

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO**

ALLAN KLYNGER DA SILVA LOBATO

Novas evidências experimentais da resistência genética na cultivar de feijoeiro comum México 222 e validação do marcador molecular SW12

MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
MARÇO – 2010

ALLAN KLYNGER DA SILVA LOBATO

Novas evidências experimentais da resistência genética na cultivar de feijoeiro comum México 222 e validação do marcador molecular SW12

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Mestre.

Orientador (a): Prof^a Dr^a Maria Celeste Gonçalves Vidigal

MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
MARÇO – 2010

PÁGINA DESTINADA À FOLHA DE APROVAÇÃO. ENCONTRA-SE NA
SECRETARIA DO PGM

A Deus pela saúde, paz e disposição que me proporciona.
Aos meus pais, Manoel Cardoso Lobato e Maria Lúcia da Silva Lobato, que são os maiores responsáveis pela minha educação, formação e conduta.
Aos meus irmãos, Milvio Kelder da Silva Lobato e Sacha Manuely da Silva Lobato por todo o apoio e incentivo durante a realização deste curso de pós-graduação.
Aos meus familiares e amigos que sempre me estimularam em meus objetivos e por diversos momentos entenderam minha ausência.

Dedico, com carinho, este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade de realizar o Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, nível de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

À Dra. Maria Celeste Gonçalves Vidigal, pela orientação e confiança na condução das pesquisas.

Ao Dr. Pedro Soares Vidigal Filho, pelos diversos conselhos e diálogos que tivemos, possibilitando visualizar diversas possibilidades profissionais.

Aos vários professores com quem tive oportunidade de trabalhar e que conseqüentemente me ensinaram e me direcionaram com o objetivo de ter um colega no futuro.

À infra-estrutura do Núcleo de Pesquisa Aplicada à Agricultura (NUPAGRI).

BIOGRAFIA

Allan Klynger da Silva Lobato, filho de Maria Lúcia da Silva Lobato e Manoel Cardoso Lobato, cidadão brasileiro nascido em 01 de janeiro de 1985, na cidade de Belém, capital do estado do Pará.

No ano de 2008 foi diplomado em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil.

Em março de 2008, ingressou no curso de Mestrado em Genética e Melhoramento, área de concentração em Genética e Melhoramento, oferecido pela Universidade Estadual de Maringá.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Aspectos da cultura do feijoeiro	4
2.2. Variabilidade patogênica e sistemas de denominação de raças do <i>C. lindemuthianum</i>	5
2.3. Fontes de resistência	19
2.4. Cultivar mesoamericana México 222	23
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
CAPÍTULO I: Herança e alelismo da resistência à antracnose em feijoeiro comum cultivar México 222.....	39
1. INTRODUÇÃO.....	41
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
2.1. Localização do experimento.....	43
2.2. Obtenção das populações segregantes	43
2.3. Material patogênico e preparação do inóculo.....	43
2.4. Teste de herança da resistência	43
2.5. Teste de alelismo	44
2.6. Inoculação e incubação.....	44
2.7. Avaliação fenotípica da planta.....	45
2.8. Análise dos dados	46
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
3.1. Teste de Herança da resistência.....	47
3.2. Teste de Alelismo	47
4. CONCLUSÕES	50
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
CAPÍTULO II: Validação e uso do marcador SW12 ligado ao gene <i>Co-3</i> de resistência à antracnose em feijoeiro comum	55
1. INTRODUÇÃO	57
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	59
2.1. Localização do experimento.....	59

2.2. Obtenção da geração F ₁	59
2.3. Preparo do inóculo, inoculação e incubação	60
2.4. Método de avaliação dos sintomas	60
2.5. Extração e quantificação de DNA.....	61
2.6. Amplificação do marcador e visualização do gel.....	61
2.7. Análise dos dados e de ligação.....	61
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
3.1. Herança.....	63
3.2. Marcador molecular.....	64
4. CONCLUSÕES	66
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

RESUMO

LOBATO, Allan Klynger da Silva, M.Sc. Universidade Estadual de Maringá, março de 2010. **Novas evidências experimentais da resistência genética na cultivar de feijoeiro comum México 222 e validação do marcador molecular SW12**. Orientadora: Dra. Maria Celeste Gonçalves-Vidigal. Professores conselheiros: Dr. Pedro Soares Vidigal Filho e Dra. Giselly Figueiredo Lacanallo.

O objetivo deste estudo foi caracterizar a resistência genética da cultivar México 222 às raças 7 e 23 de *Colletotrichum lindemuthianum*, e validar a utilização do marcador molecular SW12 ligado ao gene de resistência *Co-3*. O objetivo deste estudo foi determinar a herança da resistência à antracnose usando o cruzamento entre as cultivares México 222 (R) x Michigan Dark Red Kidney (S) inoculado com a raça 7, além de investigar, por meio de testes de alelismo, a independência dos genes já caracterizados *Co-1*, *Co-2*, *Co-3*, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6* e *Co-7*. Os testes de herança realizados em indivíduos F_2 do cruzamento México 222 x MDRK, inoculados com a raça 7, revelaram a existência de dois genes dominantes de resistência na cultivar México 222. Adicionalmente, os testes de alelismo nas populações F_2 dos cruzamentos México 222 x Cornell 49-242 e México 222 x AB 136, inoculados com a raça 7, revelaram também a presença de dois genes em México 222. A ausência de segregação foi observada em 100 indivíduos F_2 resultantes de cada um dos cruzamentos México 222 x G 2333 e México 222 x H1 line, inoculados com a raça 7, revelando a presença de alelismo. Por sua vez, a natureza da resistência de México 222 à raça 23 de *C. lindemuthianum* é monogênica. Os resultados permitiram concluir que México 222, G 2333 e H1 line possuem alelos de um mesmo locus que conferem resistência à raça 7 de *C. lindemuthianum*. O marcador molecular SW12 testado na população F_2 do cruzamento México 222 x Widusa revelou que este marcador está ligado ao gene *Co-3* gene, em fase de acoplamento a uma distância de 5,8 cM.

Palavras-chave: *Colletotrichum lindemuthianum*, herança, resistência genética, *Phaseolus vulgaris* L.

ABSTRACT

LOBATO, Allan Klynger da Silva, M.Sc., Universidade Estadual de Maringá, march 2010. **New experimental insights of genetic resistance in common bean Mexico 222 and validation of molecular marker SW12.** Adviser: Dra. Maria Celeste Gonçalves-Vidigal. Committee Members: Pedro Soares Vidigal Filho and Giselly Figueiredo Lacanallo.

The aim of this study was to determine the inheritance of resistance to anthracnose using the cross between the cultivars Mexico 222 (R) × Michigan Dark Red Kidney (S) inoculated with race 7, and to investigate the independence of the genes of Mexico 222 from those previously characterized *Co-1*, *Co-2*, *Co-3*, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6* and *Co-7* genes. The inheritance tests performed on the F₂ population from Mexico MDRK × 222 cross, inoculated with race 7, revealed the existence of two dominant genes for resistance in the cultivar Mexico 222. Additionally, tests for allelism in F₂ populations from Mexico 222 × Cornell 49-242 and Mexico 222 × AB 136 crosses, inoculated with race 7, also revealed the presence of two genes in Mexico 222. The absence of segregation was observed in 100 F₂ individuals from each population derived from Mexico 222 × G 2333 and Mexico 222 × H1 line crosses, inoculated with race 7, revealing the presence of allelism. However, the nature of resistance Mexico 222 to race 23 of *C. lindemuthianum* is monogenic. The results showed that the genes of Mexico 222, G 2333 and H1 line, actually are alleles of the same locus that confers resistance to race 7 *C. lindemuthianum*. The molecular marker SW12 tested in the F₂ population from the Mexico 222 × Widusa cross revealed that this marker is linked to *Co-3* gene, in coupling phase, at a distance of 5.8 cM.

KEY WORDS: *Colletotrichum lindemuthianum*, inheritance, genetic resistance, *Phaseolus vulgaris* L..

1. INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é o alimento proveniente de leguminosas mais difundidas do mundo, por ser uma importante fonte de proteínas e calorias para grande parte de pessoas na América Latina e África (Elias et al., 2007). O Brasil destaca-se como o maior produtor e consumidor de feijão, contribuindo com 16,22% da produção mundial (FAO, 2010). A produção brasileira no ano agrícola de 2009/10 foi de aproximadamente 3,73 milhões de toneladas, em área cultivada de aproximadamente 4 milhões de hectares (CONAB, 2010).

O cultivo do feijoeiro comum tem relevada importância econômica, social e cultural para o Brasil. Além disso, o feijão destaca-se como fonte alimentar, pela presença de proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais e fibras (Antunes e Silveira, 2000). É devido a essa importância que as instituições de pesquisa têm se dedicado ao longo dos anos à busca de novas cultivares com maior potencial produtivo, maior resistência a doenças, teores mais elevados de proteínas e vitaminas, entre outros.

A cultura do feijoeiro comum se adapta a diferentes condições edafoclimáticas, o que permite seu cultivo em várias épocas do ano, em quase todos os Estados brasileiros, fato este que possibilita a constante oferta do produto no mercado (Yokoyama, 1996; Vieira et al., 1999). Entretanto, esta ampla adaptabilidade tem favorecido a ocorrência de pragas e de doenças que afetam a produtividade da cultura (Gepts 1988; Vieira et al., 1998). Dentre elas, a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib., é uma das mais severas doenças ocasionando perdas de até 100%, diminuindo o rendimento da cultura e depreciando a qualidade do produto, tornando-o indesejável para o consumo (Augustin e Costa, 1971).

A obtenção e a utilização de cultivares que apresentam resistência genética às diversas raças do patógeno é o método mais efetivo e econômico para o controle desta doença (Zaumeyer e Thomas, 1957; Mahuku et al., 2002), tanto pela redução nos custos de produção, como pela diminuição dos danos causados ao ambiente.

Estudos sobre a variabilidade do patógeno, bem como da co-evolução patógeno-hospedeiro se tornam, portanto primordiais em programas que visam à obtenção de variedades resistentes à antracnose (Mahuku et al., 2002). Visando a busca de soluções para minimizar a incidência da antracnose, o emprego da

resistência genética tem merecido especial destaque dentro de um sistema integrado de controle às doenças, pois não onera custos e não é perigoso para a natureza, para o agricultor e para o consumidor. Porém, devido à ampla variabilidade do patógeno, as cultivares resistentes tornam-se suscetíveis, o que implica na necessidade de introdução de novos alelos de resistência (Pastor-Corrales et al., 1995; Young e Kelly, 1996b).

Já foram identificados no feijoeiro comum identificados 15 genes que conferem resistência à antracnose, os quais foram designados pelos símbolos *Co-1* (McRostie, 1919; Vallejo e Kelly, 2002), *Co-2* (Mastenbroek, 1960), *Co-3* (Bannerot, 1965), *Co-4* (Fouilloux, 1979; Awale e Kelly, 2001), *Co-5* (Young et al., 1998; Vallejo e Kelly, 2001; Young e Kelly, 1996a) *Co-6* (Gonçalves-Vidigal, 1994; Young e Kelly 1996b, 1997), *Co-7* (Young et al., 1998), *Co-8* que confere resistência recessiva (Alzate-Marin et al., 2001), *Co-9* (Geffroy et al., 1999), *Co-10* (Alzate-Marin et al., 2003a), *Co-11* (Gonçalves-Vidigal et al., 2007), *Co-12* (Gonçalves-Vidigal et al., 2008), *Co-13* (Gonçalves-Vidigal et al., 2009), *Co-14* (Gonçalves-Vidigal et al., 2012) e *Co-15* (Gonçalves et al., 2010). Séries alélicas foram identificadas para quatro destes *loci*: *Co-1*, *Co-3*, *Co-4* e *Co-5*. Posteriormente, demonstrou-se também que os genes *Co-7* e *Co-9* (recodificado como *Co-3³*) são alélicos a *Co-3* (Méndez-Vigo et al., 2005; Rodríguez-Suárez et al., 2008). Ressalta-se que os genes *Co-1*, *Co-12*, *Co-13*, *Co-14* e *Co-15* são de origem Andina e os demais são de origem Mesoamericana. Oito *loci* de resistência encontram-se mapeados entre os 11 cromossomos (Pv01 a Pv11) do feijoeiro: *Co-1* (Pv01), *Co-2* (Pv11), *Co-3* (Pv04), *Co-4* (Pv08), *Co-5* (Pv07), *Co-6* (Pv07), *Co-10* (Pv04), *Co-13* (Pv03) e *Co-15* (Pv04) (Kelly et al., 2003; Singh e Schwartz, 2010; Lacanallo et al., 2010; Gonçalves-Vidigal et al., 2011; Sousa et al., 2013).

Neste sentido, vários benefícios podem derivar da caracterização dos genes de resistência presentes na cultivar em análise. A obtenção de marcadores moleculares ligados aos genes de resistência pode auxiliar no monitoramento de cultivares resistentes em regiões produtoras de feijão. Além disso, estas informações podem ser utilizadas para o desenvolvimento de estratégias eficientes para introduzir resistência em cultivares, como exemplo a piramidação de genes.

A cultivar México 222 é uma das 12 diferenciadoras que foram propostas pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), em 1990, para padronizar os patótipos de *C. lindemuthianum*. Assim como dos 15 genes que conferem

resistência ao *C. lindemuthianum* 10 são de origem Mesoamericana, dentre eles destaca-se o Co-3 que é alélico ao Co-9 (Bannerot, 1965), encontram-se mapeados no Grupo de Ligação Pv04 do mapa do feijoeiro comum. A cultivar México 222 apresenta um amplo espectro de resistência, sendo resistente a um total de 81 raças fisiológicas de *C. lindemuthianum*.

Estudos anteriores demonstraram a presença de um gene dominante em México 222, conferindo resistência às raças 9 e 23 (Gonçalves-Vidigal e Kelly, 2006; Gonçalves-Vidigal et al., 2007). Entretanto, foi registrado a presença de dois genes independentes, conferindo resistência às raças 7 e 8 (Kelly e Vallejo, 2004; Gonçalves-Vidigal et al., 2008).

Mediante o exposto, o presente estudo teve como objetivos caracterizar a resistência genética da cultivar México 222 às raças 7 e 23 de *C. lindemuthianum* e avaliar a eficiência do marcador SW12 ligado ao gene de resistência Co-3.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos da cultura do feijoeiro

A cultura do feijoeiro apresenta importância econômica, social e nutricional, e desta forma representa uma opção agrícola no Brasil, além de ser fonte de proteína vegetal de baixo custo, é ser o alimento mais tradicional do Brasil, o qual possui ampla adaptação edafoclimática o que permite seu cultivo, durante todo o ano, em quase todos os estados da federação, possibilitando constante oferta do produto no mercado. Outra característica dessa leguminosa é possibilitar sua produção em diversos ecossistemas tropicais e temperados, em monocultivo e/ou consorciado nos mais variados arranjos de plantas inter e intraespecíficos, o que favorece a diversificação na produção, mas limita uma maior integração na sua cadeia produtiva (Silva et al., 2003).

Esta atividade agrícola, de primordial importância econômica e social, está sujeita a grandes riscos, entre os quais podem ser citados a ocorrência de doenças, como a antracnose, mancha angular, ferrugem e murcha-de-fusarium que, muitas vezes, têm sido, responsáveis por perdas significativas na produção, conseqüentemente, reduzindo sua oferta (Vieira et al., 1999).

O emprego da resistência genética, com a finalidade de reduzir os custos e as perdas na produtividade do feijoeiro tem sido destaque em muitos programas de melhoramento, no entanto, Sartorato (2002) enfatiza que essa tarefa tem sido dificultada pelo surgimento constante de novas raças fisiológicas do patógeno. De acordo com dados de Balardin e Kelly (1998) a variabilidade genética observada em *C. lindemuthianum* está associada a diferentes genes de resistência presente no hospedeiro. Cada gene de resistência é específico a determinadas raças do patógeno (Melotto e Kelly, 2001) seguindo o modelo teórico da interação gene a gene (Flor, 1947).

A resistência genética do feijoeiro comum a algumas raças de *C. lindemuthianum* pode ser conferida por apenas um único gene dominante, ou por genes em duplicata, ou ainda por genes dominantes complementares (Schwartz et al., 1982; Young e Kelly, 1996a), como também pode não ser efetiva a todas as raças de uma região ou de diferentes regiões (Mahuku et al., 2002).

2.2. Variabilidade patogênica e sistemas de denominação de raças do *C. lindemuthianum*

O fungo *C. lindemuthianum* caracteriza-se pela grande variabilidade patogênica, com aproximadamente 118 raças identificadas no mundo (Balardin et al., 1990; Mahuku e Riascos, 2004) e mais de 50 raças identificadas no Brasil (Rava et al., 1994; Thomazella et al., 2002a; Alzate-Marin e Sartorato, 2004; Talamini et al., 2004; Damasceno e Silva et al., 2007; Sansigolo et al., 2008; Silva, 2004), sendo que os patótipos mais frequentes no Brasil são 65, 73, 81 e 87, encontrados principalmente nos Estados do Paraná, Minas Gerais, Santa Catarina, Goiás e Distrito Federal.

Esta variabilidade tem sido atribuída a diferentes mecanismos, tais como a mutação, recombinação sexual, heterocariose, parassexualidade, transposons, fatores citoplasmáticos e polimorfismo cromossômico (Rava et al., 1994; Sartorato, 2002). O ciclo parassexual, aparentemente, tem importância na ampliação da variabilidade patogênica, entretanto, o relato e a demonstração desse mecanismo não tem tido sucesso em *C. lindemuthianum* (Roca, 1997; He et al., 1998). Na forma assexual, a ampliação da variabilidade é muitas vezes realizada por meio de anastomoses entre hifas. Anastomoses são fusões entre as células, onde ocorre a transferência de citoplasma e, conseqüentemente, material genético. Essas fusões são encontradas em muitos estágios do ciclo de vida do *C. lindemuthianum* (Glass et al., 2004).

Desta forma, a ampla variabilidade de *C. lindemuthianum* ocasiona contínuas quebras de resistência as cultivares comerciais de feijoeiro comum (Mahuku e Riascos, 2004). Isso porque, muitas cultivares apresentam um único gene de resistência, gene esse, que confere resistência apenas a algumas raças do patógeno, sendo facilmente quebrada com o aparecimento de novas raças (Thomazella et al., 2002a).

Os primeiros estudos relacionados à variabilidade patogênica de *C. lindemuthianum* foram conduzidos por Barrus (1911, 1918) nos Estados Unidos, descrevendo as primeiras raças fisiológicas deste patógeno, denominadas alfa e beta. Esta diferenciação foi realizada com base na resposta das cultivares diferenciadoras americanas Michelite, Perry Marrow e Michigan Dark Red Kidney as quais se comportavam de maneira diferente quando inoculadas com isolados de

diferentes procedências. Posteriormente Burkholder (1923) utilizando as mesmas diferenciadoras descreveu a terceira raça determinada como gama. A quarta raça fisiológica do patógeno foi identificada na Carolina do Norte alguns anos após, por Andrus e Wade (1942), sendo denominada como raça delta. A reação de patogenicidade das cultivares diferenciadoras às raças alfa, beta, gama e delta estão demonstradas no Quadro 1.

Quadro 1 – Reações de cultivares diferenciadoras do feijoeiro comum a quatro raças do *C. lindemuthianum* (Goth e Zaumeyer, 1965)

Cultivares	Reação à Raça*			
	Alfa	beta	Gama	delta
Michelite	S	R	R	S
Michigan Dark Red Kidney	R	S	S	S
Perry Marrow	R	R	S	S
Sanilac	R	R	R	S
Cornell 49-242	R	R	R	R
Emerson 51-2	R	S	R	S

*R= Resistente; S= Suscetível

Posteriormente, trabalhos conduzidos no México por Yerkes Jr. e Ortiz (1956) utilizando as cultivares diferenciadoras americanas Michelite, Perry Marrow e Michigan Dark Red Kidney, constataram a presença de três grupos de raças desconhecidas, e que foram denominados Mexicano I, II e III (Quadro 2).

Alguns anos depois, os mesmos autores, utilizando cinco cultivares diferenciadoras mexicanas (Negro 150, Negro 152, Amarillo 155, Bayo 164 e Canário 101) identificaram dez raças locais, denominadas de MA-1 a MA-10, sendo que as seis primeiras raças (MA-1 a MA-6) foram classificadas como pertencentes ao Grupo Mexicano I, MA-7 ao Grupo Mexicano II e, MA-8 a MA-10 ao Grupo Mexicano III (Quadro 3).

Quadro 2 - Reações das cultivares às raças alfa, beta e gama e a três grupos mexicanos do *C. lindemuthianum* (Yerkes Jr. e Ortiz, 1956)

Cultivares	Raça ou Grupo*					
	alfa	beta	gama	Grupos mexicanos		
				I	II	III
Michelite	S	R	R	R	S	R
Michigan Dark Red Kidney	R	S	S	R	S	R
Perry Marrow	R	R	S	R	R	S

*R= Resistente; S= Suscetível

Yerkes Jr. (1958) utilizando diferentes isolados de *C. lindemuthianum*, demonstrou a existência de três novas raças que se comportavam como alfa em diferenciadoras americanas, porém apresentavam comportamento distinto frente às cultivares mexicanas. Naquela oportunidade, este autor identificou as raças e as denominou MA-11, MA-12 e MA-13, pertencentes ao grupo alfa (Quadro 4).

Quadro 3 - Comportamento das cultivares diferenciadoras de feijoeiro mexicanas em relação às dez raças mexicanas do *C. lindemuthianum* (Yerkes Jr. e Ortiz, 1956)

Cultivares	Grupos e Raças*									
	Grupo I						Grupo II		Grupo III	
	MA-1	MA-2	MA-3	MA-4	MA-5	MA-6	MA-7	MA-8	MA-9	MA-10
Negro 150	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S
Negro 152	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S
Amarillo 155	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S
Bayo 164	S	R	R	S	R	S	R	R	R	R
Canário 101	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R

*R= Resistente; S= Suscetível

Por sua vez, Cruickshank (1966) na Austrália, identificou as raças 1, 2 e 3, assim como em outros estudos Schnock et al. (1975) relataram a raça ebnet (devido ao seu local de origem), que posteriormente foi nomeada de capa (Krüger et al., 1977).

Fouilloux (1975) identificou a raça alfa-Brasil. A raça lambda foi descrita pela primeira vez por Hubbeling (1976), e originou-se da mutação da raça alfa que originalmente era conhecida como alfa 5N. Posteriormente, Fouilloux (1979) relatou a raça lambda mutante. Por sua vez, Tu (1984) identificou a raça epsilon no Canadá.

No Brasil, a ocorrência do *C. lindemuthianum* foi primeiramente estudada por Kimati (1966) no estado de São Paulo, tendo sido constatada na ocasião a existência das raças alfa, delta, grupo Mexicano II, e uma quarta raça que poderia ser a delta, ou uma nova raça, dúvida que teve origem nas diferenciadoras americanas oriundas de locais diferentes (Cornell, Beltsville). Neste mesmo período, a partir de isolados coletados no Rio Grande do Sul, foram identificadas as raças alfa e beta (Augustin e Costa, 1971).

A ocorrência do grupo Alfa no estado do Paraná foi relatada por Araújo (1973) e, no mesmo ano, foi identificado um novo grupo de raças que foi nomeado

Grupo Brasileiro I (Oliveira et al., 1973; Oliari et al., 1973; Paradela Filho e Pompeu, 1975).

Quadro 4 - Reações das cultivares diferenciadoras de feijoeiro, americanas e mexicanas às raças alfa e mexicanas MA-11, MA-12 e MA-13 de *C. lindemuthianum* (Yerkes Jr., 1958)

Cultivares	Raça*			
	alfa	MA-11	MA-12	MA-13
Michelite	S	S	S	S
Michigan Dark Red Kidney	R	R	R	R
Perry Marrow	R	R	R	R
Negro 150	S	R	S	R
Negro 152	S	S	S	R
Amarillo 155	S	S	S	S
Bayo 164	S	S	S	R
Canário 101	S	R	R	R

*R= Resistente; S= Suscetível

A descoberta do Grupo Brasileiro I mostrou que a possibilidade de identificação de novos grupos de raças tendo como base apenas as três cultivares diferenciadoras, quais sejam, Michelite, Michigan Dark Red Kidney e Perry Marrow e avaliando em dois níveis de reações (resistente e suscetível), era restritiva (Paradela Filho et al., 1981). Assim, tornou-se necessária a utilização de um maior número de cultivares para a caracterização de raças de *C. lindemuthianum* (Paradela Filho et al., 1991).

Em razão dessa limitação, Oliari et al. (1973), e Pio Ribeiro e Chaves (1975), utilizaram as cultivares Emerson 847, *Phaseolus aborigineus* 283 e Costa Rica 1031, além de quatro diferenciadoras americanas, surgindo assim a identificação de raças que foram denominadas de BA-1 a BA-10, provenientes da subdivisão dos grupos alfa, mexicanos e brasileiros (Quadro 5).

Outro estudo com o uso dos mesmos isolados juntamente com as cultivares Michelite, Arguille Vert, Michigan Dark Red Kidney, Widusa, Imuna, BO 22, Sanilac, Cornell 49-242, Kaboon, TO, PI 207262 e México 222, realizado por Menezes e Dianese (1988), confirmou a presença das raças alfa, delta, épsilon, capa e lambda no Brasil. Além disso, as quatro raças, ainda desconhecidas e consideradas novas, foram identificadas como sendo, zeta, eta, teta e mu. Adicionalmente, Paradela Filho

et al. (1991), utilizando 112 isolados do *C. lindemuthianum*, identificaram 17 raças fisiológicas do fungo, sendo que quatro já eram conhecidas, BA-1, BA-2, BA-4 e BA-9. As demais foram descritas pela primeira vez. Foram identificadas cinco raças do Grupo Alfa, que foram denominadas alfa-4, alfa-5, alfa-6, alfa-7 e alfa-8; cinco do Grupo Brasileiro, designadas de BA-11 a BA-15.

Quadro 5 - Raças fisiológicas de *C. lindemuthianum* identificadas por Oliari et al. (1973) e Pio Ribeiro e Chaves (1975)

Cultivares	Grupos e raças*										
	Alfa		Brasil I		Brasil II		Mex I		Mex. II		Delta
	BA-1	BA-2	BA-4	BA-5	BA-3	BA-9	BA-6	BA-7	BA-8	BA-10	
Michelite	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	
MDRK	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	
Perry Marrow	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	
Emerson 847	R	R	S	S	S	R	S	S	R	S	
<i>P. aborigineus</i> 283	S	R	R	S	S	R	S	S	S	R	
Costa Rica 1031	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	
Cornell 49-242	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	

*R= Resistente; S= Suscetível

Em trabalhos realizados por Menezes et al. (1982), no estado do Paraná, e utilizando as cultivares diferenciadoras Michelite, Arguille Vert, Michigam Dark Red Kidney, Sanilac, Imuna BO 22, Widusa, Kaboon, Cornell 49-242 e TO, detectaram a presença das raças alfa, delta, épsilon, capa e lambda, e observaram, também, que a cultivar TO apresentou reação de compatibilidade às referidas raças.

A utilização de 201 isolados provenientes de 16 estados brasileiros propiciou à Menezes (1985), a identificação de nove raças: alfa, delta, épsilon, eta, mu, teta, lambda, capa e zeta (Quadro 6).

O primeiro registro da raça alfa no Canadá foi efetuado por Tu (1994), verificando as diferentes reações das cultivares diferenciadoras, sendo que essas reações foram similares às observadas para a raça alfa-Brasil. Em sequência, Rava et al. (1994), avaliando 118 isolados do patógeno, obtiveram 25 patótipos pertencentes aos grupos Alfa, Delta, Gama, Mexicano I, Mexicano II e Brasileiro I.

Quadro 6 - Distribuição das raças fisiológicas do *C. lindemuthianum* no Brasil (Menezes e Dianese, 1988)

Estado	Número de isolados de cada raça									Total
	alfa	delta	epsilon	zeta	eta	teta	capa	Lambda	mu	
RS	14	3	-	-	-	-	-	-	3	20
SC	16	3	3	-	-	-	1	-	2	25
PR	18	7	9	5	3	-	1	-	-	43
SP	12	2	4	-	-	-	1	-	1	20
RJ	2	-	1	-	-	-	-	-	-	3
ES	9	1	2	3	-	-	-	-	-	15
MG	15	5	2	-	-	3	-	1	1	27
MS	4	1	-	-	-	-	-	-	-	5
MT	3	-	-	-	-	-	-	-	-	3
GO	7	2	-	-	1	-	-	-	-	10
DF	14	1	-	-	6	-	-	-	-	21
BA	3	1	1	-	-	-	-	-	-	5

A classificação da variabilidade patogênica de *C. lindemuthianum* representada pelos grupos Alfa, Beta, Gama, Delta, Mexicano I, Mexicano II, Brasileiro I e Brasileiro II, assim como aquela baseada somente nas diferenciadoras Michelite, Perry Marrow e Michigan Dark Red Kidney dificultava a comparação dos resultados obtidos por diferentes pesquisadores em diferentes localidades, impossibilitando a verificação da real dinâmica populacional do patógeno, fazendo-se necessária a utilização de uma metodologia padrão para a identificação e a denominação de raças de *C. lindemuthianum*.

Quadro 7 – Cultivares diferenciadoras utilizadas na classificação de raças de *C. lindemuthianum* em feijoeiro comum utilizando o sistema binário proposto por Habgood (1970)

Cultivares diferenciadoras	Valor binário	Valor numérico (2^{dn-1})
1. Michelite	2^0	1
2. Michigan Dark Red Kidney	2^1	2
3. Perry Marrow	2^2	4
4. Cornell 49-242	2^3	8
5. Widusa	2^4	16
6. Kaboon	2^5	32
7. México 222	2^6	64
8. PI 207262	2^7	128
9. TO	2^8	256
10. TU	2^9	512
11. AB 136	2^{10}	1024
12. G 2333	2^{11}	2048

Diante desse fato, Pastor-Corrales (1991) propôs a utilização de um grupo de cultivares em ordem pré-estabelecida, baseado no sistema binário proposto por Habgood (1970), no qual são utilizadas 12 cultivares diferenciadoras (d_n), as quais são identificadas com os números de 1 a 12 (Quadro 7).

A obtenção do valor numérico de uma nova raça se faz pela soma dos valores numéricos (2^{dn-1}) de cada cultivar diferenciadora que é suscetível ao isolado do patógeno (Quadro 8). O valor 2 representa o número de classes de reações consideradas (resistente ou suscetível), enquanto n é função da ordem das diferenciadoras. Por exemplo, a raça 585 ($1 + 8 + 64 + 512$) quebra a resistência das cultivares Michelite (2^0), Cornell 49-242 (2^3), México 222 (2^6) e TU (2^9).

Quadro 8 - Exemplo de nomenclatura das raças fisiológicas do *C. lindemuthianum* pelo sistema binário proposto por Pastor-Corrales (1991)

Cultivares diferenciadoras	Valor Binário ¹	Isolados				
		A	B	C	D	E
Michelite	1	S	S	S	S	S
Michigan Dark Red Kidney	2	S	R	R	S	R
Perry Marrow	4	S	R	R	S	R
Cornell 49-242	8	R	R	S	S	S
Widusa	16	R	R	S	S	R
Kaboon	32	R	R	R	S	R
México 222	64	R	S	S	S	S
PI 207262	128	R	R	R	R	R
TO	256	R	R	R	R	R
TU	512	R	R	R	R	S
AB 136	1024	R	R	R	R	R
G 2333	2048	R	R	R	R	R
Raça	-	7	65	89	127	585

¹Valor binário utilizado para classificar as raças de *C. lindemuthianum*. A designação das raças é obtida pela soma dos valores binários das cultivares diferenciadoras susceptíveis

Estudos desenvolvidos por Rava et al. (1994) mostraram a equivalência do sistema de denominação clássica das raças e do sistema de classificação binário

(Quadro 9). A adoção deste processo de padronização permitiu a comparação dos dados de diferentes grupos de pesquisa (Mahuku e Riascos, 2004).

A partir do momento em que houve adoção do sistema de padronização, diversos autores têm utilizado esta metodologia, permitindo até o momento, a identificação de diversas raças de *C. lindemuthianum* (Quadro 10) (Rava et al., 1993; Rava et al., 1994; Kelly et al., 1994; Balardin e Kelly, 1997; González et al., 1998; Thomazella et al. (2002a); Mahuku e Riascos, 2004; Talamini et al. 2002; Damasceno e Silva et al. 2007).

Quadro 9 - Correspondência das denominações das diferentes raças de *C. lindemuthianum*, segundo o sistema de classificação binária das raças fisiológicas (Rava et al., 1994)

Grupo	Raças fisiológicas	
	Sistema clássico de nomenclatura	Sistema binário
Alfa	alfa-Brasil	89
	alfa-Brasil – Widusa (R)	73
	alfa-Brasil – Widusa (R); TU (S)	585
	épsilon – México 222 (S)	65
	épsilon – Kaboon (S); México 222 (S)	97
	Eta	81
Gama	Gama	102
Delta	Delta	23
	delta – Widusa (R)	7
	Lambda	55
	lambda – México 222 (S)	119
	capa – Widusa (R) ; México 222 (S)	79
	capa – México 222 (S)	95
	Um	87
	mu – TO (S)	343
Mexicano I	mexicana 1 – Cornell 49-242 (S)	8
	mexicana 1 – México 222 (S)	64
	mexicana 1 – Cornell 49-242(S); México 222 (S)	72
Mexicano II	mexicana 2	67
	mexicana 2 – Cornell 49-242(S)	75
	mexicana 2 – Widusa (S)	83
	mexicana 2 – TO (S)	339
Brasileiro	brasileira 1	101
	brasileira 1	117
	zeta – Widusa (R); México 222 (S)	453

R= resistente; S= suscetível

A frequência das raças de *C. lindemuthianum* nas diversas regiões em que a cultura do feijoeiro comum é afetada pelo patógeno no mundo varia, havendo predominância em países como Nicarágua, México e Estados Unidos das raças mais complexas, tais como a 264, 320, 1608, 1545 (Singh et al., 1991). Enquanto que, no Brasil há predomínio de raças mais simples, como por exemplo a 65 (Thomazella et al., 2002a). Este comportamento reflete provavelmente as diferenças nos germoplasmas utilizados e também as práticas agrícolas de cada região (González et al., 1998).

Quadro 10 - Reação das cultivares diferenciadoras às raças de *C. lindemuthianum* descritas no mundo (Balardin et al., 1997; González et al., 1998; Mahuku e Riascos, 2004; Sansigolo et al., 2008)

Raça	Cultivares diferenciadoras ^{1/, 2/}											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
9	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
11	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
15	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
17	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
19	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
23	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
26	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
27	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
31	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
36	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
38	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
39	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
47	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
55	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
65	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
73	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
81	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
89	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
121	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
128	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Quadro 10, Cont.

129	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
132	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
133	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
137	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
139	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
192	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
193	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
201	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
209	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
256	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
257	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
261	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
264	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
320	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
321	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
337	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
357	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-
384	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
385	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
388	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
392	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
393	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
448	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
449	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
453	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
457	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-
465	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-
469	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-
513	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
515	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
517	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
521	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
523	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
525	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
529	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
535	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
593	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-
641	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
647	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-

Quadro 10, Cont.

651	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-
653	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
833	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
905	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-
1025	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
1033	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
1049	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-
1088	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
1089	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
1093	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
1097	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
1153	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
1161	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-
1165	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-
1217	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
1344	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
1417	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
1431	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-
1433	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
1435	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
1472	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-
1473	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-
1481	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-
1489	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-
1497	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-
1545	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
1549	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
1561	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-
1600	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
1601	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
1609	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-
1645	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-
1673	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-
1677	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
1741	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
1929	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-
1945	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-
1985	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
1993	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-

Quadro 10, Cont.

2001	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-
2009	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
2047	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3481	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+
3545	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+
3977	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+
3993	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+

^{1/} Cultivares diferenciadoras e respectivo valor binário: A, Michelite: 1; B, Michigan Dark Red Kidney: 2; C, Perry Marrow: 4; D, Cornell 49-242: 8; E, Widusa: 16; F, Kaboon: 32; G, México 222: 64; H, PI 207262: 128; I, TO: 256; J, TU: 512; K, AB 136: 1024 e L, G 2333: 2048

^{2/} (+): suscetível e (-): resistente

No Brasil, foram identificadas mais de 50 raças fisiológicas de *C. lindemuthianum* nas diversas regiões produtoras de feijoeiro comum, sendo as raças 64, 65, 73, 81, 87 e 89 as de maior frequência no país (Rava et al., 1994; Balardin et al., 1997; Carbonell et al., 1999; Somavilla e Preste, 1999; Sartorato, 2002; Thomazella et al., 2002a; Talamini et al., 2004; Damasceno e Silva, 2004; Ishikawa et al., 2005; Damasceno e Silva et al., 2007). Neste contexto, o estado do Paraná apresenta a maior variabilidade de raças de *C. lindemuthianum*, no qual foram identificadas 29 raças, seguido por Goiás com 17 raças, Santa Catarina 16 raças e Rio Grande do Sul com 14 raças (Balardin et al., 1990).

No Estado do Paraná os primeiros estudos sobre identificação de raças de *C. lindemuthianum* foram conduzidos por Araújo (1973), quando o mesmo demonstrou a ocorrência do grupo Alfa no Estado. Posteriormente, Menezes et al. (1982), utilizando as cultivares diferenciadoras Michelite, Arguille Vert, Michigan Dark Red Kidney, Sanilac, Imuna, BO 22, Widusa, Kaboon, Cornell 49-242 e TO, verificaram a existência das raças alfa, delta, épsilon, capa, lambda e de dois isolamentos patogênicos para a linhagem TO.

Ao analisar 43 isolados do Estado do Paraná, Menezes (1985), observou a predominância da raça alfa, identificando também as raças épsilon, delta, zeta, eta e capa. Enquanto Rava et al. (1994) utilizando a série de cultivares diferenciadoras adotadas pelo Centro de Agricultura Tropical (CIAT, 1988) identificaram as raças 55, 64, 65, 81, 89, 95, 102 e 453. Por sua vez, Carneiro (1999) identificou 13 raças do patógeno no Estado, dentre as quais as raças 81, 65 e 73 foram as que apresentaram maior ocorrência.

A caracterização de 18 isolados de *C. lindemuthianum* no estado do Paraná foi efetuada por Thomazella et al. (2002a), cujos resultados evidenciaram a presença de nove raças fisiológicas, quais sejam: 7, 31, 65, 69, 73, 81, 87, 89 e 95 (Quadro 11). Dentre as raças encontradas, pôde-se evidenciar o primeiro registro das raças 7, 69 e 87, as quais são de comum ocorrência em outros estados brasileiros, sendo que as raças 65, 81 e 89 foram as mais predominantes.

Quadro 11 – Reação das cultivares diferenciadoras a 18 isolados do *C. lindemuthianum* coletados no Estado do Paraná (Thomazella et al., 2002a)

Isolados	Local	Raça	Cultivares diferenciadoras ^{1/, 2/}											
			A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	São João do Ivaí	69	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R
2	São João do Ivaí	81	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3	Paranavaí	73	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R
4	São João do Ivaí	89	S	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R
5	São João do Ivaí	95	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R
6	Jandaia do Sul	89	S	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R
7	Paranavaí	89	S	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R
8	São João do Ivaí	89	S	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R
9	Jandaia do Sul	65	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
10	Paranavaí	7	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
11	Jandaia do Sul	81	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
12	Paranavaí	81	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
13	Jandaia do Sul	65	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
14	C. L. Marques	31	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R
15	São João do Ivaí	89	S	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R
16	Lapa	89	S	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R
17	Irati	87	S	S	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R
18	Irati	89	S	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R

^{1/} Cultivares diferenciadoras e respectivo valor binário: A, Michelite: 1; B, Michigan Dark Red Kidney: 2; C, Perry Marrow: 4; D, Cornell 49-242: 8; E, Widusa: 16; F, Kaboon: 32; G, México 222: 64; H, PI 207262: 128; I, TO: 256; J, TU: 512; K, AB 136: 1024 e L, G 2333: 2048

^{2/} S: suscetível e R: resistente

Em 2004, Talamini e colaboradores analisando 43 isolados de *C. lindemuthianum* coletados em regiões produtoras de feijoeiro comum no Brasil identificaram as raças 0 (zero) e 64 oriundas do Estado do Paraná. Outro estudo efetuado por Damasceno e Silva (2004), analisando 19 isolados oriundos dos municípios de Castro, Londrina e Ponta Grossa, resultou na identificação de 10 raças fisiológicas distintas de *C. lindemuthianum* (0, 64, 65, 67, 69, 73, 81, 85, 91 e 93). Este foi o primeiro registro das raças 67, 85 e 91 no estado do Paraná.

O atual sistema de nomenclatura de raças de *C. lindemuthianum* tem facilitado a troca de informações entre pesquisadores de regiões distintas, assim como na identificação de fontes de resistência de cultivares de diferentes regiões e da dinâmica populacional do patógeno. Entretanto, ainda não é considerado um sistema ideal, pois as 12 cultivares diferenciadoras dificilmente representam todos os genes do hospedeiro, dificultando a classificação precisa das raças (Damasceno e Silva et al., 2007).

Visando obter uma metodologia que permitisse a caracterização de raças de *C. lindemuthianum*, Vilarinhos et al. (1995) utilizaram marcadores moleculares RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) para caracterizar as raças alfa-Brasil, alfa-Brasil (a cultivar Widusa resistente e TU suscetível à raça 585), zeta, capa e delta. Os resultados obtidos permitiram alocar as raças em grupos que diferem daqueles definidos pelo uso de cultivares diferenciadoras. Segundo estes autores, a técnica de RAPD poderia ser utilizada para a classificação mais rápida e precisa das raças de *C. lindemuthianum*, já que a definição da raça por meio das cultivares diferenciadoras envolve poucos locos no genoma do fungo, e a técnica de RAPD permite comparações simultâneas em um grande número de locos (Haley et al., 1994).

Análises de divergência genética entre isolados do *C. lindemuthianum*, utilizando marcadores moleculares, revelaram que existe elevado nível de variabilidade genética entre os isolados, bem como isolados de uma mesma região geográfica estão mais intimamente relacionados, do que os isolados de diferentes regiões geográficas (Otoya et al., 1995 ; Sicard et al., 1997; Balardin et al., 1997; Balardin e Kelly, 1998; González et al., 1998; Mesquita et al., 1998; Balardin et al., 1999; Carbonell et al., 1999; Thomazella et al., 2002b; Damasceno e Silva, 2004; Mahuku e Riascos, 2004).

Após vários anos de estudos sobre o fungo *C. lindemuthianum*, pôde-se verificar sua ampla variabilidade patogênica e a dificuldade que a mesma representa para o controle da antracnose. O uso de cultivares resistentes propicia estratégias do manejo integrado de doenças, de forma que tal mecanismo é considerado uma importante alternativa, por ser ecologicamente seguro, além de contribuir para a manutenção da qualidade de vida.

Araya (2003) afirmou que as implicações genéticas da co-evolução em cada ambiente estão relacionadas aos diferentes mecanismos de virulência apresentados pelas populações nativas ou emergentes do patógeno, uma vez que seus respectivos hospedeiros oferecem diversidade similar quanto genes de resistência. Neste sistema, é primordial conhecer as raças presentes para selecionar os genótipos com resistência a essas raças e eventualmente iniciar a introgressão desses genes em cultivares comerciais. Assim, será possível identificar genótipos com resistência duradoura mediante a combinação de diversas fontes de resistência presentes no germoplasma de diferentes centros de domesticação do feijoeiro. Normalmente, o controle da antracnose do feijoeiro comum pode ser alcançado pelo uso combinado de práticas culturais, produtos químicos, da resistência varietal às várias raças do patógeno incorporados por meio da piramidação de genes de interesse.

2.3. Fontes de resistência

A estabilidade e a longevidade da variabilidade da resistência dependem da variação genética de *C. lindemuthianum*, representada pela sua especialização fisiológica e pela habilidade dos isolados apresentarem virulência diferenciada para cada variedade de feijoeiro (Barrus, 1911).

A resistência genética à *C. lindemuthianum* foi observada pela primeira vez na cultivar Wells Red Kidney (Baurus, 1911; Barrus, 1918). O autor verificou que esta resistência era conferida por um gene andino dominante, inicialmente designado gene A, que confere resistência às raças alfa, beta (Burkolder, 1918; McRostie, 1919). Atualmente, esse gene é conhecido como *Co-1*, constatado pela primeira vez na cultivar Michigan Dark Red Kidney por McRostie (1919). Esse gene andino foi o primeiro e principal gene utilizado para desenvolver cultivares de feijoeiro resistentes à antracnose.

Mastenbroek (1960) constatou que a cultivar Cornell 49-242 originária da Venezuela, possuía um gene dominante, denominado *Are*, que conferia resistência a todas as raças conhecidas na época (alfa, beta, gama e delta), sendo este de extrema importância para muitos programas de melhoramento genético. Posteriormente, Menezes e Dianese (1988) relataram que esse gene conferia resistência também às raças épsilon, zeta, eta, teta, lambda e mu.

Na década de 60, o êxito alcançado no controle da antracnose do feijoeiro comum, em países do Continente Europeu, com a incorporação do gene *Are (Co-2)*, demonstrou a viabilidade e a eficiência da resistência vertical no controle da doença (Fouilloux, 1979).

Vieira et al. (1988) relataram que o uso do gene *Are (Co-2)*, em programas de melhoramento, forneceu resultados satisfatórios na obtenção de cultivares resistentes. Porém o autor afirmou que a ampla utilização do gene *Are (Co-2)*, conduziu a uma situação perigosa, uma vez que essa resistência é governada por somente um gene e, facilmente seria superável pelo aparecimento de alguma nova raça. Conforme o autor, esse fato levou os pesquisadores europeus a procurarem novas fontes de resistência. Este fato ocorreu com o aparecimento das raças 31 e 89, as quais venceram a resistência 10 apresentada pela cultivar Cornell 49-242 (Menezes e Dianese, 1988; Rava et al., 1994).

Em 1969, na Europa, Bannerot, citado por Fouilloux (1975, 1976, 1979) utilizando as linhagens mexicanas México 222 e México 227, identificou um gene dominante e designou-o de *Mexique 1*, sendo este diferente e independente do gene *Are*. Em 1976, Hallard e Trebuchet, citados por Vieira (1983) demonstraram que há uma série alélica no locus *Mexique 1*: o alelo *Mexique 1a*. Esse alelo confere resistência a todas as raças, com exceção da raça Alfa-Brasil.

A resistência do alelo *Mex. 1a* é dominante sobre *Mex. 1b* para a raça capa (Fouilloux, 1979). Além disso, o mesmo autor verificou que a cultivar TO apresentava um gene dominante e independente dos demais conhecidos anteriormente, e o denominou de *Mexique 2*. Este gene confere resistência às raças alfa, beta, gama, delta, épsilon, lambda, capa e alfabrasil. Outro gene foi descrito pelo autor, presente na cultivar TU e foi denominado *Mexique 3* (Fouilloux, 1976).

A cultivar AB 136 consiste numa importante fonte de resistência ao agente causador da antracnose, *C. lindemuthianum*. Essa cultivar foi avaliada em relação a isolados provenientes da Colômbia e apresentou reação intermediária a um isolado,

sendo resistente a quatro isolados (Schwartz et al., 1982). Posteriormente, esse gene foi denominado Q por Gonçalves-Vidigal (1994).

No Estado do Paraná, Menezes e Dianese (1988) avaliaram o comportamento das cultivares comerciais e as linhagens de feijão: Rio Negro, Iapar 20, Tarumã, Evolutie, AB 136, A 321, A 373, A 381, G 2338, G 2641 e G 3367. Deste modo, neste estudo verificaram que as mesmas eram resistentes às raças alfa, delta, épsilon, zeta, eta, teta, capa, lambda e mu.

Balardin et al. (1990), utilizando as raças alfa, alfa-Brasil, teta, capa, lambda, delta, zeta, C 236 e épsilon kenia, verificaram que a cultivar Cornell 49-242 foi suscetível às raças alfa-Brasil e capa. Por sua vez, Kaboon foi suscetível à raça lambda e, as cultivares PI 207262 e TO apresentaram resistência intermediária à raça zeta. Em relação às raças inoculadas, verificou-se que as cultivares TU, AB 136 e G 2333 foram resistentes a todas.

A cultivar AB 136 foi estudada por Rava et al. (1994) e mostrou-se excelente fonte de resistência por ser resistente a 25 raças de *C. lindemuthianum* coletadas no Brasil.

Em estudos conduzidos com a cultivar G 2333 revelaram que esta cultivar possui três genes dominantes de resistência (Vallejo e Kelly, 2009), quais sejam: *Co-4*², identificado por Young et al. (1998); o gene *Co-5* identificado por Bannerot em 1969 (Fouilloux 1976, 1979); e o gene *Co-7* relatado, por Young et al. (1998). Segundo a nomenclatura dos genes de resistência ao *C. lindemuthianum* proposta por Young e Kelly (1996a) os símbolos dos genes de resistência tiveram uma nova designação. Assim as cultivares do feijoeiro comum Cornell 49-242, México 222, TO e TU, as quais possuíam os genes nomeados de *Are*, *Mexique 1*, *Mexique 2* e *Mexique 3*, respectivamente, foram renomeados de *Co-2*, *Co-3*, *Co-4* e *Co-5*. O Quadro 12 apresenta os símbolos novos e originais dos genes de resistência à antracnose, no qual o símbolo *Co* refere-se ao *Colletotrichum*.

Quadro 12 – Genes de resistência e seus respectivos símbolos novos e originais, fontes genéticas, grupo gênico dos principais genes de resistência, marcadores moleculares, mapeamento dos genes maiores que condicionam resistência à antracnose (Kelly e Vallejo, 2004, com modificações)

Símbolos dos genes		Fontes dos genes	Conjunto gênico	Marcadores genéticos	Localização no mapa	Referências
Novos	Original					
Co-1	A	MDRK	Andino	OF10 ₅₃₀	B1	McRostie (1919); Vallejo e Kelly (2002)
Co-1 ²		Kaboon		SE _{ACT} /M _{CCA}		Melotto e Kelly (2000)
Co-1 ³		Perry Marrow				Alzate-Marin et al. (2003b)
Co-1 ⁴		AND 277				
Co-1 ⁵		Widusa				
Co-2	Are	Cornell 49-242	MA	OQ4 ₁₄₄₀ OH20 ₄₅₀ B355 ₁₀₀₀	B11	Gonçalves-Vidigal e Kelly (2006) Mastenbroek (1960) Adam-Blondon et al. (1994) Young e Kelly (1996b)
Co-3	Mexique 1	México 222	MA	NA	NA	Bannerot (1965)
Co-3 ²		México 227				Fouilloux (1979)
Co-3 ³		BAT 93				Geffroy et al. (1999) ; Rodríguez-Suárez et al. (2004)
Co-4	Mexique 2	TO	MA	SAS13, SH18	B8	Fouilloux (1979); Awale e Kelly (2001);
Co-4 ²		SEL1308		SBB14, OC8		Young et al. (1998)
Co-4 ³		PI 207262 ^y		OY20		Arruda et al. (2000)
Co-5	Mexique 3	TU	MA	OAB3 ₄₅₀	NA	Young et al. (1998); Vallejo e Kelly (2001); Young e Kelly (1996a)
Co-6	Q	AB 136	MA	OAH1 ₇₈₀ OAK20 ₈₉₀	B7	Gonçalves-Vidigal (1994) Young e Kelly (1996b, 1997)
Co-7	NA ^z	MSU-7 G 2333 ^y	MA	NA	NA	Young et al. (1998)
co-8	NA	AB 136	MA	OPAZ20	NA	Alzate-Marin et al. (2001)
Co-9	NA	BAT 93	MA	SB12	B4	Geffroy et al. (1999)
Co-10	NA	Ouro Negro	MA	F10	B4	Alzate-Marin et al. (2003a)
Co-11	NA	Michelite	MA	NA	NA	Gonçalves-Vidigal et al. (2007)
Co-12	NA	Jalo Vermelho	Andino	NA	NA	Gonçalves-Vidigal et al. (2008)
Co-13	NA	Jalo Listras Pretas	Andino	NA	NA	Gonçalves-Vidigal et al. (2009)
Co-14	NA	Pitanga	Andino	NA	NA	Gonçalves-Vidigal et al. (2012)
Co-15		Corinthiano		NA		Gonçalves et al. (2010)

MDRK= Michigan Dark Red Kidney; MA= Mesoamericano; ^y= Possui dois genes; G 2333 possui três genes; ^zNA= Não nomeados anteriormente

2.4. Cultivar mesoamericana México 222

A cultivar México 222 é uma das 12 diferenciadoras que foram propostas pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), em 1990, para padronizar os patótipos de *C. lindemuthianum*. Assim como dos 15 genes que conferem resistência ao *C. lindemuthianum* 10 são de origem Mesoamericana, dentre eles destaca-se o Co-3 que é alélico ao Co-9 (Bannerot, 1965), encontram-se mapeados no Grupo de Ligação Pv04 do mapa do feijoeiro comum. A cultivar México 222 apresenta um amplo espectro de resistência, sendo resistente a um total de 81 raças fisiológicas de *C. lindemuthianum* (Quadro 13).

A cultivar México 222 é caracterizada morfológicamente por possuir sementes de tamanho médio, com coloração branca, e apresenta hábito de crescimento determinado, ou seja, caule e ramos laterais terminando em inflorescência e número limitado de nós; a floração inicia-se do ápice para a base da planta (Vieira et al., 2006; Paula Jr. e Vezon, 2007). Os caracteres apresentados pela cultivar, como sementes de tamanho médio com coloração branca e faseolina do tipo S, caracterizam-na como originária do centro mesoamericano.

Estudos anteriores demonstraram a presença de um gene dominante em México 222, conferindo resistência às raças 9 e 23 (Gonçalves-Vidigal e Kelly, 2006; Gonçalves-Vidigal et al., 2007) (Quadro 14). Entretanto, foi registrado presença de dois genes independentes, conferindo resistência às raças 7 e 8 (Quadro 14) (Kelly e Vallejo, 2004; Gonçalves-Vidigal et al., 2008).

Quadro 13 – Raças de *C. lindemuthianum* para as quais a cultivar mesoamericana México 222 apresenta resistência

Raças	Referências
0	Sansigolo et al. , 2008
1	Balardin et al., 1997; Mahuku e Riascos, 2004
2	Pastor-Corrales et al., 1995; Balardin et al.; 1997; Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004
3	Pastor-Corrales et al., 1995; Balardin et al., 1997; Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004
4	Pastor-Corrales et al., 1995; Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004
5	Balardin et al., 1997; Mahuku e Riascos, 2004
6	Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004

Quadro 13, cont.

7	Pastor-Corrales et al., 1995; Balardin et al., 1997; Thomazella et al., 2002a ; Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004
8	Ansari et al., 2004
9	Pastor-Corrales et al., 1995; Balardin et al., 1997, Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004
10	Sansigolo et al. , 2008
11	Mahuku e Riascos, 2004
12	Ansari et al., 2004
15	Pastor-Corrales et al., 1995; Balardin et al., 1997; Mahuku e Riascos, 2004
17	Balardin et al., 1997; Mahuku e Riascos, 2004
19	Balardin et al., 1997
23	Balardin et al., 1997; Ansari et al., 2004 ; Mahuku e Riascos, 2004; Alzate-Marin et al., 2007
26	Sansigolo et al. , 2008
27	Sansigolo et al. , 2008
31	Balardin et al., 1997; Thomazella et al., 2002a; Mahuku e Riascos, 2004
36	Mahuku e Riascos, 2004
38	Balardin et al., 1997; Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004
39	Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004
47	Mahuku e Riascos, 2004
55	Balardin et al., 1997
63	Balardin et al., 1997
128	Ansari et al., 2004
129	Ansari et al., 2004
130	Balardin et al., 1997
131	Ansari et al., 2004
132	Ansari et al., 2004
133	Ansari et al., 2004
137	Pastor-Corrales et al., 1995; Ansari et al., 2004
139	Mahuku e Riascos, 2004
141	Balardin et al., 1997
256	Balardin et al., 1997; Mahuku e Riascos, 2004
257	Balardin et al., 1997; Mahuku e Riascos, 2004
261	Mahuku e Riascos, 2004
290	Ansari et al., 2004
295	Ansari et al., 2004
384	Balardin et al., 1997
385	Mahuku e Riascos, 2004

Quadro 13, cont.

388	Mahuku e Riascos, 2004
393	Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004
407	Ansari et al., 2004
513	Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004
515	Mahuku e Riascos, 2004
517	Mahuku e Riascos, 2004
521	Pastor-Corrales et al., 1995; Balardin et al., 1997; Mahuku e Riascos, 2004
523	Mahuku e Riascos, 2004
525	Mahuku e Riascos, 2004
529	Mahuku e Riascos, 2004
535	Mahuku e Riascos, 2004
641	Mahuku e Riascos, 2004
647	Mahuku e Riascos, 2004
651	Mahuku e Riascos, 2004
653	Mahuku e Riascos, 2004
905	Mahuku e Riascos, 2004
1024	Balardin et al., 1997
1025	Mahuku e Riascos, 2004
1032	Ansari et al., 2004
1033	Balardin et al., 1997; Mahuku e Riascos, 2004
1049	Mahuku e Riascos, 2004
1153	Mahuku e Riascos, 2004
1161	Mahuku e Riascos, 2004
1165	Balardin et al., 1997
1417	Mahuku e Riascos, 2004
1431	Balardin et al., 1997
1433	Mahuku e Riascos, 2004
1435	Mahuku e Riascos, 2004
1545	Balardin et al., 1997; Mahuku e Riascos, 2004
1549	Mahuku e Riascos, 2004
1561	Mahuku e Riascos, 2004
1572	Pastor-Corrales et al., 1995
1673	Balardin et al., 1997
1677	Balardin et al., 1997
1929	Balardin et al., 1997; Mahuku e Riascos, 2004
1945	Mahuku e Riascos, 2004
3481	Mahuku e Riascos, 2004
3977	Mahuku e Riascos, 2004
3993	Mahuku e Riascos, 2004

Quadro 14 – Segregação para resistência às raças de *C. lindemuthianum* na cultivar diferenciadora México 222

Cruzamento	Gene R conhecido	Raça	Número de plantas		Proporção esperada	Referência
			R	S		
México 222 x Ouro Negro	Co-3 (Mex); Co-10 (Ouro Negro)	23	83	8	15:1	Alzate-Marin et al., 2002
México 222 x A1220	Co-3 (Mex)	38	115	0	15:1	Méndez-Vigo et al., 2005
México 222 x Andecha	Co-3 (Mex)	38	76	20	3:1	Méndez-Vigo et al., 2005
México 222 x Widusa	Co-3 (Mex); Co-1 ⁵ (Widusa)	9	130	10	15:1	Gonçalves-Vidigal e Kelly, 2006
México 222 x Michelite	Co-3 (Mex); Co-11 (Mich)	8	243	4	63:1	Gonçalves-Vidigal et al., 2006
México 222 x Jalo Vermelho	Co-3 (Mex); Co-12 (JV)	23	108	7	15:1	Gonçalves-Vidigal et al., 2006
México 222 x JLP	Co-3 (Mex) ; Co-13 (JLP)	9	62	4	15 :1	Gonçalves-Vidigal et al., 2006
México 222 x PI 207262	Co-3 (Mex) ; Co-4 ³ + Co-3 ³ (PI)	23	194	5	63 :1	Alzate-Marin et al., 2007

R= Resistente; S= Suscetível

Mex= México 222; Mich= Michelite; JV= Jalo Vermelho; JLP= Jalo Listras Pretas; PI= PI 207262

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM-BLONDON, A.F.; SÉVIGNAC, M.; BANNEROT, H.; DRON, M. SCAR, RAPD and RFLP markers linked to are, a simple dominant gene conferring resistance to *Colletotrichum lindemuthianum*, the causal agent of anthracnose in fresh bean. **Theoretical and Applied Genetics**, 88: 865-870, 1994.

ALZATE-MARIN, A.L.; ALMEIDA, K.S.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Identification of a recessive gene conferring resistance to anthracnose in common bean lines derived from the differential cultivar AB 136. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 44: 117-118, 2001.

ALZATE-MARIN, A.L.; ARRUDA, K.M.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Validation of the RAPD marker linked to the *Co-5* anthracnose resistant gene in the common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 2: 591-594, 2002.

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

ALZATE-MARIN, A.L.; COSTA, M.R.; ARRUDA, K.M.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Characterization of the anthracnose resistance gene present in Ouro Negro (Honduras 35) common bean cultivar. **Euphytica**, 133: 165-169, 2003b.

ALZATE-MARIN, A.L.; SARTORATO, A. Analysis of the pathogenic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* in Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 47: 241-242, 2004.

ALZATE-MARIN, A.L.; SOUZA, K.A.; SILVA, M.G.M.; OLIVEIRA, E.J.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Genetic characterization of anthracnose resistance genes *Co-4³* and *Co-9* in common bean cultivar Tlalnepantla 64 (PI 207262), **Euphytica**, 154: 1-8, 2007.

ANDRUS, C.F.; WADE, B.L. **The factorial interpretation of anthracnose resistance in beans**. Washington: U.S.D.A., 1942. p. 1-29.

ANSARI, K.I.; PALÁCIOS, N.; ARAYA, C.; LANGIN, T.; EGAN, D.; DOOHAN, F.M. Pathogenic and genetic variability among *Colletotrichum lindemuthianum* isolates of different geographic origins. **Plant Pathology**, 53: 635-642, 2004.

- ANTUNES, I. F.; SILVEIRA, E. P. **O feijão no Rio Grande do Sul – Commodity e Alimento**. Série Culturas (Feijão), Assembléia Legislativa do Rio Grande do Sul, Comissão de Agricultura, Pecuária e Cooperativismo. Porto Alegre, 2000, 47p.
- ARAÚJO, I.D. Identificação da raça alfa do *Colletotrichum lindemuthianum* e a reação de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 8: 59-162, 1973.
- ARAYA, C.M. Coevolución de interacciones hospedante-patógeno em frijol común. **Fitopatologia Brasileira**, 28: 221-228, 2003.
- ARRUDA, M.C.; ALZATE-MARIN, A.L.; CHAGAS, J.M.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Identification of random amplified polymorphic DNA markers linked to the *Co-4* resistance gene to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Phytopathology**, 90: 758-761, 2000.
- AUGUSTIN. E; COSTA, J.G.C. Fontes de resistência a duas raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. no melhoramento do feijoeiro no sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 6: 265-272, 1971.
- AWALE, H.E.; KELLY, J.D. Development of SCAR markers linked to *Co-4*² gene in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 44: 119-120, 2001.
- BALARDIN, R.S.; PASTOR-CORRALES, M.A.; OTOYA, M.M. Variabilidade patogênica de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, 15: 243-245, 1990.
- BALARDIN, R.S.; KELLY, J.D. Re-characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* races. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 40: 126-27, 1997.
- BALARDIN, R.S.; JAROSZ, A.; KELLY, J.D. Virulence and molecular diversity in *Colletotrichum lindemuthianum* from South, Central and North America. **Phytopathology**, 87: 1184-1191, 1997.
- BALARDIN, R.S.; KELLY, J.D. Interaction between *Colletotrichum lindemuthianum* races and gene pool diversity in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of the American Society Horticulture Science**, 123: 1038-1047, 1998.
- BALARDIN, R.S.; SMITH, J.J.; KELLY, J. Ribosomal DNA polymorphism in *Colletotrichum lindemuthianum*. **Mycological Research**, 103: 841-848, 1999.

- BANNEROT, H. Résultats de l' infection d'une collection de haricots par six races physiologiques d'antracnose. **Annales del'Amélioration Des Plantes**, 15: 201-222, 1965.
- BARRUS, M.F. Variation of varieties of beans in their susceptibility to anthracnose. **Phytopathology**, 1: 190-199, 1911.
- BARRUS, M.F. Varietal susceptibility of beans to strains of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Brit et Cav. **Phytopathology**, 8: 589-614, 1918.
- BURKHOLDER, W.H. The production of an anthracnose resistant White Marrow bean. **Phytopathology**, 8: 353-359, 1918.
- BURKHOLDER, W.H. The gamma strain of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Brit et Cav. **Phytopathology**, 13: 316-323, 1923.
- CARBONELL, S.M.; ITO, M.F.; POMPEU, A.S.; FRANCISCO, F.; RAVAGNANI, S.; ALMEIDA, A.L.L. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de cultivares e linhagens de feijoeiro no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, 24: 60-65, 1999.
- CARNEIRO, S.M.T.P.G. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado do Paraná. **Summa Phytopathologica**, 25: 275-278, 1999.
- CIAT – **Centro Internacional de Agricultura Tropical**. Informe anual – Programa de Frijol. Documento de Trabajo. Cali, CIAT, Colômbia, 72: 1988.
- CIAT – **Centro Internacional de Agricultura Tropical**. Annual Report Bean Program. Cali; CIAT, 1990. p. 70-125.
- CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento** – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Levantamento de avaliação da safra 2009/2010. Disponível em: <conab.gov.br/conabweb/download/safra/3levsaf.pdf>. Acesso em: 20, fevereiro, 2011.
- CRUICKSHANK, I.A.M. Strain of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) in Eastern Australia. **Journal of the Australian Institute of Agricultural Science**, 32: 134-135, 1966.

DAMASCENO E SILVA, K.J. **Distribuição e caracterização de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* no Brasil**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2004. 88p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

DAMASCENO E SILVA, K.J.; SOUZA, E.A.; ISHIKAWA, F.H. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from the State of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Phytopathology**, 155: 241-247, 2007.

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

FAO. **Faostat database gateway - 2010**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 12, janeiro, 2011.

FLOR, H.H. Host parasite interaction in flax rust – its genetics and other implications. **Phytopathology**, 45: 680-685, 1947.

FOUILLoux, G.L. Anthracnose du haricot: etude des relations entre les pathotypes anciens et nouveaux. Etude de nouvelles sources de resistance totale. In: Reunion Eucarpia Haricot, 1975, Versailles. **Proceedings....** Versailles: Centre National de Recherches Agronomiques, 1975. p. 81-92.

FOUILLoux, G. Bean anthracnose. New genes of resistance. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 19: 36-37, 1976.

FOUILLoux, G. New races of bean anthracnose and consequences on our breeding programs. In: International symposium on diseases of tropical food crops. Louvain la Neuve, 1978. **Proceedings...** Louvain la Neuve: Universite Catholique de Louvain, 1979. p. 221-235.

GEFFROY, V.; DELPHINE, S.; OLIVEIRA, J.C.F.; SÉVIGNAC, M.; COHEN, S.; GEPTS, P.; NEEMA, C.; LANGIN, T.; DRON, M. Identification of an ancestral resistance gene cluster involved in the coevolution process between *Phaseolus vulgaris* and its fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 12: 774-784, 1999.

GEPTS, P.A. Middle American and an Andean common bean gene pool. In: P. GEPTS (Ed.). **Genetic resources of *phaseolus* beans; their maintenance, domestication, and utilization**. London: Kluwer, 1988. p. 375-390.

- GLASS, N.L.; RASMUSSEN, C.; ROCA, M.G.; READ, N.D. Hyphal homing, fusion and mycelial interconnectedness. **Trends of Microbiology**, 12: 135-141, 2004.
- GONÇALVES, A.M.O.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; POLETINE, J.P.; LACANALLO, G.F.; COIMBRA, G.K. Characterization of the anthracnose resistance gene in andean common bean Corinthiano cultivar. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, 53: 220-221, 2010.
- GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.G. **Herança da Resistência às raças alfa, delta e capa de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)** Viçosa: Universidade Estadual de Viçosa, 1994. 52p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento).
- GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; KELLY, J.D. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean cultivar Widusa. **Euphytica**, 151: 411-419, 2006.
- GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; SILVA, C.R.; VIDIGAL FILHO, P.S.; GONELA, A.; KVITSCHAL, M.V. Allelic relationships of anthracnose resistance in the common bean cultivar Michelite. **Genetics and Molecular Biology**, 30: 589-593, 2007.
- GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; LACANALLO, G.F.; VIDIGAL FILHO, P.S. A new gene conferring resistance to anthracnose in Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar 'Jalo Vermelho'. **Plant Breeding**, 127: 592-596, 2008.
- GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; MEDEIROS, A.F.; PASTOR-CORRALES, M.A. Common Bean Landrace Jalo Listras Pretas is the Source of a New Andean Anthracnose Resistance Gene. **Crop Science**, 49: 133-138, 2009.
- GONZÁLEZ, M.; RODRÍGUEZ, R.; ZAVALA, M.E.; JACOBO, J.L.; HERNÁNDEZ, F.; ACOSTA, J.; MARTÍNEZ, O.; SIMPSON, J. Characterization of Mexican isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* by using differential cultivars and molecular markers. **Phytopathology**, 88: 292-299, 1998.
- GOTH, R.W.; ZAUMEYER, W.J. Reaction of bean varieties to four races of anthracnose. **Plant Disease Reporter**, 49: 815-818, 1965.
- HALEY, S.D.; MIKLAS, P.N.; AFANADOR, L.; KELLY, J.D. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) marker variability between and within gene pools of common bean. **Journal of American Society for Horticultural Science**, 119: 122-125, 1994.

- HABGOOD, H. Designation of physiological races of plant pathogens. **Nature**, 227: 1267-1269, 1970.
- HE, C.; RUSU, A.G.; POPLAWSKI, A.M.; IRWIN, J.A.G.; MANNERS, J.M. Transfer of a supernumerary chromosome between vegetatively incompatible biotypes of the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. **Genetics**, 150: 1459-1466, 1998.
- HUBBELING, N. Selection for resistance to anthracnose particularly in respect to the "ebnet" race of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 19: 49-50, 1976.
- ISHIKAWA, F.H.; SILVA, K.J.D.; SOUZA, E.A.; DAVIDE, L.M.C.; FREIRE, C.N.S. Levantamento de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* de regiões produtoras de feijão. In: Congresso nacional de pesquisa de feijão, 8, Goiânia. **Anais...** Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005.
- KELLY, J.D.; AFANADOR, L.; CAMERON, L.S. New races of *Colletotrichum lindemuthianum* in Michigan and implications in dry bean resistance breeding. **Plant Disease**, 78: 892-894, 1994.
- KELLY, J.D.; VALLEJO, V.A. Comprehensive review of the major genes conditioning resistance to anthracnose in common bean. **HortScience**, 39: 1196-1207, 2004.
- KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004. 452p.
- KIMATI, H. **Algumas raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et. Magn.) Scrib. que ocorrem no Estado de São Paulo**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1966. 28p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- KRÜGER, J.; HOFFMANN, G.M.; HUBBELING, N. The Kappa race of *Colletotrichum lindemuthianum* and sources of resistance to anthracnose in *Phaseolus* beans. **Euphytica**, 26: 23-25, 1977.
- MAHUKU, G.S.; JARA, C.; CAJIAO, C.; BEEBE, S. Sources of resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in the secondary gene pool of *Phaseolus vulgaris* and in crosses of primary and secondary gene pools. **Plant Disease**, 86: 1383-1387, 2002.

- MAHUKU, G.S.; RIASCOS, J.J. Virulence and molecular diversity within *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Andean and Mesoamerican bean varieties and regions. **European Journal of Plant Pathology**, 110: 253-263, 2004.
- MASTENBROEK, C.A. Breeding programme for resistance to anthracnose in dry shell haricot beans, based on a new gene. **Euphytica**, 9: 177-184, 1960.
- McROSTIE, G.P. Inheritance of anthracnose resistance as indicated by a cross between a resistant and a susceptible bean. **Phytopathology**, 9: 141-148, 1919.
- MELOTTO, M.; KELLY, J.D. An allelic series at the *Co-1* locus for anthracnose in common bean of Andean origin. **Euphytica**, 116: 143-149, 2000.
- MELOTTO, M.; KELLY, J.D. Fine mapping of the *Co-4* locus of common bean reveals a resistance gene candidate, COK-4, that encodes for a protein kinase. **Theoretical and Applied Genetics**, 103: 508-517, 2001.
- MENDEZ-VIGO, B.; RODRIGUEZ SOARES, C.; PAÑEDA, A.; FERREIRA, J.J.; GIRALDEZ, R. Molecular markers and allelic relationships of anthracnose resistance gene cluster B4 in common bean. **Euphytica**, 141: 237-245, 2005.
- MENEZES, J.R.; MOHAN, S.K.; BIANCHINI, A. Identificação de raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. no Estado do Paraná. In: Reunião nacional de pesquisa de feijão, 1, Goiânia **Anais...** Goiânia: CNPAF, 1982.
- MENEZES, J.R. **Variabilidade patogênica de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. em *Phaseolus vulgaris* L.** Brasília: Universidade de Brasília, 1985. 65p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia).
- MENEZES, J.R.; DIANESE, J.C. Race characterization of Brazilian isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* and detection of resistance to anthracnose in *Phaseolus vulgaris*. **Phytopathology**, 78: 650-655, 1988.
- MESQUITA, A.G.G.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BARROS, E.G. Identification of races of *Colletotrichum lindemuthianum* with the aid of PCR - based molecular markers. **Plant Disease**, 82: 1084-1087, 1998.
- OLIARI, L.; VIEIRA, C.; WILKINSON, R.E. Physiologic races of *Colletotrichum lindemuthianum* in the state of Minas Gerais, Brazil. **Plant Disease Reporter**, 57: 870-872, 1973.

- OLIVEIRA, E.A.; ANTUNES, I.F.; COSTA, J.G.C. Bean anthracnose race survey in South Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 16: 42-43, 1973.
- OTOYA, M.M.; RESTREPO, S.; PASTOR-CORRALES, M.A. Amplificación al azar del ADN polimórfico para evaluar la diversidad genética de *Colletotrichum lindemuthianum* en Colombia. **Fitopatología Colombiana**, 19: 7-14, 1995.
- PARADELA FILHO, O.; POMPEU, A.S. Ocorrência do Grupo Brasileiro I de *Colletotrichum lindemuthianum* da antracnose do feijoeiro no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, 1: 195-198, 1975.
- PARADELA FILHO, O.; ITO, M.F.; POMPEU, A.S. Novas raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib.. **Summa Phytopathologica**, 7:20, 1981.
- PARADELA FILHO, O.; ITO, M.F.; POMPEU, A.S. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, 17: 181-187, 1991.
- PASTOR-CORRALES, M.A. Estandarización de cultivares diferenciales y de designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, 81: 694, 1991.
- PASTOR-CORRALES, M.A.; ERAZO, O.A.; ESTRADA, E.I.; SINGH, S.P. Inheritance of anthracnose resistance in common bean accession G 2333. **Plant Disease**, 78: 959-962, 1994.
- PASTOR-CORRALES, M. A.; OTAYA, M.M.; MOLINA, A.; SINGH, S.P. Resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Middle América and Andean South America in different common bean races. **Plant Disease**, 79: 63-67, 1995.
- PAULA JÚNIOR, T.J., VEZON, M. **Culturas – manual de tecnologiis agrícolas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2007, 800p.
- PIO RIBEIRO, G.; CHAVES, G.M. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. que ocorrem em alguns municípios de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro. **Experientiae**, 19: 95-118, 1975.

- POLETINE, J.P.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; SCAPIM, C. A.; SILVÉRIO, L.; THOMAZELLA, C. Inheritance of resistance to races 69 and 453 of *Colletotrichum lindemuthianum* in the Common Bean. **Brazilian Archives of Biology Technology**, 43: 479-485, 2000.
- RAVA, C.A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M.; BRIONES, I. Determinación de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira**, 18: 388-391, 1993.
- RAVA, C. A.; PURCHIO, A. F.; SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**, 19: 167-172, 1994.
- ROCA, M.M.G. **Aspectos citológicos da variabilidade genética em *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld & Schrenck f. sp. *phaseoli* (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Man) Scriber)**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997. 82p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- SANSIGOLO, A.L.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; GONELA, A.; KVITSCHAL, M.V.; SOUZA, L.L. New races of *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Paraná state, Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 51: 192-193, 2008.
- SARTORATO, A. Determinação da variabilidade patogênica do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc.) Scrib. In: Congresso nacional de pesquisa de feijão, 7, Viçosa. **Anais...** Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002.
- SCHNOCK, M.G.; HOFFMANN, G.M.; KRÜGER, J.A. New physiological strain of *Colletotrichum lindemuthianum* infecting *Phaseolus vulgaris* L. **Horticultural Science**, 10: 140-140, 1975.
- SCHWARTZ, H.F.; PASTOR-CORRALES, M.A.; SINGH, S.P. New sources of resistance to anthracnose and angular leaf spot of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, 31: 741-754, 1982.
- SICARD, D.; MICHALAKIS, Y.; DRON, M.; NEEMA, C. Genetic diversity and pathogenic variation of *Colletotrichum lindemuthianum* in the three centers of diversity of its host, *Phaseolus vulgaris*. **Phytopathology**, 87: 807-813, 1997.

SILVA, U.C.; GALLI, M.A.; VAN DEN BROEK, H.; CORRAL, G.V.R.; PEZZUTTI, F.; CONSTANTINO, V.R. Eficiência de fungicidas orgânicos e silício em feijoeiro, para controle do oídio, mancha-angular, antracnose. **Revista Ecosystema**, 28: 79-82, 2003.

SILVA, K.J.D. **Distribuição e caracterização de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* no Brasil**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2004. 86p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

SILVÉRIO, L.; VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; BARELLI, M.A.A.; THOMAZELLA, C.; NUNES, W.M.C. Genetic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* race 2047 in G 2333. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 45: 74-75, 2002.

SINGH, S.P.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D.G., Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**, 45: 379-396, 1991.

SOMAVILLA, L.; PRESTES, A.M. Identificação de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* de algumas regiões produtoras de feijão do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, 24: 416-421, 1999.

SOUSA L.L.; GONÇALVES-VIDIGAL M.C.; GONÇALVES A.O.; VIDIGAL FILHO P.S.; AWALE H.; KELLY J.D. Molecular mapping of the anthracnose resistance gene *Co-15* in the common bean cultivar, Corinthiano. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 56: 45-46, 2013.

TALAMINI, V.; SOUZA, E.A.; POZZA, E.A.; FERNANDES, F.R.; ISHIKAWA, F.H. Identificação de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* de regiões produtoras de feijão comum em Minas Gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 7, Viçosa. **Anais...** Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002.

TALAMINI, V.; SOUZA, E.A.; POZZA, E.A.; CARRIJO, F.R.F. Identificação de raças patogênicas de *Colletotrichum lindemuthianum* a partir de isolados provenientes de regiões produtoras de feijão comum. **Summa Phytopathologica**, 30: 371-375, 2004.

THOMAZELLA, C.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; NUNES, W.M.C.; VIDA, J.B. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* in Paraná state, Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 2: 55-60, 2002a.

- THOMAZELLA, C.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; SAKIYAMA, N.S.; BARELLI, M.A.A.; SILVÉRIO, L. Genetic variability among *Colletotrichum lindemuthianum* races using RAPD markers. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 45: 44-45, 2002b.
- TU, J.C. Occurrence and characterization of the epsilon race of bean anthracnose in Ontário. **Plant Disease**, 68: 69-70, 1984.
- TU, J.C. Occurrence and characterization of the alpha-Brazil race of bean anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) in Ontário. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 16: 129-131, 1994.
- VALLEJO, V.; KELLY, J.D. Development of a SCAR marker linked to the *Co-5* locus in common bean. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, 44: 121-122, 2001.
- VALLEJO, V.A.; KELLY, J.D. **The use of AFLP analysis to tag the *Co-1*² gene conditioning resistance to bean anthracnose**. Disponível em: http://www.intl-pag.org//10/abstracts/PAGX_P233.html Plant and Animal Genome X conference 2002.
- VALLEJO, V.; KELLY, J.D. New Insights into the Anthracnose Resistance of Common Bean Landrace G 2333. **The Open Horticulture Journal**, 2: 29-33, 2009.
- VIEIRA, C. **Doenças e pragas do Feijoeiro**. Imprensa universitária da UFV. Viçosa-Minas Gerais. 1983. 231p.
- VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1988. 231 p.
- VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas Gerais**. Viçosa: UFV, 1998. 596p.
- VIEIRA, C.; BORÉM, A.; RAMALHO, M.A.P. Melhoramento do feijão. In BORÉM, A. (eds). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999, p. 273-349.
- VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J. BORÉM, A. **Feijão**. Viçosa: Ed. UFV. 2006. 600p.
- VILARINHOS, A.D.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Characterization of races of *Colletotrichum lindemuthianum* by the random amplified polymorphic DNA technique. **Fitopatologia Brasileira**, 20: 194-198, 1995.

YERKES Jr., W.D.; ORTIZ, M.T. New races of *Colletotrichum lindemuthianum* in México. **Phytopathology**, 46: 564-567, 1956.

YERKES Jr., W.D. Additional new races of *Colletotrichum lindemuthianum* in México. **Pant Disease Report**, 42: 329-329, 1958.

YOKOYAMA, L.P.; BANNO, K.; KLUTHCOUSKI, J. Aspectos socioeconômicos da cultura. In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. de (eds.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996. p. 515-654.

YOUNG, R.A.; KELLY, J.D. Characterization of genetic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean differential cultivars. **Plant Disease**, 80: 650-654, 1996a.

YOUNG, R.A.; KELLY, J.D. RAPD markers flanking the Are gene for anthracnose resistance in common bean. **Journal of American Society for Horticultural Science**, 121: 37-41, 1996b.

YOUNG, R.A.; KELLY, J.D. Tests of allelism for the anthracnose resistance *Co-1* gene. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 40: 128-129, 1997.

YOUNG, R. A.; MELLOTO, M.; NODARI, R.O.; KELLY, J.D. Marker-assisted dissection of the oligogenic anthracnose resistance in the common bean cultivar, G 2333. **Theoretical and Applied Genetics**, 96: 87-94, 1998.

ZAUMEYER, W.J.; THOMAS, H.R. **A monographic study of bean diseases and methods for their control**. Washington, USDA, Technical Bulletin, 868: 5-15, 1957.

CAPÍTULO I

Herança e alelismo da resistência à antracnose em feijoeiro comum cultivar México 222

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a herança da resistência à antracnose usando o cruzamento entre as cultivares México 222 (R) × Michigan Dark Red Kidney (S) inoculado com a raça 7, além de investigar, por meio de testes de alelismo, a independência dos genes já caracterizados *Co-1*, *Co-2*, *Co-3*, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6* e *Co-7*. Os testes de herança realizados em indivíduos F_2 do cruzamento México 222 × MDRK, inoculados com a raça 7, revelaram a existência de dois genes dominantes de resistência na cultivar México 222. Adicionalmente, os testes de alelismo nas populações F_2 dos cruzamentos México 222 × Cornell 49-242 e México 222 × AB 136, inoculados com a raça 7, revelaram também a presença de dois genes em México 222. A ausência de segregação foi observada em 100 indivíduos F_2 resultantes de cada um dos cruzamentos México 222 × G 2333 e México 222 × H1 line, inoculados com a raça 7, revelando a presença de alelismo. Por sua vez, a natureza da resistência de México 222 à raça 23 de *C. lindemuthianum* é monogênica. Os resultados permitiram concluir que México 222, G 2333 e H1 line possuem alelos de um mesmo locus que conferem resistência à raça 7 de *C. lindemuthianum*.

**Inheritance and allelism tests of anthracnose resistance in common bean
Mexico 222 cultivar**

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the inheritance of resistance to anthracnose using the cross between the cultivars Mexico 222 (R) × Michigan Dark Red Kidney (S) inoculated with race 7, and to investigate the independence of the genes of Mexico 222 from those previously characterized *Co-1*, *Co-2*, *Co-3*, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6* and *Co-7* genes. The inheritance tests performed on the F₂ population from the Mexico MDRK × 222 cross, inoculated with race 7, revealed the existence of two dominant genes for resistance in the cultivar Mexico 222. Additionally, tests for allelism in F₂ populations from Mexico 222 × Cornell 49-242 and Mexico 222 × AB 136 crosses, inoculated with race 7, also revealed the presence of two genes in Mexico 222. The absence of segregation was observed in 100 F₂ individuals from each population derived from Mexico 222 × G 2333 and Mexico 222 × H1 line crosses, inoculated with race 7, revealing the presence of allelism. However, the nature of resistance Mexico 222 to race 23 of *C. lindemuthianum* is monogenic. The results showed that the alleles of Mexico 222, G 2333 and H1 line are alleles of the same locus that confers resistance to race 7 *C. lindemuthianum*.

1. INTRODUÇÃO

A cultivar diferenciadora México 222 é caracterizada morfológicamente por possuir sementes de tamanho médio com coloração branca, apresentando hábito de crescimento determinado, ou seja, caule e ramos laterais terminando em inflorescência e número limitado de nós; a floração inicia-se do ápice para a base da planta (Vieira et al., 2006; Paula Jr. e Vezon, 2007). Os caracteres apresentados pela cultivar, como sementes de tamanho médio, com coloração branca e faseolina do tipo S, caracterizam-na como originária do centro mesoamericano.

A série de 12 cultivares utilizadas na identificação de raças de *C. lindemuthianum* (Pastor-Corrales, 1991), usando o sistema binário proposto por Habgood (1970), tem-se tornado importante fonte de genes que conferem resistência à antracnose. Dentre as 12 cultivares diferenciadoras, destaca-se a cultivar mesoamericana México 222, resistente a 81 raças de *C. lindemuthianum* (Pastor-Corrales et al., 1995; Balardin et al., 1997; Thomazella et al., 2002a; Ansari et al., 2004; Mahuku e Riascos, 2004; Sansigolo et al. , 2008). Nesta cultivar, foi identificado um gene dominante conferindo resistência às raças 9 e 23 (Gonçalves-Vidigal e Kelly, 2006; Gonçalves-Vidigal et al., 2008a). Entretanto, foram observados dois genes independentes conferindo resistência às raças 7 e 8 (Kelly e Vallejo, 2004; Gonçalves-Vidigal et al., 2007). O primeiro gene identificado em México 222 foi Co-3 (Bannerot, 1965), já o segundo gene observado ainda não foi caracterizado.

Os estudos de genética qualitativa ou mendeliana, com base na herança da resistência e em testes de alelismo em feijoeiro comum, vêm revelando que diferentes raças de *Colletotrichum lindemuthianum* podem resultar em segregações diferentes, como descritos por Alzate-Marin et al. (2007) ao caracterizar a resistência genética da cultivar PI 207262, Gonçalves-Vidigal et al. (2008b) investigando a cultivar México 222, bem como Sousa et al. (2009) trabalhando com a linhagem MSU 7-1. Adicionalmente, o emprego do mapeamento genético de genes, análise de sequências de genes análogos e/ou candidatos a genes de resistência, permitiram comprovar a existência de *clusters* de genes de resistência em *Phaseolus vulgaris* L. (Melotto e Kelly, 2001; Ferrier-Cana et al., 2003; David et al., 2008; Campa et al., 2009).

A ocorrência de *clusters* gênicos de resistência a diferentes patógenos (Michelmore e Meyers, 1998) vem sendo descritos em várias espécies, tais como *Glycine max* L. (Graham et al., 2002) e *Phaseolus vulgaris* L. (Méndez-Vigo et al., 2005). Estes agrupamentos de vários genes de resistência localizados em grupo de ligação específico de cada espécie (David et al., 2008) possibilitam a sinalização, expressão e consequente defesa da planta contra o patógeno de forma variável.

Devido à importância da cultivar diferenciadora México 222 em conferir resistência às raças Andinas de antracnose que ocorrem no Brasil e visando facilitar o uso desta cultivar como fonte de resistência à antracnose. Ressalta-se que a caracterização genética da cultivar México 222 em relação à raça 7 e 23 de *C. lindemuthianum* é de fundamental importância, uma vez que possibilitará a caracterização gênica e investigará a hipótese da cultivar possuir um ou dois genes independentes conferindo resistência ao *C. lindemuthianum*, dependendo da raça inoculada.

O objetivo deste estudo foi caracterizar a resistência genética da cultivar México 222 às raças 7 e 23 de *Colletotrichum lindemuthianum* verificar a independência dos genes de México dos previamente caracterizados *Co-1*, *Co-2*, *Co-3*, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6* e *Co-7*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Localização do experimento

Os experimentos foram realizados no período de março de 2008 a novembro de 2009, em casa de vegetação e no laboratório de biotecnologia do Núcleo de Pesquisa Aplicada à Agricultura (NUPAGRI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM), cidade de Maringá, Estado do Paraná, Brasil (23°26'S e 51°53'W).

2.2. Obtenção das populações segregantes

As sementes das cultivares utilizadas foram obtidas no NUPAGRI, e se encontravam em estado de pureza genética, não havendo necessidade de proceder-se à seleção de linhagens puras. As populações segregantes F_2 derivadas dos cruzamentos entre a cultivar mesoamericana México 222 e as cultivares diferenciadoras Michigan Dark Red Kidney, Cornell 49-242, AB 136 e G 2333 foram obtidas, a fim de se realizarem os estudos de herança e alelismo.

2.3. Material patogênico e preparação do inóculo

O isolado foi obtido na micoteca do Nupagri, sendo utilizadas culturas monospóricas das raças 7 e 64 de *Colletotrichum lindemutianum* com as mesmas transferidas para tubos contendo meio de cultura (Mathur et al., 1950) e imatura vagem de feijão, sendo incubado a 20°C por 15 dias.

2.4. Teste de herança da resistência

O teste de herança da resistência foi aplicado aos cruzamentos onde existam, tanto reações de resistência, quanto de suscetibilidade. Dentre os cruzamentos realizados, o teste de herança da resistência foi aplicado entre as cultivares México 222 (R) × MDRK (S), utilizando somente a raça 7, assim como as famílias $F_{2:3}$ foram

analisadas, considerando todos os indivíduos resistentes (R), resistentes e suscetíveis (R/S) e todos os indivíduos suscetíveis (S).

2.5. Teste de alelismo

Os testes de alelismo foram realizados nos cruzamentos onde ambas as cultivares envolvidas apresentaram reação de resistência (R x R). Os testes foram conduzidos com o objetivo de testar a independência dos genes presentes em México 222 e dos genes previamente caracterizados das cultivares diferenciadoras. Os cruzamentos foram realizados entre México 222 e as cultivares Cornell 49-242, AB 136, G 2333 e H1 line. As gerações F₂ foram inoculadas com as raças 7 e 64 e 23 conforme descrito no Quadro 1.

Quadro 1 – Esquema de cruzamentos entre as cultivares e reação em relação às raças 7, 23 e 64 de *Colletotrichum lindemuthianum*

Cruzamentos	Reação	Raças inoculadas
México 222 x Cornell 49-242	R x R	7
México 222 x AB 136	R x R	7
México 222 x G 2333	R x R	7
México 222 x H1 line	R x R	7
México 222 x G2333	R x R	23
México 222 x H1 line	S x S	64

2.6. Inoculação e incubação

Os procedimentos consistiram na multiplicação de esporos de cada uma das raças de *C. lindemuthianum* em tubos de ensaio contendo vagens esterilizadas e parcialmente imersas em meio com ágar-água. Após a repicagem do fungo nas vagens, as mesmas foram incubadas por 14 dias a 20°C. Decorrido o período necessário para o desenvolvimento do fungo, as vagens de cada tubo foram transferidas para um becker contendo água destilada esterilizada, onde foi obtida uma suspensão de esporos ajustada para concentração aproximada de $1,2 \times 10^6$ esporos mL⁻¹ de água destilada esterilizada, sendo utilizada a câmara de Newbauer para quantificação dos esporos. Os genitores, as gerações F₁ e gerações

segregantes foram inoculadas com as suspensões do patótipo de *C. lindemuthianum*.

Após a inoculação, as bandejas contendo as plantas permaneceram na câmara úmida por 96 horas, a temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, controlando-se a luminosidade (12 horas de iluminação de 680 lux seguida por 12 horas de escuro) e com aproximadamente 100% de umidade relativa. Após esse período, as plantas foram transferidas para mesas, em ambiente apropriado, com temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, sob luz artificial, onde permaneceram até o início das avaliações.

2.7. Avaliação fenotípica da planta

A avaliação visual dos sintomas em cada plântula foi realizada 10 dias após a inoculação, utilizando-se a escala de severidade proposta por Pastor-Corrales (1991), cujos valores variaram de 1 a 9, em plantas individuais, conforme descrito abaixo:

- 1 - ausência de sintomas;
- 2 - até 1% da nervura apresentando manchas necróticas, perceptíveis somente na face inferior das folhas;
- 3 - maior frequência de sintomas foliares descrita no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas;
- 4 - até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces das folhas;
- 5 - maior frequência dos sintomas foliares descrita no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas;
- 6 - manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces das folhas, e presença de algumas lesões em talos, ramos e pecíolos;
- 7 - manchas necróticas na maioria das nervuras e em grande parte do tecido mesofílico adjacente, que se rompe. Presença de abundantes lesões no talo, ramos e pecíolos;
- 8 - manchas necróticas em quase todas as nervuras, muito abundantes em talos, ramos e pecíolos, ocasionando rupturas, desfolhação e redução do crescimento das plantas;
- 9 - maioria das plantas mortas.

As plantas que receberam notas de 1 a 3 foram consideradas resistentes, enquanto plantas com notas de 4 a 9 foram consideradas suscetíveis.

2.8. Análise dos dados

A partir dos dados obtidos pelas segregações mendelianas dos fenótipos de resistência e suscetibilidade, com auxílio do recurso computacional do Programa Genes (Cruz, 2001), foi realizada a análise genético-estatística, por meio da aplicação do teste do qui-quadrado (χ^2).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Teste de Herança da resistência

A segregação observada na geração F₂ derivada do cruzamento entre as cultivares México 222 e Michigan Dark Red Kidney (MDRK), inoculada com a raça 7, ajustou-se à razão de 15R:1S ($p=0,89$), demonstrando que a cultivar México 222 possui dois genes dominantes de resistência à referida raça (Quadro 2). Os testes adicionais conduzidos nas famílias F_{2:3} se ajustaram à razão de 7R:8R/S:1S ($p=0,83$).

Quadro 2 – Herança da resistência da cultivar México 222 de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) à raça 7 de *Colletotrichum lindemuthianum*

Cruzamento	Raça	Gene	Plantas		Razão	χ^2	P
			Observadas		Esperada		
			R ^a	S ^b	R:S		
México 222 x MDRK	7	Co-3	141	9	15:1	0,016	0,89

^aR = Resistente; ^bS = Suscetível

Resultados descritos por Melotto et al. (2000) e Campa et al. (2009), indicaram que a cultivar MDRK apresenta reação de susceptibilidade quando inoculada com a raça 7. Portanto, a herança digênica observada neste estudo é determinada pela cultivar México 222. Mediante os resultados obtidos, pode-se afirmar que a cultivar México 222 apresenta dois genes dominantes independentes, no qual são os genes Co-3 e outro ainda não designado (Quadro 2). Recentes estudos revelaram que a presença de um ou dois genes na cultivar México 222 depende da raça inoculada, e pode ser explicada pela organização dos Co-genes em *P. vulgaris*, pois estão organizados em *clusters* de genes individuais conferindo resistência raça-específica (Méndez-Vigo et., 2005; Rodríguez-Suárez et al., 2007, 2008; Campa et al., 2009).

3.2. Teste de Alelismo

Os testes de alelismo conduzidos nas gerações F₂ derivadas dos cruzamentos México 222 x Cornell 49-242 e México 222 x AB 136, inoculadas com

a raça 7, revelaram a ocorrência de segregação e comprovaram a independência de três genes (Quadro 3), devido à razão esperada de 63R:1S.

Quadro 3 – Resposta da geração F₂ dos cruzamentos entre cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) às raças 7, 23 e 64 de *Colletotrichum lindemuthianum*

Cruzamentos	Raça	Plantas		Razão	χ^2	P
		Observadas		Esperada		
		R ^a	S ^b	R:S		
México 222 x Cornell 49-242	7	98	2	63:1	0,1244	0,72
México 222 x AB 136	7	99	1	63:1	0,2057	0,65
México 222 x G2333	7	100	0	-	-	-
México 222 x H1 line	7	100	0	-	-	-
México 222 x G2333	23	129	2	63:1	0,0010	0,97
México 222 x H1 line	64	0	100	-	-	-

^aR = Resistente; ^bS = Suscetível

Ausência de segregação foi observado em 100 indivíduos F₂ resultantes do cruzamento entre as cultivares México 222 e G 2333, inoculados com a raça 7 (Quadro 3). A ausência de segregação nos 100 indivíduos F₂ provenientes do cruzamento entre México 222 x H1 line, inoculados com a raça 7 de *C. lindemuthianum*, revelou a presença de alelismo. Por sua vez, a geração F₂ derivada do cruzamento México 222 x H1 line mostrou-se completamente compatível com a raça 64 de *C. lindemuthianum*.

Os testes de alelismo conduzidos em indivíduos F₂ provenientes de México 222 x G 2333, inoculados com a raça 23 de *C. lindemuthianum* resultou na segregação de 129R:2S, ajustando-se à razão de 63R:1S ($p=0,97$). Este fato indica a existência de três genes, sendo um deles presente em México 222 e os outros dois encontram-se na cultivar G 2333.

As segregações observadas nas gerações F₂ provenientes dos cruzamentos México 222 x Cornell 49-242 e México 222 x AB 136, inoculadas com a raça 7, ajustaram-se à razão de 63R:1S, indicando a presença de três genes dominantes de resistência. Estes resultados permitem concluir que dois destes genes estão presentes em México 222 (*Co-3* e *Co-?*), enquanto que o outro gene está presente em cada cultivar, pois a diferenciadora Cornell 49-242 é portadora do gene *Co-2*

(Mastenbroek, 1960; Bassett, 1996) e AB 136 apresenta Co-6 (Gonçalves-Vidigal, 1994; Young e Kelly 1996, 1997).

Balardin e Kelly (1998) descreveram que a cultivar Cornell 49-242 é resistente à raça 7, assim como a presença de um gene dominante nesta cultivar foi relatada por Gonçalves-Vidigal e Kelly (2006) em estudos realizados em geração F₂ do cruzamento Widusa × Cornell 49-242. Alzate-Marin et al. (2003) investigando geração segregante do cruzamento entre Cornell 49-242 × Ouro Negro, inoculada inoculação com as raças 7 e 65 observaram que a herança de Cornell 49-242 é monogênica. Adicionalmente, resultados similares sobre o gene Co-6 da cultivar AB 136 foram descritos por Gonçalves-Vidigal et al. (2001) estudando a população F₂ e famílias F_{2:3} do cruzamento AB 136 × Michelite, inoculadas com as raças 31 e 69.

Os testes de alelismos conduzidos nas gerações F₂ dos cruzamentos México 222 × G 2333 e México 222 × H1 line, inoculadas com a raça 7, demonstraram a presença de alelismos. Estes resultados permitiram concluir que México 222, G 2333 e H1 line são portadoras de alelos de resistência à raça 7 de *C. lindemuthianum* presentes em um mesmo locus cromossômico. Portanto, os genes previamente descritos como Co-3 (Bannerot, 1965) e Co-7 (Young et al., 1998) provavelmente são alelos de um único locus. Resultados similares de presença de alelismo foram encontrados por Lima et al. (2007) estudando a população F₃ do cruzamento México 222 × H1 line, inoculada com a raça 8.

Quando a população F₂ proveniente do cruzamento México 222 × G 2333 foi inoculada com a raça mesoamericana 23, mais virulenta que a raça andina 7, observou-se segregação que se ajustou à razão 63R:1S. Este fato evidencia que dois genes estão presentes G 2333 e outro em gene em México 222. No presente estudo foi observada a presença de apenas um gene dominante de resistência em México 222, quando populações segregantes foram inoculadas com a raça 23. Resultados similares foram obtidos por Gonçalves-Vidigal et al. (2008b), Méndez-Vigo et al. (2005) e Rodríguez-Suárez et al. (2008), quando inocularam as gerações segregantes com as raças 23, 38, 19 e 31.

Este estudo evidencia a importância da cultivar México 222, como fonte de resistência ao *C. lindemuthianum*, o qual possui um e/ou dois genes dependendo da raça de *Colletotrichum lindemuthianum* inoculada.

4. CONCLUSÕES

1. A segregação da população F_2 do cruzamento México 222 (R) x Michigan Dark Red Kidney (S), inoculado com a raça 7, revelou que a resistência da cultivar México 222 é conferida por dois genes dominantes. Este resultado foi confirmado com a segregação das famílias $F_{2:3}$ que se ajustou à razão de 7R:8R/S:1S.
2. Os testes de alelismo provenientes dos indivíduos F_2 , originados dos cruzamentos México 222 x Cornell 49-242 e México 222 x AB 136, inoculados com a raça 7, segregou numa razão de 63R:1S, demonstrando em cada um dos cruzamentos a independência dos dois genes presentes em México 222 e um gene de Cornell 49-242 e de um gene de AB 136, respectivamente.
3. Ausência de segregação foi observada em 100 indivíduos F_2 resultantes do cruzamento México 222 x G 2333, inoculado com a raça 7. A presença de alelismo também foi verificada na população F_2 do cruzamento México 222 x H1 line quando inoculada com a raça 7.
4. O teste de alelismo conduzido na geração F_2 do cruzamento México 222 (R) x G 2333 (R), inoculada com a raça 23, revelou ausência de alelismo. Uma vez que, G 2333 possui dois genes de resistência à raça 23, este resultado comprova que o México 222 possui apenas um gene dominante de resistência à referida raça diferente do gene em G 2333.
5. Os resultados evidenciaram a presença de um segundo gene na cultivar diferenciadora México 222 quando inoculada com a raça 7 de *C. lindemuthianum*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALZATE- MARIN, A.L.; COSTA, M.R.; MENARIM, H.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Herança da resistência à antracnose da cultivar de feijoeiro comum Cornell 49-242. **Fitopatologia Brasileira**, 28: 302-306, 2003.
- ALZATE-MARIN, A.L.; SOUZA, K.A.; SILVA, M.G.M.; OLIVEIRA, E.J.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Genetic characterization of anthracnose resistance genes *Co-4³* and *Co-9* in common bean cultivar Tlalnepantla 64 (PI 207262), **Euphytica**, 154: 1-8, 2007.
- BALARDIN, R.S.; KELLY, J.D. Interaction between *Colletotrichum lindemuthianum* races and gene pool diversity in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of the American Society Horticulture Science**, 123: 1038-1047, 1998.
- BANNEROT, H. Résultats de l' infection d'une collection de haricots par six races physiologiques d'antracnose. **Annales del'Amélioration Des Plantes**, 15: 201-222, 1965.
- BASSETT, M.J. List of genes – *Phaseolus vulgaris*. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, 39: 1-9, 1996.
- CAMPA, A.; GIRALDEZ, R.; FERREIRA, J.J. Genetic dissection of the resistance to nine anthracnose races in the common bean differential cultivars MDRK and TU. **Theoretical and Applied Genetics**, 119: 1-11, 2009.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes: Versão Windows; Aplicativo Computacional em Genética e Estatística**. Viçosa: UFV, 2001. 648 p.
- DAVID, P.; SÉVIGNAC, M.; THAREAU, V.; CATILLON, Y.; KAMI, J.; GEPTS, P.; LANGIN, T.; GEFFROY, V. BAC and sequences corresponding to the B4 resistance gene cluster in common bean: a resource for markers and synteny analyses. **Molecular Genetics Genomics**, 280: 521-533, 2008.
- FERRIER-CANA E.; GEFFROY, V.; MACADRÉ, C.; CREUSOT, F.; IMBERT-BOLLORÉ, P.; SÉVIGNAC, M.; LANGIN, T. Characterization of expressed NBS-LRR resistance gene candidates from common bean. **Theoretical and Applied Genetics**, 106:251:261, 2003.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.G. **Herança da Resistência às raças alfa, delta e capa de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)** Viçosa: Universidade Estadual de Viçosa, 1994. 52p.Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento).

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; SAKIYAMA, N.S.; VIGIDAL-FILHO, P.S.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; POLETINE, J.P.; OLIVEIRA, V.R. Resistance of common bean cultivar AB 136 to races 31 and 69 of *Colletotrichum lindemuthianum*: the Co-6 locus. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 1: 99-104, 2001.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; KELLY, J.D. Inheritance of antracnose resistance in the common bean cultivar Widusa. **Euphytica**, 151: 411-419, 2006.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; SILVA, C.R.; VIDIGAL FILHO, P.S.; GONELA, A.; KVITSCHAL, M.V. Allelic relationships of anthracnose resistance in the common bean cultivar Michelite. **Genetics and Molecular Biology**, 30: 589-593, 2007.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; LACANALLO, G.F.; VIDIGAL FILHO; P.S. A new gene conferring resistance to anthracnose in Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Jalo Vermelho. **Plant Breeding**, 127: 592-596, 2008a.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; PERIOTO, P.S.; VIDIGAL FILHO, P.S.; SILVA, C.R.; KVITSCHAL, M.V.; SOUZA, L.L. Inheritance and allelic relationship of anthracnose resistance in common bean México 222. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 51: 96-97, 2008b.

GRAHAM, M.A.; MAREK, L.F.; SHOEMAKER, R.C. Organization, expression and evolution of a disease resistance cluster in soybean. **Genetics**, 162:1961-1977, 2002.

HABGOOD, H. Designation of physiological races of plant pathogens. **Nature**, 227:1267-1269, 1970.

KELLY, J.D.; VALLEJO, V.A. comprehensive review of the major genes conditioning resistance to anthracnose in common bean. **HortScience**, 39: 1196-1207, 2004.

LIMA, I.A.; SANTOS, J.B.; PEREIRA, H.S.; CAMARGO JUNIOR, O.A. Teste de alelismo para alelos de resistência à antracnose do feijoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 32, Maringá. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007.

MAHUKU, G.S.; RIASCOS, J.J. Virulence and molecular diversity within *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Andean and Mesoamerican bean varieties and regions. **European Journal of Plant Pathology**, 110: 253-263, 2004.

MASTENBROEK, C. A breeding programme for resistance to anthracnose in dry shell haricot beans, based on a new gene. **Euphytica**, 9: 177-184, 1960.

MATHUR, R.S.; BARNETT, H.L.; LILLY, V.G. Sporulation of *Colletotrichum lindemuthianum* in culture. **Phytopathology**, 40: 104-114, 1950.

MELOTTO, M.; BALARDIN, R.S.; KELLY, J.D. **Host-pathogen interaction and variability of *Colletotrichum lindemuthianum***. In: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. (eds.) *Colletotrichum* host specificity, pathology, and host-pathogen interaction. Saint Paul: APS press, 2000. p. 346-361.

MELOTTO, M.; KELLY, J.D. Fine mapping of the *Co-4* locus of common bean reveals a resistance gene candidate, COK-4, that encodes for a protein kinase. **Theoretical and Applied Genetics**, 103: 508-517, 2001.

MENDEZ-VIGO, B.; RODRIGUEZ SOARES, C.; PAÑEDA, A.; FERREIRA J.J.; GIRALDEZ, R. Molecular markers and allelic relationships of anthracnose resistance gene cluster B4 in common bean. **Euphytica**, 141: 237-245, 2005.

MICHELMORE, R.W.; MEYERS, B.C. Clusters of resistance genes in plants evolve by divergent selection and birth-and-death process. **Genome Research**, 8: 1113-1130, 1998.

PASTOR-CORRALES, M.A. Estandarización de cultivares diferenciales y de designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, 81: 694, 1991.

PASTOR-CORRALES, M.A.; OTAYA, M.M.; MOLINA, A.; SINGH, S.P. Resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Middle América and Andean South America in different common bean races. **Plant Disease**, 79: 63-67, 1995.

PATHANIA, A.; SHARMA, P.N.; SHARMA, O.P.; CHAHOTA, R.K.; BILAL AHMAD; SHARMA, P. Evaluation of resistance sources and inheritance of resistance in kidney bean to Indian virulences of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Euphytica**, 149: 97-103, 2006.

PAULA JÚNIOR, T. J., VEZON, M. **Culturas – manual de tecnologiis agrícolas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2007, 800p.

RODRÍGUES-SUAREZ, C.; MÉNDEZ-VIGO, B.; PAÑEDA, A.; FERREIRA, J.J.; GIRALDEZ, R. A genetic linkage map of *Phaseolus vulgaris* L. and localization of genes for specific resistance to six races of anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). **Theoretical and Applied Genetics**, 114: 713-722, 2007.

RODRÍGUES-SUAREZ, C.; FERREIRA, J.J.; CAMPA, A.; PAÑEDA, A.; GIRALDEZ, R. Molecular mapping and intra-cluster recombination between anthracnose race-specific resistance genes in the common bean differential cultivars México 222 and Widusa. **Theoretical and Applied Genetics**, 116: 807-814, 2008.

SOUSA, L.L.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; CRUZ, A.S.; COSTA, T.R. Allelic relationship of anthracnose resistance in MSU 7-1 line. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 52: 48-49, 2009.

THOMAZELLA, C.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; SAKIYAMA, N.S.; BARELLI, M.A.A.; SILVÉRIO, L. Genetic variability among *Colletotrichum lindemuthianum* races using RAPD markers. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 45: 44-45, 2002.

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

YOUNG, R.A.; KELLY, J.D. Characterization of genetic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean differential cultivars. **Plant Disease**, 80: 650-654, 1996.

YOUNG, R.A.; KELLY, J.D. Tests of allelism for the anthracnose resistance *Co-1* gene. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 40: 128-129, 1997.

YOUNG, R. A.; MELLOTO, M.; NODARI, R.O.; KELLY, J.D. Marker-assisted dissection of the oligogenic anthracnose resistance in the common bean cultivar, G 2333. **Theoretical and Applied Genetics**, 96: 87-94, 1998.

CAPÍTULO II

Validação e uso do marcador SW12 ligado ao gene Co-3 de resistência à antracnose em feijoeiro comum

RESUMO

O objetivo deste estudo foi validar a eficiência do marcador SW12 ligado ao gene Co-3 de resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* presente em México 222. A fim de realizar as análises moleculares, a população F₂ e as correspondentes famílias F_{2:3} do cruzamento México 222 × Widusa foram inoculadas com a raça 23 de *C. lindemuthianum*. A segregação das famílias F_{2:3} ajustou-se à razão de 1:2:1, confirmando a hipótese de herança monogênica. As análises moleculares revelaram que o marcador molecular SW12 está ligado ao gene Co-3 de resistência à antracnose, em fase de acoplamento, sendo encontrado a distância de 5.8 cM.

**Validation and use SW12 marker linked to anthracnose resistance
Co-3 gene in common bean**

ABSTRACT

The aim of this study was to validate the efficiency of SW12 molecular marker linked to *Co-3* gene for resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* of Mexico 222. For the molecular analysis, the F_2 population and the corresponding $F_{2:3}$ families from Mexico 222 × Widusa cross were inoculated with race 23 of *C. lindemuthianum*. Segregation of F_2 and $F_{2:3}$ families fitted to a ratio of 3:1 and 1:2:1, respectively, confirming the hypothesis of monogenic inheritance. The molecular marker SW12 was observed in coupling phase at a distance of 5.8 cM between the marker and the *Co-3* resistance gene to anthracnose. Therefore, this marker was validated and can be shown in breeding programs for resistance to anthracnose.

1. INTRODUÇÃO

O controle da antracnose pode ser obtido por meio de um conjunto de técnicas culturais, químicas e genéticas realizadas de forma integrada e com caráter preventivo (Rey et al., 2005). Porém, a obtenção e a utilização de cultivares que apresentam resistência genética às diversas raças do patógeno é o método mais efetivo e econômico para o controle desta doença (Zaumeyer e Thomas, 1957; Mahuku et al., 2002), tanto pela redução nos custos de produção, como pela diminuição dos danos causados ao ambiente.

A existência de dois grupos gênicos, denominados mesoamericano e andino, tem sido relatado por diversos pesquisadores (Singh et al., 1991; Haley et al., 1994), no qual tais diferenças são apresentadas através de características morfológicas, isoenzimas, marcadores moleculares e severidade das doenças ocasionadas pelos respectivos patógenos que incidem sobre a cultura, além de representar uma fonte de variabilidade genética (Melotto e Kelly, 2000).

Atualmente 15 genes de resistência à antracnose já foram caracterizados e descritos na literatura, os quais foram designados pelos símbolos *Co-1* (McRostie, 1919; Vallejo e Kelly, 2002), *Co-2* (Mastenbroek, 1960), *Co-3* (Bannerot, 1965), *Co-4* (Fouilloux, 1979; Awale e Kelly, 2001), *Co-5* (Young et al., 1998; Vallejo e Kelly, 2001; Young e Kelly, 1996a) *Co-6* (Gonçalves-Vidigal, 1994; Young e Kelly 1996b, 1997), *Co-7* (Young et al., 1998), *co-8*, que confere resistência recessiva (Alzate-Marin et al., 2001), *Co-9* (Geffroy et al., 1999), *Co-10* (Alzate-Marin et al., 2003b), *Co-11* (Gonçalves-Vidigal et al., 2007), *Co-12* (Gonçalves-Vidigal et al., 2008a), *Co-13* (Gonçalves-Vidigal et al., 2009), *Co-14* (Gonçalves-Vidigal et al., 2012) e *Co-15* (Gonçalves et al., 2010). Séries alélicas foram identificadas para quatro destes *loci*: *Co-1*, *Co-3*, *Co-4* e *Co-5*. Posteriormente, demonstrou-se também que os genes *Co-7* e *Co-9* (recodificado como *Co-3³*) são alélicos a *Co-3* (Méndez-Vigo et al., 2005; Rodríguez-Suárez et al., 2008). Ressalta-se que os genes *Co-1*, *Co-12*, *Co-13*, *Co-14* e *Co-15* são de origem Andina e os demais são de origem Mesoamericana. Oito locos de resistência já foram mapeados entre os 11 cromossomos (Pv01-Pv11) do feijoeiro: *Co-1* (Pv01), *Co-2* (Pv11), *Co-3* (Pv04), *Co-4* (Pv08), *Co-5* (Pv07), *Co-6* (Pv07), *Co-10* (Pv04), *Co-13* (Pv03) e *Co-15* (Pv04)

(Kelly et al., 2003; Singh e Schwartz, 2010; Lacanallo et al., 2010; Gonçalves-Vidigal et al., 2011; Sousa et al., 2013).

Estes genes de resistência à antracnose têm sido identificados e mapeados, sendo agrupados em diferentes grupos de ligação do genoma do feijão (Kelly et al., 2003). Por sua vez, a cultivar diferenciadora México 222 é portadora do gene *Co-3*, o qual está localizado no grupo de ligação B4 (Geffroy et al., 1999; Méndez-Vigo et al., 2005).

A seleção assistida por marcadores é largamente utilizada em programas de melhoramento de plantas (Kelly e Miklas, 1998), pois é uma ferramenta biotecnológica que possibilita eficiente e efetiva detecção de vários genes de resistência à antracnose, além de promover redução no tempo e custos com inoculações e avaliações fenotípicas (Borém, 2005).

O objetivo deste estudo foi validar a eficiência do marcador molecular SW12 ligado ao gene de resistência à antracnose *Co-3*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Localização do experimento

O estudo foi conduzido em casa de vegetação e em laboratório, ambos localizados no Núcleo de Pesquisa Aplicada à Agricultura (NUPAGRI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM), cidade de Maringá, Estado do Paraná, Brasil (23°26'S e 51°53'W).

2.2. Obtenção da geração F₁

Os genitores utilizados nesse estudo foram semeados em vasos de polietileno (com capacidade de 5 dm³) contendo substrato à base de turfa + fertilizantes (NPK), e foram deixados para germinar em condições de casa de vegetação. Com o objetivo de manter o substrato com umidade próxima à sua capacidade de campo, procedeu-se irrigações diárias. A fim de favorecer o desenvolvimento das plantas, foram efetuadas adubações desde o estágio V₂-V₃ até pouco antes da floração. As adubações foram realizadas com nitrogênio, na forma de sulfato de amônio (50g de sulfato de amônio 2 litros de água⁻¹), aplicando-se 250 mg de N em 50 mL de água.vaso⁻¹. Além disso, foi fornecido também potássio na forma de cloreto de potássio (14g K₂O 2 litros de água⁻¹).

A partir dos cruzamentos envolvendo a cultivar México 222 (resistente) como genitor feminino com Widusa (suscetível) foram obtidas as sementes F₁. As sementes da geração F₁ foram semeadas em vasos contendo mistura de solo previamente adubado e esterilizado, os quais foram mantidos em casa de vegetação. As sementes F₂ colhidas das gerações F₁ de cada cruzamento foram semeadas em bandejas plásticas contendo substrato. As plântulas foram mantidas em casa de vegetação até o surgimento da primeira folha trifoliolada (estádio V₃), quando se procedeu a inoculação. As plantas F₂ resistentes foram transplantadas para casa de vegetação para obtenção das sementes F_{2:3} e posterior estabelecimento das famílias.

2.3. Preparo do inóculo, inoculação e incubação

Os procedimentos consistiram na multiplicação de esporos do patótipo *C. lindemuthianum* em tubos de ensaio contendo vagens esterilizadas e parcialmente imersas em meio com ágar-água (Cárdenas et al., 1964). Após a repicagem do fungo nas vagens, as mesmas foram incubadas por 14 dias a 20°C. Decorrido o período necessário de desenvolvimento do fungo, as vagens de cada tubo foram transferidas para um becker contendo água destilada esterilizada, obtendo-se a quantidade de esporos através da câmara de Newbauer, foi utilizada uma suspensão de esporos ajustada para concentração de $1,2 \times 10^6$ esporos mL⁻¹ de água destilada esterilizada.

Quando as plântulas apresentavam a primeira folha trifoliolada (estádio V3) foram transferidas para uma câmara de nevoeiro com temperatura de aproximadamente $22 \pm 2^\circ\text{C}$ para a inoculação da raça. Os genitores, as gerações F₁, F₂ e F_{2:3} foram inoculadas com a suspensão de esporos da raça 23 de *C. lindemuthianum* utilizando-se um atomizador De Vilbiss, número 15. Após a inoculação, as plântulas permaneceram na câmara úmida por 96 horas, em temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, controlando-se a luminosidade (12 horas de iluminação de 680 lux seguida por 12 horas de escuro) e com aproximadamente 100% de umidade relativa. Após esse período, as plantas foram transferidas para mesas, em ambiente apropriado, com temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, sob luz artificial, onde permaneceram até o início das avaliações.

2.4. Método de avaliação dos sintomas

As avaliações visuais dos sintomas em cada plântula foram realizadas 10 dias após a inoculação, utilizando-se a escala de severidade proposta por Pastor-Corrales (1991). As notas atribuídas às primeiras folhas trifoliolada, variaram de 1 a 9. As plantas que não apresentaram sintomas ou somente poucas lesões na nervura principal das folhas receberam notas de 1 a 3 e foram consideradas resistentes. Por sua vez, as plântulas com notas de 4 a 9 foram consideradas como suscetíveis.

2.5. Extração e quantificação de DNA

Trifólios jovens dos genitores México 222 e Widusa e dos indivíduos F₂ provenientes do cruzamento Ouro México 222 x Widusa foram coletados individualmente em tubos plásticos (Eppendorf) com capacidade para 1,5 mL e armazenados em freezer -21°C, para posterior extração do DNA. O processo de extração foi realizado conforme o procedimento preconizado por Afanador et al. (1993), com modificações, utilizando diretamente 400 µL do tampão de extração CTAB.

2.6. Amplificação do marcador e visualização do gel

O DNA extraído foi utilizado nas reações de amplificação utilizando o marcador SCAR SW12 de acordo com a metodologia proposta por Méndez-Vigo et al. (2005) com modificações. Cada reação de amplificação conteve um volume total de 25,0 µL sendo: 25 ng de DNA, 100 mM de Tris-HCl, 100 mM KCl pH 8.3, 5 Mm MgCl₂, 0,2mM de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 0.2 µM de cada primer e 1.25 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen). A amplificação foi realizada em termociclador com a seguinte programação: 94°C por 1 minuto, 30 ciclos de 94°C por 30 segundos, 70°C por 30 segundos e 72°C por 60 segundos, seguido por 5 minutos de extensão a 72°C (Quadro 2). Os produtos das reações de amplificação foram separados em gel de agarose a 1.2%, sendo corado com brometo de etídio e visualizados em transluminador com luz ultravioleta e, em seguida, foram fotodocumentadas as bandas. O primer primer SW12 apresentou a sequência: Forward 5'-TGGGCAGAAGTTCTAGCATGTGGC-3' e Reverse 5'-TGGGCAGAAGCACAGTATGATTTG-3'.

2.7. Análise dos dados e de ligação

O teste do qui-quadrado foi utilizado para avaliar as taxas observadas e esperadas, resultantes da segregação fenotípica da população F₂ e das famílias F_{2:3} após a inoculação, sendo utilizado o software GENES (Cruz, 2001). As análises de ligação foram realizadas com auxílio do software MAPMAKER, assim como a

distância entre o marcador e o gene de resistência foi apresentada em centimorgans (cM), calculado de acordo com a função de Kosambi (Lander et al., 1987).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Herança

Um total de 130 plantas F_2 cruzamento México 222 × Widusa, 20 plantas de cada um dos pais e da geração F_1 foram inoculadas com a raça 23 de *C. lindemuthianum*. Posteriormente, os 98 indivíduos F_2 resistentes foram multiplicados para obtenção das famílias $F_{2:3}$, as quais foram também inoculadas com a raça 23. Decorridos 10 dias da inoculação das plantas com o patógeno, foi observada na população F_2 de 98 plantas resistentes e 32 suscetíveis ao *C. lindemuthianum* ($p = 0,92$). Nas famílias $F_{2:3}$ observou-se uma segregação que ajustou-se à razão de 1RR:2Rr:1SS ($p = 0,84$), estes padrões de segregação se ajustam à proporção de uma resistência, monogênica dominante em México 222 à raça 23 Quadro 1).

Os resultados obtidos revelam a presença de um gene dominante independente na cultivar México 222, sendo previamente denominado de Co-3 (Bannerot, 1965; Bannerot et al., 1971). Estudos realizados por Gonçalves-Vidigal et al. (2008b) trabalhando com geração F_2 derivada do cruzamento México 222 × Widusa quando inoculada com a raça 23, verificaram que apenas um gene dominante foi responsável pela resistência da cultivar México 222 à referida raça.

Quadro 3 – Herança da resistência da cultivar México 222 de feijoeiro comum à raça 23 *Colletotrichum lindemuthianum*

Cruzamento	Geração	Razão	Razão	χ^2	Probabilidade
		observada	esperada		
		RR:RS:SS ^a	1RR:2RS:1SS		
México 222	PR ^b	20:0:0	-	-	-
Widusa	PS	0:0:20	-	-	-
México 222 × Widusa	F_2	98:32	97,5:32,5	0,01 0	0,92
México 222 × Widusa	$F_{2:3}$	25:51:22	24,5:49,0:25,5	0,34 7	0,84

^a Famílias $F_{2:3}$ foram classificadas em indivíduos resistentes (RR), indivíduos resistentes e suscetíveis (RS), e todos indivíduos suscetíveis (SS); ^b PR = Parental resistente; PS = Parental suscetível.

Pesquisas conduzidas por Rodríguez-Suárez et al. (2008) para avaliar população F_2 oriunda do cruzamento México 222 × Widusa, inoculada com a raça

19 de *C. lindemuthianum*, reportaram a resultados similares sobre a ocorrência de um único gene, no caso o gene *Co-3* em México 222.

3.2. Marcador molecular

As análises moleculares foram conduzidas na geração F_2 e nas famílias $F_{2:3}$, utilizando-se seis marcadores moleculares previamente mapeados no grupo de ligação Pv04. A metodologia de análise “Bulk” segregantes (Michelmore et al., 1991) foi conduzida nos genitores resistente e suscetível e nos Bulks resistente e suscetível. Dentre os marcadores testados, apenas o marcador SW12 apresentou polimorfismo entre os parentais e os Bulks resistentes e suscetíveis. Este marcador molecular quando testado em todos indivíduos F_2 , revelou estar ligado em fase de acoplamento ligado ao gene *Co-3*, amplificando dois fragmentos de 700 e 425 pb (Figura 1).

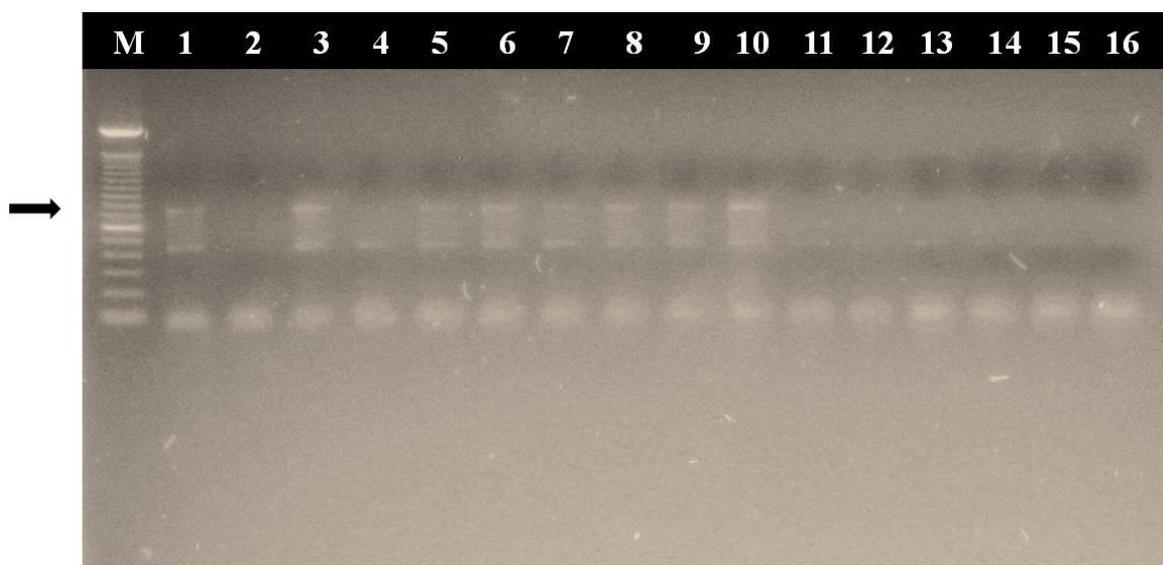


Figura 1 – Amplificação com marcador SW12. M - 100 bp ladder; 1 - México 222 (R); 2 – Widusa (S); 3 - bulk resistente; 4 - bulk suscetível; linhas 5-10 - $F_{2:3}$ plantas resistentes (homozigotas) e linhas 11-16 $F_{2:3}$ plantas suscetíveis a *C. lindemuthianum* raça 23. A seta indica o marcador SW12 com 700pb e ligado em fase de acoplamento ao gene *Co-3*.

A segregação observada do marcador SW12 na geração F_2 do cruzamento México 222 × Widusa foi de 98 (+): 38 (-) ($\chi^2 = 0,013$; $p = 0,90$). Ressalta-se que o fragmento de 700 pb presente no genitor resistente México 222 e nas famílias

homozigotas F_{2:3} foi utilizado para a genotipagem da da população F₂ propiciando a obtenção da segregação que se ajustou à razão de 3:1 (Quadro 4). Os resultados das análises moleculares permitiram concluir que este marcador está ligado ao gene Co-3 (México 222), em fase de acoplamento a uma distância de 5,8 cM. As análises de um total de 130 indivíduos revelaram a presença de oito recombinantes.

Quadro 4 - Reação das famílias F_{2:3} derivadas do cruzamento México 222 x Widusa inoculadas com a raça 23 de *Colletotrichum lindemuthianum*, presença e ausência do marcador molecular SW12

Geração	Número de plantas observadas				Razão esperada	χ^2	P	Distância de ligação (cM) ^b
	1RR:RS:SS ^a							
F _{2:3}	25:51:22				24,5:49,0: 24,5	0,35	0,84	
(+) Presença e (-) ausência do marcador em plantas F ₂ ^c	92 (+)	0	0	38 (-)	97,5: 0: 0:32,5	1,24	0,27	5,8

^a R = Plantas Resistentes; S = Plantas Suscetíveis; ^b Distância entre o marcador SW12 e o gene de resistência Co-3; ^c Presença do marcador (+); ausência (-); P= probabilidade

A distância de 5,8 cM entre o marcador SW12 e o gene Co-3, observada na população F₂, originada do cruzamento México 222 x Widusa é similar aos resultados obtidos por Méndez-Vigo et al. (2005). Estes autores identificaram que o marcador SW12 está ligado em fase de acoplamento ao gene Co-3, localizado no grupo de ligação Pv04. Posteriormente, Rodríguez-Suárez et al. (2008), estudando uma população resultante do cruzamento entre as cultivares México 222 (R) x Widusa (S), observaram que o marcador SW12 encontrava-se ligado ao cluster gênico Co-3/Co-9, em acoplamento a uma distância de 1,1 cM.

4. CONCLUSÕES

1. A segregação observada na geração $F_{2:3}$ do cruzamento entre as cultivares México 222 (R) × Widusa (S), ajustou-se à razão de 1:2:1, confirmando a hipótese de herança monogênica do gene de resistência à antracnose Co-3.
2. O marcador SW12 foi observado em fase de acoplamento ligado ao gene Co-3. Adicionalmente, a distância encontrada entre o marcador e o gene Co-3 de resistência à antracnose foi de 5,8 cM. Portanto, este marcador foi validado e pode ser indicado em programas de melhoramento, visando resistência à antracnose.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFANADOR, L.; HADLEY, S.; KELLY, J.D. Adoption of a mini-prep DNA extraction method for RAPD markers analysis in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 36: 10-11, 1993.
- ALZATE-MARIN, A.L.; ALMEIDA, K.S.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Identification of a recessive gene conferring resistance to anthracnose in common bean lines derived from the differential cultivar AB 136. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 44: 117-118, 2001.
- ALZATE-MARIN, A.L.; COSTA, M.R.; MENARIM, H.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Herança da resistência à antracnose da cultivar de feijoeiro comum Cornell 49-242. **Fitopatologia Brasileira**, 28: 302-306, 2003a.
- ALZATE-MARIN, A.L.; COSTA, M.R.; ARRUDA, K.M.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Characterization of the anthracnose resistance gene present in Ouro Negro (Honduras 35) common bean cultivar. **Euphytica**, 133: 165-169, 2003b.
- AWALE, H.E.; KELLY, J.D. Development of SCAR markers linked to *Co-4²* gene in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 44: 119-120, 2001.
- BANNEROT, H. Résultats de l' infection d'une collection de haricots par six races physiologiques d'antracnose. **Annales del'Amélioration Des Plantes**, 15: 201-222, 1965.
- BANNEROT, H.; DEIEUX, M.; FOUILLOUX, G. Mise en evidence d' un second gene de resistance totale a l' antracnose chez le haricot. **Annales del'Amélioration Des Plantes**, 21: 83-85, 1971.
- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2005. 525p.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes: Versão Windows; Aplicativo Computacional em Genética e Estatística**. Viçosa: UFV, 2001. 648 p.

FOUILLLOUX, G. New races of bean anthracnose and consequences on our breeding programs. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON DISEASES OF TROPICAL FOOD CROPS. Louvain la Neuve, 1978. **Proceedings...** Louvain la Neuve: Université Catholique de Louvain, 1979. p. 221-235.

GEFFROY, V.; DELPHINE, S.; OLIVEIRA, J. C. F.; SÉVIGNAC, M.; COHEN, S.; GEPTS, P.; NEEMA, C.; LANGIN, T.; DRON, M. Identification of an ancestral resistance gene cluster involved in the coevolution process between *Phaseolus vulgaris* and its fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 12: 774-784, 1999.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.G. **Herança da Resistência às raças alfa, delta e capa de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)** Viçosa: Universidade Estadual de Viçosa, 1994. 52p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento).

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; KELLY, J.D. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean cultivar Widusa. **Euphytica**, 151: 411-419, 2006.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; SILVA, C.R.; VIDIGAL FILHO, P.S.; GONELA, A.; KVITSCHAL, M.V. Allelic relationships of anthracnose resistance in the common bean cultivar Michelite. **Genetics and Molecular Biology**, 30: 589-593, 2007.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; LACANALLO, G.F.; VIDIGAL FILHO, P.S. A new gene conferring resistance to anthracnose in Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar 'Jalo Vermelho'. **Plant Breeding**, 127: 592-596, 2008a.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; PERIOTO, P.S.; VIDIGAL FILHO, P.S.; SILVA, C.R.; KVITSCHAL, M.V.; SOUZA, L.L. Inheritance and allelic relationship of anthracnose resistance in common bean México 222. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 51: 96-97, 2008b.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; MEDEIROS, A.F.; PASTOR-CORRALES, M.A. Common Bean Landrace Jalo Listras Pretas Is the Source of a New Andean Anthracnose Resistance Gene. **Crop Science**, 49: 133-138, 2009.

GONÇALVES, A.M.O.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; POLETINE, J.P.; LACANALLO, G.F.; COIMBRA, G.K. Characterization of the anthracnose resistance gene in andean common bean Corinthiano cultivar. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, 53: 220-221, 2010.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; CRUZ, A.S.; GARCIA, A.; KAMI, J.; VIDIGAL FILHO, P.S.; SOUSA, L.L.; McCLEAN, P.; GEPTS, P.; PASTOR-CORRALES, M.A. Linkage mapping of the *Phg-1* and *Co-1⁴* genes for resistance to angular leaf spot and anthracnose in the common bean cultivar AND 277. **Theoretical Applied Genetics**, 122: 893-903, 2011.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; MEIRELLES, A.C.; POLETINE, J.P.; SOUSA, L.L.; CRUZ, A.S.; NUNES, M.P.; LACANALLO, G.F.; VIDIGAL FILHO, P.S. Genetic analysis of anthracnose resistance in 'Pitanga' dry bean cultivar. **Plant Breeding** 131: 423-429, 2012.

HALEY, S.D.; MIKLAS, P.N.; AFANADOR, L.; KELLY, J.D. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) marker variability between and within gene pools of common bean. **Journal of American Society for Horticultural Science**, 119: 122-125, 1994.

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

KELLY, J.D.; GEPTS, P.; MIKLAS, P.N.; COYNE, D.P. Tagging and mapping of genes and QTL and molecular marker-assisted selection for traits of economic importance in bean and cowpea. **Field Crops Research**, 82: 135-154, 2003.

LANDER, E.S.; GREEN, P.; ABRAHAMSON, J.; BARLOW, A.; DALY, M.J.; LINCON, S.E.; NEWBURGH, L. MAPMAKER: an interactive computing package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural population. **Genomics**, 1: 174-181, 1987.

MAHUKU, G.S.; JARA, C.; CAJIAO, C.; BEEBE, S. Sources of resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in the secondary gene pool of *Phaseolus vulgaris* and in crosses of primary and secondary gene pools. **Plant Disease**, 86: 1383-1387, 2002.

- MASTENBROEK, C. A breeding programme for resistance to anthracnose in dry shell haricot beans, based on a new gene. **Euphytica**, 9: 177-184, 1960.
- MATHUR, R.S.; BARNETT, H.L.; LILLY, V.G. Sporulation of *Colletotrichum lindemuthianum* in culture. **Phytopathology**, 40: 104-114, 1950.
- McROSTIE. G.P. Inheritance of anthracnose resistance as indicated by a cross between a resistant and a susceptible bean. **Phytopathology**, 9: 141-148, 1919.
- MELOTTO, M.; KELLY, J.D. An allelic series at the *Co-1* locus for anthracnose in common bean of Andean origin. **Euphytica**, 116: 143-149, 2000.
- MÉNDEZ-VIGO B.; RODRÍGUEZ-SUÁREZ, C.; PAÑEDA, A.; FERREIRA J.J.; GIRALDEZ, R. Molecular markers and allelic relationships of anthracnose resistance gene cluster B4 in common bean. **Euphytica**, 141: 237-245, 2005.
- PASTOR-CORRALES, M.A. Estandarización de cultivares diferenciales y de designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, 81: 694, 1991.
- REY, M.S.; BALARDIN, R.S.; PIERBOM, C.R. Reação de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) a patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Revista Brasileira de Agrociência**, 11: 113-116, 2005.
- RODRÍGUEZ-SUÁREZ C.; FERREIRA, J.J.; CAMPA, A.; PAÑEDA, A.; GIRALDEZ, R. Molecular mapping and intra-cluster recombination between anthracnose race-specific resistance genes in the common bean differential cultivars Mexico 222 and Widusa. **Theoretical and Applied Genetics**, 116: 807-814, 2008.
- SINGH, S.P.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D.G., Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**, 45: 379-396, 1991.
- SOUSA LL, GONÇALVES-VIDIGAL MC, GONÇALVES AO, VIDIGAL FILHO PS, AWALE H, KELLY JD (2013) Molecular mapping of the anthracnose resistance gene *Co-15* in the common bean cultivar, Corinthiano. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative** 56: 45-46.
- VALLEJO, V.; KELLY, J.D. Development of a SCAR marker linked to the *Co-5* locus in common bean. **Annual Repeport Bean Improvement Cooperative**, 44: 121-122, 2001.

- VALLEJO, V. A.; KELLY, J.D. **The use of AFLP analysis to tag the *Co-1²* gene conditioning resistance to bean anthracnose.** Disponível em: http://www.intl-pag.org//10/abstracts/PAGX_P233.html Plant and Animal Genome X conference 2002.
- YOUNG, R.A.; KELLY, J.D. Characterization of genetic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean differential cultivars. **Plant Disease**, 80: 650-654, 1996a.
- YOUNG, R.A.; KELLY, J.D. RAPD markers flanking the *Are* gene for anthracnose resistance in common bean. **J Journal of American Society for Horticultural Science**, 121: 37-41, 1996b.
- YOUNG, R.A.; KELLY, J.D. Tests of allelism for the anthracnose resistance *Co-1* gene. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 40: 128-129, 1997.
- YOUNG, R. A.; MELLOTO, M.; NODARI, R.O.; KELLY, J.D. Marker-assisted dissection of the oligogenic anthracnose resistance in the common bean cultivar, G 2333. **Theoretical and Applied Genetics**, 96: 87-94, 1998.
- ZAUMEYER, W.J.; THOMAS, H.R. **A monographic study of bean diseases and methods for their control.** Washington, USDA, Technical Bulletin, 868: 5-15, 1957.