bacterial blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) of beans with special focus on Ethiopian condition. *Journal of Plant Pathology & Microbiology* 08: 10.
- Belhadj, A.S, Cassandrine, T., Nadège, C., StéphaniE, B., Jérôme, M.F, Coriocostet, M., Jean-Michel. (2006). Methyl Jasmonate Induces Defense Responses in Grapevine and Triggers Protection against *Erysiphe necator*. *Journal of agricultural and food chemistry*. 54. 9119-25. doi:10.1021/jf0618022.
- Bennett, M.D, Leitch, I.J. (1995) Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Ann Bot* 76:113-116.
- Bianchini, A; Maringoni, A.C.; Carneiro, S.M.T.P.G. (2005) Doenças do feijoeiro. In: Kimati, H. Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Rezende, J.A.M. (Ed.). *Manual de fitopatologia -Doenças das plantas cultivadas* São Paulo: Editora Ceres, p.333-349.
- Bitocchi, E. et al. (2012) Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 109, n. 14, p. E788-E796.
- Bitocchi, E., Rau, D., Bellucci, E., Rodriguez, M., Murgia, M. L., Gioia, T., Santo D., Nanni, L., Attene, G., Papa, R. (2017) Beans (*Phaseolus* spp.) as a Model for Understanding Crop Evolution. *Frontiers in Plant Science*. Vol.8. doi: 10.3389/fpls.2017.00722.
- Boersma, J.G, Hou, A., Gillard, C.L., Mcrae, K.B., Conner, R.L. (2015) Impact of common bacterial blight on the yield, seed weight and seed discoloration of different market 88 classes of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Canadian Journal of Plant Science* 95: 703–710.
- Boller, T. (2002). Experimental evidence of a role for RLKs in innate immunity. In Receptor-Like Kinases in Plants: From Development to Defense. Tax, F., Kemmerling, B., Eds., Springer Berlin Heidelberg, pp. 67–77.

- Borém, A., Carneiro, J.E. (2015) *A cultura*. In: Carneiro, J. E; De Paula Junior, T. J., Bórem, A., Feijão. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, 9-15.
- Borkar, S. G. e Yumlembam, R. A. (2016) Doenças bacterianas de culturas de leguminosas. *Em doenças bacterianas de plantas cultivadas* (pp. 55–74).
- Bradbury, P.J.; Zhang, Z.; Kroon, D., Casstevens, T.M.; Ramdoss, Y.; Buckler, E.S. (2007) Tassel: Software for association mapping of complex traits in diverse samples: *Bioinformatics*. n. 23, v.1, p.2633-2635.
- Brookes, A. J. (1999) The essence of SNPs. *Gene*, 234(2), 177–186. doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00219-X
- Broughton, W.J., Hernandez, G, Blair, M.W., Beebe, S. E., Gepts, P., Vanderleyden, J. (2003) Beans (*Phaseolus* spp.) model food legumes. *Plant Soil*, 252:55-128.
- Brun, H., Chèvre, A., Fitt, B.D.L., Powers, S., Besnard, A., Ermel, M., (2010) Quantitative resistance increases the durability of qualitative resistance to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus*. *New Phytol.* 185, 285–299. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.03049.x
- Burle, M.L., Fonseca, J.R., Kami, J.A., Gepts, P. (2010) Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. *Theoretical and Applied Genetics* 121(5):801-813.
- Canale, M. C., Ribeiro, L. do P., Castlhos, R. V., Wordell Filho, J. A. (2021). Pragas e doenças do feijão: diagnose, danos e estratégias de manejo. Boletim Técnico, (197). Disponível em: <https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/BT/article/view/1113>
- Cao, S., Zheng, Y., Yang, Z., Tang, S., Jin, P., Wang, K., Wang, C. (2008) Effect of methyl jasmonate on the inhibition of *Colletotrichum acutatum* infection in loquat fruit and the possible mechanisms. *Postharvest Biology and Technology*, v.49, p.301-307, 2008.
- Carneiro, J.E.S., De Paula Júnior, T.J., Borém, A. (2015) *Feijão do plantio à colheita*. Ed. Viçosa, MG: UFV, 384p.

- Cavalcanti, T. F. M. et al. (2021) Custodians of common bean diversity in Rio de Janeiro state, Brazil: revealing their socioeconomic and environmental profile. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, v. 45, n. 8, p. 1165–1188.
- Chang, F.G., Guo, C.Y., Sun, F.L., Zhang, J.S., Wang, Z.L., Kong, J.J. (2018). Genome-wide association studies for dynamic plant height and number of nodes on the main stem in summer sowing soybeans. *Front. Plant science*. 9, 1184. doi: 10.3389/fpls.2018.01184
- Ching, A., Caldwell, K.S., Jung, M.T., Dolan, M. (2002). SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. *BMC Genetics* 3(1):19 doi:10.1186/1471-2156-3-19
- Chiorato, A. F., Reis, L. L. B., Bezerra, L. M. C., Carbonell, S. A. M. (2018) Global vision on common bean breeding cultivars. In: Campos-Vega, R.; Bassinello, P. Z.; Oomah, B. D. (ed.). *Phaseolus vulgaris: cultivars, production and uses*. Nova Science Publishers. p. 27-68.
- Coelho, C.M.M., Coimbra, J.L.M., de Souza, C.A., Bogo, A., Guidolin, A.F. (2007) Genetic diversity in common bean accessions. *Ciência Rural* 37(5):1241-1247.
- CONAB (2016) Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb>.
- CONAB (2020) Companhia Nacional de Abastecimento. Boletim da safra de grãos. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>.
- CONAB (2021) Companhia Nacional de Abastecimento. Boletim da safra de grãos: safra 2020/21. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/index.php/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>
- CONAB (2023) Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5258-conab-atualiza-a-estimativa-da-safra-de-graos-2023-2024-que-deve-chegar-a-316-7-milhoes-de-toneladas>.

- CONAB (2024) Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 11, safra 2023/24, n. 6 sexto levantamento.
- CONAFER (2020) Confederação Nacional da Agricultura Familiar e Economia Solidária. Disponível em: <https://conafef.org.br/feijao-o-alimento-mais-brasileiro-mostra-a-forca-da-agricultura-familiar/>
- Costa, J. G. C. da C. (2023) *Cultivo do feijão*. Morfologia. Embrapa Arroz e Feijão. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao/pre-producao/morfologia>
- Costa, J.G.C., Rava, C.A. (2003) Linhagens de feijoeiro comum com fenótipos agrônômicos favoráveis e resistência ao Crestamento Bacteriano Comum e antracnose. *Cienc e Agrotecnol*, 27(5): 1176–1182.
- Costa, A. F. et al. (2019) Melhoramento do feijão-caupi para o semiárido brasileiro: situação atual e perspectivas. In: Ximenes, L. F.; Silva, M. S. L.; Brito, L. T. L. (eds.). *Tecnologias de convivência com o semiárido brasileiro*. Fortaleza, CE: Banco do Nordeste do Brasil, p.733-790.
- Costa, L., Debona, D., Silveira, P. (2020) Phosphites of manganese and zinc potentiate the resistance of common bean against infection by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. *Journal of Phytopathology*. doi:10.1111/jph.12944
- Coyne, D.P., Schuster, M.L. (1974) Breeding and genetic studies of tolerance to several bean (*Phaseolus vulgaris* L.) bacterial pathogens. *Euphytica* 23:651-656.
- Cui, Y.; Zhang, F.; Zhou, Y. (2018) The application of multi-locus GWAS for the detection of salt-tolerance loci in rice. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, n. October, p. 1–9.
- D.A. Patel, M. Zander, J. Dalton-Morgan, J. Batley. (2015) Advances in Plant Genotyping: Where the Future will Take Us, *Plant Genotyping Springer*, pp. 1-11
- Darmon, N., Drewnowski, A. (2015) Contribution of food prices and diet cost to socioeconomic disparities in diet quality and health: a systematic review and

analysis. *Nutrition Reviews*, v. 73, n. 10, p. 643-660. doi: dx.doi.org/10.1093/nutrit/nuv027.

Davey J.W.; Hohenlohe P. A.; Etter P. D.; Boone J. Q.; Catchen J. M.; Blaxter M. L. (2011) Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics*, v.12(7):499-510. doi: 10.1038/nrg3012. PMID: 21681211.

De Ron, A. M. et al. (2015) Common bean. In: Grain legumes. *Springer*, p. 1-36.

Debouck, D. (1991) Systematics and morphology. In: Schoonhoven, Aart V.; Voyset, Oswald (eds.) Common Beans – Research for crop improvement. Cali, CAB international, CIAT, p. 55-118.

Delfini, J., Moda-Cirino, V., Do Santos, Neto, J., Zeffa, D.M., Nogueira, A.N., Gonçalves, L.S.A., (2021). Population structure, genetic diversity, and genomic selection signatures among a Brazilian common bean germplasm. *Scientific Reports*, v. 11. 10.1038/s41598-021-82437-4

Delgado-Salinas, A., Bibler, R. e Lavin, M. (2006) Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): a recent diversification in an ancient landscape. *Systematic Botany* 31 (4): 779–791.

Deschamps, S., Llaca, V., May, G.D. (2012) Genotyping-by-Sequencing in Plants. *Biology*, v. 1, n. 3, p. 460–483.

Díaz, C.G., Bassanezi, R.B., Godoy, C.V., Lopes, D.B., Bergamin Filho, A. (2001) Quantificação do efeito do Crestamento Bacteriano Comum na eficiência fotossintética e na produção do feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 26:71-76.

Ding R, Yang M, Quan J, Li S, Zhuang Z, Zhou S, Zheng E, Hong L, Li Z, Cai G, Huang W, Wu Z, Yang J. (2019) Single-locus and multi-locus genome-wide association studies for intramuscular fat in Duroc pigs. *Frontiers in genetics*. 28(10), p. 1-12, article 619. doi: 10.3389/fgene.2019.00619. PMID: 31316554; PMCID: PMC6609572.

- Do Vale Ribeiro, F. X., Parlevliet, J. E., and Zambolim, L. (2001) Concept sim plant disease resistance. *Fitopatologia Brasileira*, v.26, n.3, p. 577-589. doi: 10.1590/S0100-41582001000300001
- Dourado Neto, D., Fancelli, A. L. (2000) *Produção de feijão*. Guaíba: Agropecuária.
- Edwards, D., Forster, J.W.; Chagne, D., Batley, J. *Whats is SNPs?* In: Oraguzie, N. C., Rikkerink, E.H.A., Gardiner, S.E., Silva, H.N. (2007) *Associaton Mapping in Plants*. Berlin: Springer, 2007. p. 41-52.
- Elshire, R.J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S., & Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE*, 6(5), 1–10. doi.org/10.1371/journal.pone.0019379
- Embrapa (2017) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa arroz e feijão. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1062715/catalogo-de-cultivares-de-feijao-comum>
- Embrapa (2023) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa arroz e feijão. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao/pos-producao/consumo#:~:text=Segundo%20estimativas%20da%20Embrapa%20Arroz,kg%2Fhab%2C%20em%201996.>
- Evanno, G.; Regnaut, S.; Goudet, J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, v. 14, n. 8, p. 2611-2620.
- Falconer, D. S. (1993) Quantitative genetics in Edinburgh: 1947-1980. *Genetics* 133: 137-142.
- Faleiro, G. (2007) *Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos*. 1. ed. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados.

- FAOSTAT (2022) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics: FAOSTAT Domains/Production/Crops. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Ferraz, H.G.M., Resende R.S., Moreira P.C., Silveira P.R., Milagres E.A., Oliveira J.R., Rodrigues F.A. (2015). Antagonistic rhizobacteria and jasmonic acid induce resistance against tomato bacterial spot. *Plant Protection Bragantia* 74 (4). doi: 10.1590/1678-4499.0074
- Ferreira, A. W., Junior, M. L. (2021) *Cultivo do feijão*. Doenças. Embrapa Arroz e Feijão. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao/producao/doencas>.
- Ferreira, C.F., Pereira, M.G., Santos, A.S., Rodrigues, R., Smith, R.E.B., Viana, A.P., Daher, R.F. (2004) *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) recombinant inbred lines. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 4(1):100-104.
- Frare, V.C., Moura, C.J.F., Togni, D.A.J., Moraes, M.H.D., Menten, J.O.M. (2002) A importância dos testes de sanidade de sementes para a cultura do feijoeiro. In: Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes. Sete Lagoas, Anais. EMBRAPA-CNPMS. 19P.
- Gadaga, S. J. C.; Siqueira, C. S.; Machado, J. C. (2018) Detecção molecular de *Colletotrichum lindemuthianum* em amostras de sementes de feijão. *Journal of Seed Science*, v.40, n.4, p.370-377.
- Gebhardt, C. (2007) Molecular markers, maps, and population genetics. In: Vreugdenhil, D. (ed). *Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives*. Amsterdam: Elsevier, P. 77-89.
- Gepts, P. (1990) Biochemical evidence bearing on the domestication of *Phaseolus* beans. *Economic Botany*, Bronx, v. 44, p. 28-38.
- Granado, F.S., Maia, E.G., Mendes, L.L., Claro, R.M. (2021) Reduction of traditional food consumption in Brazilian diet: trends and forecasting of bean consumption (2007-2030). *Public Health Nutr.* 24(6):1185-1192. doi:

10.1017/S1368980020005066. Epub. PMID: 33314999; PMCID: PMC10195620.

Hardy G. H. (1908) Mendelian proportions in a mixed population. *Science* 28:49-50.

Harveson, RM e Schwartz, HF (2007). *Doenças bacterianas do feijão comestível seco nas planícies altas centrais*. Progresso fitossanitário. *Sociedades Científicas*. doi.org/10.1094/php-2007-0125-01-dg.

Hayward, A.C. (1993) The hosts of *Xanthomonas*. In Swings, J.G., Civerolo, E.L., (eds.) *Xanthomonas*, Chapman & Hall, p. 51-54.

Hayward A. C., Tollenaere R., Dalton-Morgan J., Batley J. (2015) Molecular marker applications in plants. *Methods Mol. Biol.* 1245, 13–27. 10.1007/978-1-4939-1966-6_2

He, J., Zhao, X., Laroche, A., Lu, Z. X., Liu, H., and Li, Z. (2014). Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Front. Plant Sci.* 5:484. doi: 10.3389/fpls.2014.00484

Hedrick, P. W. (2010) *Genetics of populations*. 4. Ed. Sudbury, MA: Jones and Bartlett Publishers. 675 p.

Huang, X.H.; Han, B. (2014). Natural variations and genome-wide association studies in crop plants. *Annual Review of Plant Biology*, v. 65, p. 531-551, doi: doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-035715.

Hyten, D.L., Song, Q., Fickus, E.W., Quigley, C.V., Lim, J.-S., Choi, I.-Y. (2010). High-throughput SNP discovery and assay development in common bean. *BMC Genomics* 11:475. doi: 10.1186/1471-2164-11-475

Inoue-Nagata, A. K., Lopes, C. A., Reis, A., Pereira, R. B., Quezado-Duval, A. M., Pinheiro, J. B., Lima, M. F. Doenças do tomateiro. In Amorim, L., Bergamin Filho, A., Rezende, J. A. M., Camargo, L. E. A. (2016) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 5. ed. Ouro Fino: *Agrônômica Ceres*. v. 2., 772 p.

Jacques, M.A., Josi, K., Darrasse, A., e Samson, R. (2005) *Xanthomonas axonopodis* pv. *faseoli* var. *fuscans* é agregado em tamanhos populacionais de

biofilme estáveis na filosfera de feijões cultivados no campo. *Microbiologia Ambiental Aplicada* 71:2008-2015.

Jayakanthan, S., McCann, C.E., Lutsenko, S. (2019) Biochemical and Cellular Properties of ATP7B Variants. In Karl Heinz W. and Michael S. Wilson Disease. *Elsevier* (pp. 33–50).

Jones, J. B., R. E. Stall, and H. Bouzar. (1998) Diversity among *Xanthomonas* pathogenic on pepper and tomato. *Annual Review of Phytopathology*, v. 36 :1, p. 41-58.

Kahl, G., Mast, A., Tooke, N., Shen, R., Boom, D. (2005) Single nucleotide Polymorphisms: Detection Techniques and Their Potential for Genotyping and Genome Mapping. In: The Handbook of Plant Genome Mapping: *Genetic and Physical Mapping*. doi: 10.1002/3527603514.ch4

Kalavacharla, V., Liu, Z., Meyers, B.C., Thimmapuram, J., Melmaiee, K. (2011) Identification and analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) transcriptomes by massively parallel pyrosequencing. *BMC Plant Biol.* 11;11:135. doi: 10.1186/1471-2229-11-135. PMID: 21985325; PMCID: PMC3209450.

Kandel, H., and Endres, G. (2019) *Dry Bean Production Guide* (Issue December). NDSU Extension. Disponível em: <https://www.ndsu.edu/agriculture/extension/publications/dry-bean-production-guide>

Karavina, C., Mandumbu, R., Parwada, C., Zivenge, E. (2011) Epiphytic Survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (E. F SM) *Journal of Animal & Plant Sciences*. 9(2):1161–1168

Kelly, J.D. (2010) The Story of Bean Breeding. Michigan State University (Ed.). U.S.A. 30 pp.

Kelly, J.D., Miklas P.N., Coyne, D.P., Gepts, P. (2003) Tagging and mapping of genes and QTL and molecular marker-assisted selection for traits of economic importance in bean and cowpea. *Field Crops Research*, 82:135-154.

- Kimati, H., e Mascarenhas, H.A.A. (1967) Incidência de doenças em ensaios de variedades de feijoeiro na cultura das águas no estado de São Paulo. *Bragantia*, 26:17-25.
- Koenig, R.L. and Gepts, P. (1989) Alloenzyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris*: further evidence for two major centers of genetic diversity. *Theoretical Applied Genetics*, v.78, p.809-817.
- Korte, A.; Ashley, F. (2013) The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review Self-fertilisation makes *Arabidopsis* particularly well suited to GWAS. *Plant methods*,v. 9, n. 1, p. 29.
- Koten, B.B., Natal, E., Wea, R., Randu, M.D., Aoetpah, A., Sabuna, C. (2022) Identification Of Weight And Size Diversity Of Arbila (*Phaseolus lunatus* L.) Seed As Feed In Amabi Oefeto District, Kupang Regency. In: *6th International Seminar of Animal Nutrition and Feed Science (ISANFS 2021)*. Atlantis Press 1:118-122.
- Kouonon, L.C., Koffi, K.A., Yao, Y.E.P., Goba, K.A.E., Koffi, K.G., Adjoumani, K., Sie, R.S. (2020) Morphological and Agronomical Characterization of Variability among a Collection of *Phaseolus lunatus* (L.) Local Morphotypes from Cote d'Ivoire. *International Journal of Agriculture Innovations and Research* 9:2319-1473.
- Lan S; Zheng C; Hauck K; McCausland M.; Duguid S. D.; Booker H. M.; Cloutier S.; You F. M. (2020) Genomic prediction accuracy of seven breeding selection traits improved by QTL identification in flax. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21(5):1577. doi: 10.3390/ijms21051577. PMID: 32106624; PMCID: PMC7084455.
- Li, C., Fu, Y., Sun, R., Wang, Y., Wang, Q. (2018). Single-locus and multilocus genome-wide association studies in genetic dissection of fiber quality traits in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Front. Plant Sci.* 9. doi:10.3389/fpls.2018.01083

- Litt, M., Luty, J.A. (1989) A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet* 44: 397–401.
- Mangabeira-Silva, I.S., Soares, P.E.T., Lanza, D.C.F. (2020). Single nucleotide polymorphism associated with disease resistance in *Penaeus vannamei*. *J Invertebr Pathol*. Volume 177, doi.org/10.1016/j.jip.2020.107498
- Manzanera, M.A.S., Asensio, C., Singh, S.P. (2005) Gamete Selection for Resistance to Common and Halo Bacterial Blights in Dry Bean Intergene Pool Populations. *Crop Science*. 46, p. 131-135.
- MAPA – Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Vegetal: Feijão. (2013). Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/feijao>.
- Maringoni, A.C. (1990) Controle químico do Crestamento Bacteriano Comum do feijoeiro e seu efeito na transmissão de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye pelas sementes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 25: 1151-1156.
- Maringoni, A.C., Fregonense, L.H., Tolofi, J.G., Kurozawa, C. (1993) Reação foliar da vagem de feijoeiro a *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e transmissão da bactéria pelas sementes. *Fitopatologia Brasileira*. 18(3): 412-415.
- Mariot, E. J. (1989) *Ecofisiologia do feijoeiro*. In: IAPAR, ed. O feijão no Paraná. Londrina: IAPAR, 25-41.
- Marques Júnior, O.G., Ramalho, M.A.P. (1995) Determinação da taxa de fecundação cruzada de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) nas diferentes épocas de semeadura em Lavras-MG. *Ciência e Prática*, 19(3): 339–341.
- Marrano A., Birolo G., Prazzoli M. L., Lorenzi S., Valle G., Grando M. S. (2017). SNP-discovery by RAD-sequencing in a germplasm collection of wild and cultivated grapevines (*V. vinifera* L.). *PloS One* 12 (1), e0170655. doi: 10.1371/journal.pone.0170655.
- Melotto, M., Zhang, L., Oblessuc, P. R., He, S. Y. (2017) Stomatal Defense a Decade Later. *Plant Physiology*, vol. 174, 561–571.

- Meuwissen T.H., Hayes B.J., Goddard M.E. (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157: 1819–1829.
- Miklas, P.N., Coyne, D.P., Grafton, K.F., Mutlu, N., Reiser, J., Lindgren, D.T., Singh, S.P. (2003) A major QTL for common bacterial blight resistance derives from the common bean great northern landrace cultivar Montana No. 5. *Euphytica*, 131: 137–146.
- Miklas, P. N., Pastor-Corrales, M. A., and Coyne, D. P. (2006). Origins of common bean: the final frontier. *Genome*, 49(6), 413-418.
- Moreto, A. L. (2008) Epistasia em cruzamento de feijão Andino x Mesoamericano. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) –Lavras – MG, Universidade Federal de Lavras - UFLA, 67p.
- Myers, J.R. and Kmieciak, K. (2017) Common Bean: Economic Importance and Relevance to Biological Science Research. In: de la VegaMarta, M., Santalla, M. and Marsolais, F., Eds., *The Common Bean Genome*, Springer, Cham, 1-20. doi.org/10.1007/978-3-319-63526-2_1
- Nadeem, M.A., Nawaz, M.A., Shahid, M.Q., Dogan, Y., Comertpay, G., Yildiz, M., Hatipoglu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., (2018) DNA molecular markers in plant breeding: Current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*32:261–285. doi: 10.1080/13102818.2017.1400401.
- Oliveira, L. F. C., Sarmiento, P. H. L., Oliveira, M. G. de C. (2023) *Cultivo do feijão*. Fenologia. Embrapa Arroz e Feijão. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao/pre-producao/fenologia>.
- Oliveira, M. G. de C.; Oliveira, L. F. C.; Wendland A. Guimarães, C. M.; Quintela, E. D.; Barbosa, F.R.; Carvalho, M. da C. S.; Lobo Junior, M.; Silveira, P. M. da. (2018) *Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos*. Embrapa Arroz e Feijão – Brasília, DF: Embrapa, 59 p.
- Pedraza, F.; Gallego, G.; Beebe, S. E.; Tohme, J. (1997) Marcadores SCAR y RAPD para la resistencia a la bacteriosis común (CBB). In: SINGH, S. P.;

- VOYSEST, O. (Ed), Taller de mejoramiento de frijol para el Siglo XXI: Bases para una estrategia para América Latina. CIAT, Cali, Colombia, p. 130-134.
- Paradela Filho, O., Carvalho, A.M.B., Pompeu, A.S. (1967) Ocorrência de *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* (Burk) Starr e Burk nos feijoeiros do estado de São Paulo. *Bragantia*, Campinas. 26:1-4.
- Pastor-Corrales, M.A., Beebe, S.E., Correa, F.J. (1981) Comparing two inoculation techniques for evaluating resistance in beans to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. In: International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. *Centro Internacional de Agricultura Tropical*, p. 493-503.
- Paula Júnior, T.J. de; Vieira, R.F; Teixeira, H. et al. (2008) Informações técnicas para cultivo do feijoeiro–comum na região central brasileira 2007-2009. Belo Horizonte: Epamig, 180p. (Epamig. Documentos, 42).
- Paula Júnior, T.J., Vieira, R.F., Teixeira, H., Lobo Junior, M., Wendland, A. (2015) *Doenças do feijoeiro: estratégias integradas de manejo*. Embrapa arroz e feijão.
- Pereira, H. S. (2019) Genetic diversity among common bean cultivars based on agronomic traits and molecular markers and application to recommendation of parent lines. *Euphytica*, v.215, n. 2, p. 1-16.
- Perry, G., Dinatale, C., Xie, Navabi, W., Reinprecht, Y., Crosby, W. (2013) A comparison of the molecular organization of genomic regions associated with resistance to common bacterial blight in two *Phaseolus vulgaris* genotypes. *Frontiers Plant Sci*.
- Perseguini, J.M.K.C., Oblessuc, P.R., Rosa, J.R.B.F., Gomes, K.A., Chiorato, A.F., Carbonelli, S.A.M., (2016) Genome-Wide Association Studies of *Anthraco*se and *Angular Leaf Spot* Resistance in *Common Bean* (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plos one*, 11(art e0150506). doi:10.1371/journal.pone.0150506
- Pesek, J. and Baker, R.J. (1971) Comparison of predict and observed responses to selection for yield in wheat. *Canadian Journal of Plant Sciences*, v.51, n.3, p.187-192.

- Poland, J.A.; Rife, T.W. (2012) Genotyping-by-Sequencing for Plant Breeding and Genetics. *The Plant Genome*, v. 5, n. 3, p. 92–102.
- POWO. (2020) *Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew.* Disponível em: <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:325972-2>.
- POWO. Plants of the World Online. Jardim Botânico Real, Kew, 2021. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org/>.
- Price, L., Patterson, N.J., Plenge, R.M., Weinblatt, M.E., Shadick, N.A., Reich, D. (2006) Principal components analysis corrects for stratifications in genome-wide association studies. *Nature Genetics*, v. 38, n. 8, p. 904-909.
- Pritchard, J.K.; Stephens, M; Donnelly, P. (2000) Interference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, v. 155, n. 2, p. 945-959.
- Ranf, S. (2017) Sensing of molecular patterns through cell surface immune receptors. *Curr. Opin. Plant Biol.* 38, 68–77. doi: 10.1016/j.pbi.2017.04.011
- Ranf, S. (2018) Pattern recognition receptors-versatile genetic tools for engineering broad-spectrum disease resistance in crops. *Agronomy* 8, 134. doi: doi.org/10.3390/agronomy8080134
- Rendón-Anaya, M., Montero-Vargas, J.M., Saburido-Álvarez, S., Vlasova, A., Capella-Gutierrez, S., Ordaz-Ortiz, J.J., Aguilar, O.M., Vianello-Brondani, R.P., Santalla, M., Delaye, L. (2017) Genomic history of the origin and domestication of common bean unveils its closest sister species. *Genome biology* 18(1):60.
- Resende, M. D. V. (2002). *Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes* (975 p.). Colombo: Embrapa Florestas.
- Resende, M.D.V. de, Silva, F.F., Azevedo, C.F.A. (2014) *Estatística matemática, biométrica e computacional: modelos mistos, multivariados, categóricos e generalizados (REML/BLUP), inferência bayesiana, regressão aleatória, seleção genômica, QTL-GWAS, estatística especial e temporal, competição, sobrevivência*. Viçosa, MG: UFV, 882 p.

- Resende, M. D. V. (2016). Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 16(4), 330-339. <http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332016v16n4a49>.
- Rezene, Y., Mitiku, M., Tesfaye, K., Male, A., Gepts, P. (2018) Analysis of the molecular diversity of common bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *X. campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans*) strains from Ethiopia revealed by Rep-PCR genomic fingerprinting. *Journal of Biotechnology & Biomaterials* 8: 286.
- Robbs, C.F. (1954) A bacteriose do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Distrito Federal. *Agronomia*, Rio de Janeiro, 12:445-448.
- Rodrigues Neto, J., Malavolta, J.R., Victor, O. (1986) Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. *citri* tipo B. *Summa Phytopathologica*. 12: 16.
- Rodrigues, R., Leal, N. R., Pereira, M. G., Lam-Sánchez, A. (1999) Combining ability of *Phaseolus vulgaris* L. for resistance to common bacterial blight. *Genetics and Molecular Biology*, 22(4):571-575.
- Ron, A. M., Papa, R., Bitocchi, E., González, A. M., Debouck, D. G., Brick, M. A., Fourie, D., Marsolais, J. B., Geffroy, V., McClean, P., Santalla, M., Lozano, R., Yuste-Lisbona, F., & Casquero, P. A. (2015). Common Bean. In *Grain Legumes* (pp. 1–36). doi.org/10.1007/978-1-4939-2797-5.
- Saddler, G.S., Bradbury, J.F. (2005) *Xanthomonadales*. *Manual de Bacteriologia Sistemática* 63-122.
- Sansaloni, C.P. (2012) Desenvolvimento e aplicações de DArT (Diversity Arrays Technology) e genotipagem por sequenciamento (Genotyping-by-Sequencing) para análise genética em Eucalyptus. Brasília, 2012. (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade de Brasília. Retrieved from http://www.repositorio.unb.br/bitstream/10482/13400/1/2012_CarolinaPaolaSansaloni.pdf
- Santos (2013) *Melhoramento do feijão-de-vagem: herança da resistência a xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli* e potencial agrônômico de linhas

parcialmente endogâmicas obtidas pelo método ssd (tese doutorado).
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

- Santos, A.S., Bressan-Smith, R.E., Pereira, M.G., Rodrigues, R., Ferreira, C.F. (2003) Genetic Linkage Map of *Phaseolus vulgaris* L. and identification of QTLs responsible for resistance to *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. *Fitopatologia Brasileira*. 28(1), p. 5-10.
- Santos, J.B., Gavilanes, M.L. (2008). *Botânica*. In: Vieira, C., Paula Júnior, J., Borém. A. (eds.), Feijão. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, p.41–66.
- Santos, M.H., Hoyos-Villegas, V., Kelly, J.D. (2014) Genome-Wide association analysis for reaction to white mold in the Bean Cap Mesoamerican panel. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*, v. 57, p. 235.
- Sartorato, A.; Rava, C.A.; Rios, G.P. (1996) *Doenças fúngicas e bacterianas da parte aérea*. In: Araújo, S.A., Rava, C.A., Stone, L.F., Zimmermann, M.J.O. (Ed.). *A cultura do feijoeiro comum no Brasil* Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fósforo, p.669-722.
- Schmutz, J., McClean, P. E., Mamidi, S., Wu, G. A., Cannon, S. B., Grimwood, J., et al. (2014). A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nat. Genet.* 46, 707–713. doi: 10.1038/ng.3008
- Schröder S, Mamidi S., Lee R., McKain M. R., McClean P. E., et al., (2016) Optimization of genotyping by sequencing (GBS) data in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Molecular Breeding*; 36:6. doi:10.1007/s11032-015-0431-1.
- Schuster, M.L., Coyne, D.P. (1977) Survival of parasitic bacteria of plants grown in tropics with emphasis on beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.2, p.117-130.
- SEAB (2016) Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento, Governo do estado do Paraná. Disponível em <http://www.agricultura.pr.gov.br/deral/safras>

- Segura V., Vilhjalmsson B.J., Platt, A., Korte, A., Seren, U., Long, Q., (2012) An efficient multi-locus mixed-model approach for genome-wide association studies in structured populations. *Nat Genet.* 44(7):825–830. doi: 10.1038/ng.2314.
- Shailendar, K.M., Srikiran, C.S., Babu, P.R, Rao, K.V., Reddy, V.D. (2015) Classification of cytochrome P450s in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Systematics and Evolution*, 301:211–216.
- Shaner, G., Finney, R.F. (1977) The effects of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing in knox wheat. *Phytopathology*, 70:1183-1186.
- Shi, C., Navabi, A., Yu, K. (2011) Association mapping of common bacterial blight resistance QTL in Ontario bean breeding populations. *BMC Plant Biology* 11: 52.
- Silva, H. T. (2005) Descritores mínimos indicados para caracterizar cultivares/variedades de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Santo Antônio de Goiás: *Embrapa-CNPAP*, 32p. (Documentos, 184).
- Silva, H.D., Vencovsky, R., (2001). Poder de detecção de “Quantitative trait loci”, da análise de marcas simples e da regressão linear múltipla. *Scientia Agricola*. Piracicaba, Braz. vol.59 no.4.
- Silva, M.R., Silva, R.N.O. (2021) Morpho-agronomic characterization and genetic diversity in peppers (*Capsicum* spp.). *Surg Cosmet Dermatol*. doi.org/10.1590/1983-21252021v34n302rc
- Silva, R.J.S., Micheli, F.R.R.G. (2020). Predictor, a set-theory-based tool for predicting pathogen associated molecular pattern receptors (PRRs) and resistance (R) proteins from plants. *Genomics*, v. 112, n. 3, p. 2666–2676. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.03.001
- Silva, S. C. da, Heinemann, A. B. (2023) *Cultivo e feijão*. Clima. Embrapa Arroz e Feijão. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao/pre-producao/clima>.
- Simons, K. J., Oladzad, A., Lamma R., Maniruzzaman, M. P. E., Osorno, J. M., Pasche, J. S. (2021) Using breeding populations with a dual purpose: Cultivar

- development and gene mapping—A case study using resistance to common bacterial blight in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Frontiers in Plant Science*. Vol. 12. doi. 10.3389/fpls.2021.621097.
- Singh, P. S. and Miklas, P. N. (2015) Breeding Common Bean for Resistance to Common Blight: A Review. *Crop Science*, v. 55, p. 971-984.
- Singh, S.P. (2001) Broadening the genetic base of common bean cultivars: a review. *Crop Sci*, 41(6): 1659–1675.
- Singh, S.P., Gepts, P., Debouck, D.G. (1991) Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ Bot*, 45: 379–396.
- Soller, M., Beckmann, J.S. (1983) Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theoretical Applied Genetics*. v. 67, n.1, p.25-33.
- Soltani, A., MafiMoghaddam, S., Walter, K., Restrepo-Montoya, D., Mamidi, S., Schroder, S. (2017) Genetic architecture of flooding tolerance in the dry bean middle-american diversity panel. *Front. Plant Sci.* 8:1183. doi: 10.3389/fpls.2017.01183.
- Song, Q., Jia, G., Hyten, D.L., Jenkins, J., Hwang, E.-Y., Schroeder, S. G., (2015). SNP assay development for linkage map construction, anchoring whole genome sequence, and other genetic and genomic applications in common bean. *G3 Genes Genomes Genet.* 5, 2285–2290. doi: 10.1534/g3.115.020594.
- Souza, L. M. (2019) Genomic Selection in Rubber Tree Breeding: A Comparison of Models and Methods for Managing G×E Interactions. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, n. October, p. 1–14.
- Souza, M.F.M., Rodrigues, R., Amaral Júnior, A.T., Sudré, C P. (2008) Resistance to *Xanthomonas* spp. in tomato: diallel analysis and gene effects estimative in a breeding programme carried out in Brazil. *Journal of Phytopathology*, 156(11):660-667.
- Spoel, S.H., Dong, M.X. (2012) How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nature Reviews Immunology*. London, v. 12, n.2, p. 89-100. doi: 10.1038/nri3141

- Stall, R.E., Jones, J.B., Minsavage, G.V. (2009) Durability of resistance in tomato and pepper to *Xanthomonads* causing bacterial spot. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.47, p.265:284.
- Sukhumsirichart, W. (2018) Genetic Diversity and Disease Susceptibility. *Polymorphisms. intechopen.76728*Doi: 10.5772/
- Tamba, C.L., Ni, Y.L., Zhang, Y.M. (2017) Iterative sure independence screening EM-Bayesian LASSO algorithm for multi-locus genome-wide association studies. *PLoS Comput Biol* 13:1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005357>
- Tamba, C.L., Zhang, Y. (2018) A fast mrMLM algorithm for multi-locus genome-wide association studies. *bioRxiv*, 341784 <https://doi.org/10.1101/341784>
- Thomma, B.P.H.J., Eggermont, K., Broekaert, W.F., Cammue, B.P.A. (2000) Disease development of several fungi on *Arabidopsis* can be reduced by treatment with methyl jasmonate, *Plant Physiology and Biochemistry*, Volume 38, Issue 5, Pages 421-427,ISSN 0981-9428, [doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)00756-7](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)00756-7).
- Thung, M., Sartorato, A. (2002) *Alteração na ordem de importância das doenças do feijão-comum (Phaseolus vulgaris L.) devido a mudanças nas práticas culturais e na preferência do tipo de grão no Brasil*. In: Sartorato, A., Thung, M. (eds.) *Memórias da participação brasileira no "I Taller Internacional sobre la mancha angular del frijol"*. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão, 101p.
- Torkamaneh, D., Belzile, F. (2015) Scanning and Filling: Ultra-Dense SNP Genotyping Combining Genotyping-By- Sequencing, SNP Array and Whole-Genome Resequencing Data. *Plos one* doi:10.1371/journal.pone.0131533 July 10.
- Torkamaneh, D., Boyle, B., Belzile, F. (2018) Efficient genome-wide genotyping strategies and data integration in crop plants. *Theor Appl Genet* 131:499–511. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3056-z>
- Torres, J.P., Maringoni, A.C. (2018) *Crestamento Bacteriano Comum*. In: Dalla Pria, M., da Silva, O.C. (Org). *Cultura do feijão: doenças e controle*. Ponta Grossa. UEPG.

- Torres, J.P., Maringoni, A.C., Silva, T.A.F. (2009) Sobrevivência de *Xanthomonas axonopodis* pv. *faseoli* var. *fuscans* em folhetos de feijoeiro em solo. *Jornal de Patologia Vegetal* 91: 195-198.
- Trindade, R.S., Rodrigues, R., Amaral Júnior, A.T., Goncalves, L.S.A., Viana, J.M.S., Sudré, C.P. (2015) Combining ability for common bacterial blight resistance in snap and dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta Sci Agron*, (37):37–43.
- Trindade, R. dos S., Rodrigues, R., Amaral Júnior, A. T. do, Gonçalves, L. S. A., Daher, R.F., Sudré, C. P. (2012) Critical disease components of common bacterial blight to effectively evaluate resistant genotypes of snap bean. *J Gen Plant Pathol*. 78:201–206.
- Turner, J. G.; Ellis, C.; Devoto, A. (2002) A. The jasmonate signal pathway. *The Plant Cell*, Rockville, v. 14, n. suppl 1, p. S153-S164. doi: 10.1105/tpc.000679
- Uffelmann E., Huang Q.Q., Munung N.S., de Vries J., Okada Y., Martin A.R., (2021) Genome-wide association studies. *Nat. Rev. Methods Prim.* 1, 59. 10.1038/s43586-021-00056-9
- Uysal, B. and Bastas, K. K. (2018) Defense reactions of bean genotypes to bacterial pathogens in controlled conditions. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, vol. 142.
- Vencovsky, R.; Barriga, P. (1992) Genética biométrica no fitomelhoramento. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de genética, 486 p.
- Vieira, C. (1988) Phaseolus: Genetic Resources and breeding in Brazil In: Gepts, P. *Genetic Resources of Phaseolus Beans: Their maintenance, domestication, evolution, and utilization*, (Ed). Dordrecht, Holland: Springer Science & Business Media.
- Vieira, C., Borém, A., Ramalho, M.A.P. (1999) *Melhoramento do feijão*. In: Borém, A. *Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa. Ed. UFV, 273-349.
- Viteri, D.M., Cregan, P.B., Trapp, J.J., Miklas, P.N., Singh, S.P. (2014) 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*, 54: 1598-1608. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.01.0008>
- Viteri, M. D., Terán, H., Asensio, S.M., Asensio, C., Porch, T. G, Miklas, P. N., Singh, S. P. (2015) Progress in Breeding Andean Common Bean for Resistance to Common Bacterial Blight. *Crop Science*, 54: 2084-295.
- Vlasova, A., Capella, G.S., Rendón, A.M. (2016) Genome and transcriptome analysis of the Mesoamerican common bean and the role of gene duplications in establishing tissue and temporal specialization of genes. *Genome Biology*, 1:1-17.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M. (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res*, 23, 4407–14.
- Wallen, V.R., Sutton, M.D. (1965) *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* (Burkh.) Starr & Burkh. on field in Ontario. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.43, p.437-446.
- Wang J., Zhang, Z. (2021) GAPIT Version 3: Boosting Power and Accuracy for Genomic Association and Prediction. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, v. 19 (4), p. 629–640, <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2021.08.005>.
- Wang, S.B., Feng J.Y., Ren, W.L. (2016) Improving power and accuracy of genome-wide association studies via a multi-locus mixed linear model methodology. *Sci Rep* 6:1–10. doi.org/10.1038/srep19444
- Wang, W.S., Mauleon, R., Hu, Z.Q., Chebotarov, D., Tai, S.S., Wu, Z.C. (2018) Genomic variation in 3,010 diverse accessions of Asian cultivated rice. *Nature* 557 43–49. [10.1038/s41586-018-0063-69](https://doi.org/10.1038/s41586-018-0063-69)
- Wei, L., Jian, H., Lu, K., Filardo, F.O., Yin, N.O. (2016) Genome-wide association analysis and differential expression analysis of resistance to Sclerotinia stem rot in *Brassica napus*. *Plant Biotechnology Journal*, v. 14, n. 6, p. 1368-1380.
- Weinberg, W. (1908) Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. *Jh. Ver. vaterl. Naturk. Württemb.* 64:369–382.
- Weller, D.M., Saettler, A.W. (1980) Colonization and distribution of *Xanthomonas phaseoli* and *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* in field-grown navy beans. *Phytopathology*, St. Paul, v.70, p.500-506.

- Wen Y.J.; Zhang H, Ni Y. L.; Huang B.; Zhang J.; Feng J. Y.; Wang S. B.; Dunwell J. M.; Zhang Y. M.; Wu R. (2018) Methodological implementation of mixed linear models in multi-locus genome-wide association studies. *Briefings in bioinformatics*, v. 19, n. 4, p. 700–712.
- Wendland, A. (2021) Doenças bacterianas em cultivo de feijão. Embrapa Arroz e Feijão. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao/producao/doencas/doencas-bacterianas>.
- Wendland, A., Moreira, A.S., Bianchini, A. et al. (2016) Doenças do Feijoeiro. In: Amorim, L., Rezende, J.A.M., Bergamin Filho, A. et al. Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas. 5 ed. Ouro Fino: *Agronômica Ceres*, Cap.39, p.383-396.
- Wendland, A.; Lobo Junior, M.; Faria, J. C. de (2018) *Manual de identificação das principais doenças do feijoeiro comum*. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1102266/manual-de-identificacao-das-principais-doencas-do-feijoeiro-comum>
- Xie, W., Khanal, R., McClymont, S., Stonehouse, R., Bett, K., Yu, K. et al. (2017) Interaction of quantitative trait loci for resistance to common bacterial blight and pathogen isolates in *Phaseolus vulgaris* L. *Molecular Breeding*, 37, 55.
- Yao, D., Wu, H., Chen, Y., Yang, W., Gao, H. (2018) gmRAD: an integrated SNP calling pipeline for genetic mapping with RADseq across a hybrid population. *Brief. Bioinform.* bby:114. 10.1093/bib/bby114
- Yao, H.J., Tian, S.P. (2005) Effects of a biocontrol agent and methyl jasmonate on postharvest diseases of peach fruit and the possible mechanisms involved. *Journal of Applied Microbiology*. v. 98, p. 941 – 950. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02531.x
- Yokoyama, L. P., Banno, K., Kluthcouski. J. (1996) Aspectos socioeconômicos da cultura. In: Araujo, R. S., Rava, C. A., Stone, L. F., Zimmermann, M. J. O. (1996) *Cultura do feijoeiro comum no Brasil*. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, p. 1-21.

- Yu, J., Holland, J.B., McMullen, M.D., Buckler, E.S. (2006) Genetics design and statistical power of nested association mapping in maize. *Genetics*, v.178, n. 1, p. 539-551.
- Yu, J., Pressoir, G., Briggs, W.H. (2006) A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nat Genet* 38:203–208. <https://doi.org/10.1038/ng1702>
- Yu, X., Chen, G. P., Tang, B. Y., Zhang, J. L., Zhou, S. G., Hu, Z. L. (2018) The jasmonate ZIM-domain protein gene SIJAZ2 regulates plant morphology and accelerates flower initiation in *solanum lycopersicum* plants. *Plant Sci.* 267, 65–73. doi: 10.1016/j.plantsci.2017.11.008
- Yu. K.; Park, S.J.; Poysa, V. (2000) Marker assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: efficacy and economics. *Plant Breeding.* 119, p. 411-415.
- Zapata, M., Beaver, J. S., Porch, T. G. (2011) Dominant gene for common bean resistance to common bacterial blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. *Euphytica*, v.179, p.373-382.
- Zapata, M., Frytag, G.F., Wilkinson, R.L. (1985) Evaluation for bacterial blight resistance in beans. *Phytopathology*, St. Paul, 75:1032-1039.
- Zaumeyer, W.J. and Thomas, H.R. (1957) A monographic study of bean diseases and methods for their control. Washington, USDA. P.65-74 (Technical bulletin, 868).
- Zhang, Y.W., Tamba, C.L., Wen, Y.J., Li, P., Ren, W.L., Ni, Y.L., Gao, J., Zhang, Y.M. (2020) mrMLM v4.0.2: An R Platform for Multi-locus Genome-wide Association Studies. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 18(4):481-487. doi: 10.1016/j.gpb.2020.06.006. PMID: 33346083; PMCID: PMC8242264.
- Zhang, Y., Li, P., Ren, W., Ni, Y., and Zhang, Y. (2018). mrMLM: Multi-Locus Random-SNP-Effect Mixed Linear Model Tools for Genome-Wide Association Study. R package version 3.1. doi: CRAN.R-project.org/package=mrMLM

- Zhang, J., Feng, J.Y., Ni, Y.L., (2017) PLARmEB: Integration of least angle regression with empirical Bayes for multilocus genome-wide association studies. *Heredity* 118:517–524. doi.org/10.1038/hdy.2017.8
- Zhu, C., Gore, M., Buckler, E. S., Yu, J. (2008) Status and prospects of association mapping in plants. *Plant Genome*, Madison, V. 1, n.1, p. 5-20.
- Zhu, Z., Tian, S. (2012) Respostas resistentes de tomate tratado com metil exógeno. *Scientia Horticulturae* 142, 38–43. doi:10.1016/j.scienta.2012.05.002
- Zia, B., Shi A., Olaoye, D., Xiong, H., Ravelombola, W., Gepts, P., Schwartz, H.F., Brick, M. A., Otto, K., Ogg, B., Chen, S. (2022) Genome-Wide Association Study and Genomic Prediction for Bacterial Wilt Resistance in Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) Core Collection. *Frontiers in Genetics*. Vol.13. doi.10.3389/fgene.2022.853114.
- Ziegler, G., Pauli, D., Ren, M., Jenks, M.A., Gore, M.A. (2018) Genome-wide association study of ionomic traits on diverse soybean populations from germplasm collections. *Plant Physiology*, 176(2), 287-302.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D. (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176–83.
- Zipfel, C. (2014) Plant pattern-recognition receptors. *Trends Immunol.* 35, 345–351. doi: 10.1016/j.it.2014.05.004
- Zitnick-Anderson, K., Oladzadabbasabadi, A., Jain, S., Modderman, C., Osorno, J. M., McClean, P. E. (2020) Sources of resistance to *Fusarium solani* and associated genomic regions in common bean diversity panels. *Front. Genet.* 11:475. doi: 10.3389/fgene.2020.00475.
- Zuiderveen, G.H., Padder, B.A., Kamfwa, K., Song, Q., Kelly, J.D. (2016) Genome-Wide association study of anthracnose resistance in andean beans (*Phaseolus vulgaris*). *PLoS One* 11:e0156391. doi: 10.1371/journal.pone.0156391.