

LUANA MIEKO DARBEN

**Identificação de genótipos de feijoeiro comum resistentes à  
antracnose por meio de avaliação das reações de  
incompatibilidade e marcadores moleculares SCAR**

MARINGÁ  
PARANÁ – BRASIL  
FEVEREIRO – 2010

LUANA MIEKO DARBEN

**Identificação de genótipos de feijoeiro comum resistentes à  
antracnose por meio de avaliação das reações de  
incompatibilidade e marcadores moleculares SCAR**

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

MARINGÁ  
PARANÁ – BRASIL  
FEVEREIRO – 2010

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

D213i Darben, Luana Mieko, 1983-  
Identificação de genótipos de feijoeiro comum resistentes à antracnose por meio de avaliação das reações de incompatibilidade e marcadores moleculares SCAR / Luana Mieko Darben. -- Maringá, 2010.  
65 f. : il., tabs.

Orientador : Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Gonela.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, área de concentração: Genética e Melhoramento, 2010.

1. Feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*)- Fungos (*Colletotrichum lindemuthianum*). 2. Feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) - Identificação de genótipos - Antracnose. 3. Feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) - Marcadores moleculares - Scar. I. Gonela, Adriana, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. Área de concentração: Genética e Melhoramento. III. Título.

CDD 21.ed. 633.372

Aos meus pais, Luiz e Eurides, por todo amor e compreensão,  
Aos meus irmãos Lígia e Júnior, eternos companheiros.

***Dedico com muito amor.***

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que proporcionou à minha vida, pela força e proteção que me permitiram alcançar os objetivos mais difíceis.

À Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade concedida à realização deste curso.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À professora doutora Adriana Gonela, pela orientação, ensinamentos, disponibilidade, dedicação, compreensão e pela confiança em mim depositada.

À professora doutora Maria Celeste Gonçalves-Vidigal pela co-orientação, ensinamentos importantes durante a realização deste trabalho e concessão do uso do Laboratório de Biologia Molecular do Núcleo de Pesquisas Aplicada à Agricultura (NUPAGRI).

Ao professor doutor Pedro Soares Vidigal Filho, pela co-orientação e ensinamentos durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais, que acreditaram no meu sonho. O Mestrado não teria nenhum valor para mim se eu não pudesse sentir a satisfação de meus pais queridos com essa conquista.

Aos meus irmãos, Lígia Roberta Emiko Darben e Luiz Roberto Darben Júnior, pelo apoio mesmo quando distantes.

Aos meus familiares, em especial à Irma Darben e sua filha Débora, pelo carinho, força e estímulo.

Ao meu namorado, Gustavo Favaretto Martinez, pelo amor, carinho e compreensão e a toda sua família pelo incentivo.

Às amigas Giselly Figueiredo Lacanallo e Aline Maria Orbolato Gonçalves, pela amizade, companheirismo e constante ajuda durante toda a realização deste trabalho.

Aos queridos amigos, Gabriela Silva Moura, Manuel Pedro Maleia e Ravelly Casarotti, pela parceira nos momentos de diversão, pela amizade e motivação.

Aos colegas do Nupagri, em especial à funcionária Kaciele Cristina da Costa Eing, pela amizade e suporte técnico oferecido durante a realização deste trabalho.

Aos funcionários, Edmilson Galacini, Rogério Gomes de Almeida e Engraci Pereira, pela ajuda e amizade demonstrados durante o período de execução do projeto.

A todos os colegas do Curso de Pós-Graduação, pela agradável convivência, pelos bons momentos que passamos juntos e pela força que me deram direta e indiretamente para a realização e finalização deste curso.

A todos os professores pelo carinho, atenção e ensinamentos compartilhados.

Aos funcionários Francisco José da Cruz e Maria Valquíria Magro, pelos favores prestados, pela atenção e carinho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

*Muito obrigada!*

## **BIOGRAFIA**

LUANA MIEKO DARBEN, filha de Luiz Roberto Darben e Eurides Miyoko Baba, nasceu em 05 de outubro de 1983, na cidade de Presidente Prudente, estado de São Paulo.

Cursou o Ensino Fundamental, no Centro Educacional SESI-284, no período compreendido entre 1991 a 1998. O Ensino Médio iniciou no ano de 1999, concluindo-o em 2001, no Colégio Anglo Prudentino, ambos em Presidente Prudente, São Paulo.

Em junho de 2007, diplomou-se em Ciências Biológicas pela Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo.

Em março de 2008, iniciou o curso de Mestrado em Genética e Melhoramento, pela Universidade Estadual de Maringá, estado do Paraná.

Em outubro de 2009 conclui o curso de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agroindústria, nível especialização, pela Universidade Estadual de Maringá, Paraná.

## ÍNDICE

<b>RESUMO.....</b>	<b>VIII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>X</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
2.1. Panorama mundial e nacional do feijão .....	4
2.2. A antracnose do feijoeiro comum.....	5
2.3. Variabilidade patogênica e sistema de identificação de raças de <i>C. lindemuthianum</i> .....	8
2.4. Fontes de resistência .....	16
2.5. Utilização de marcadores moleculares na identificação de genes de resistência a antracnose .....	19
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
3.1. Material Vegetal .....	25
3.2. Obtenção das amostras para extração do DNA.....	27
3.3. Preparo do inóculo .....	28
3.4. Inoculação e Incubação .....	28
3.5. Avaliação dos Sintomas.....	28
3.6. Extração do DNA genômico.....	29
3.7. Reações de amplificação com marcadores moleculares SCARs .....	31
3.8. Análises fenotípicas e genotípicas .....	32
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>33</b>
4.1. Reação de incompatibilidade dos genótipos de feijoeiro comum às raças 73 e 2047 de <i>C. lindemuthianum</i> .....	33
4.2. Análise dos genótipos de feijoeiro comum com os marcadores moleculares SCAR.....	36
4.3. Análise conjunta entre a reação de incompatibilidade com as raças 73 e 2047 e os marcadores moleculares SCAR .....	40
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>43</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>44</b>



## RESUMO

DARBEN, Luana Mieko, M.Sc. Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2010. **Identificação de genótipos de feijoeiro comum resistentes à antracnose por meio de avaliação das reações de incompatibilidade e marcadores moleculares SCAR.** Professora Orientadora: Adriana Gonela. Professores Conselheiros: Maria Celeste Gonçalves-Vidigal, Pedro Soares Vidigal Filho.

O feijoeiro comum é uma das leguminosas mais cultivadas no mundo, destacando-se como a principal fonte de proteínas e calorias para populações, principalmente rurais, da África e das Américas. Por ser uma espécie cultivada durante todo o ano, esta cultura está vulnerável ao ataque de fungos patogênicos, destacando-se entre eles o *C. lindemuthianum*, agente causal da antracnose, uma das doenças mais importantes do feijoeiro comum, responsável por perdas nas lavouras de até 100%, sob condições ideais de temperatura e umidade. O *C. lindemuthianum* é um patógeno que apresenta ampla variabilidade genética, proporcionando quebras constantes na resistência de cultivares comerciais, sendo necessário aos pesquisadores uma busca contínua por novas fontes de resistência. No Estado do Paraná, já foram identificadas mais de 56 raças do patógeno, sendo a raça 73 uma das mais freqüentes. O presente trabalho teve como objetivo identificar genótipos de feijoeiro comum resistentes à antracnose, por meio de avaliações das reações de incompatibilidade às raças 73 e 2047 de *C. lindemuthianum* associadas à utilização dos marcadores moleculares SCAR SF10<sub>1072</sub> e SAS13<sub>950</sub> ligados, respectivamente, ao gene *Co-10* e ao alelo *Co-4*<sup>2</sup>. Para tanto, 75 genótipos de feijoeiro comum pertencentes ao Banco de Germoplasma de Feijoeiro do Nupagri, UEM, foram submetidos às avaliações. Com base nos resultados, foi possível identificar 30 genótipos resistentes à raça 73, 36 à raça 2047 e 14 que apresentaram resistência a ambas as raças. As análises com os marcadores SCAR SF10<sub>1072</sub> e SAS13<sub>950</sub> identificaram 28 e 45 genótipos, respectivamente, com a presença dos marcadores. Na análise conjunta pode-se verificar que os mesmos marcadores foram eficientes em identificar 13 e 21 genótipos resistentes às raças 73 e 2047, indicando a possível presença do gene *Co-10* e do alelo *Co-4*<sup>2</sup> que conferem resistência, respectivamente às duas raças. Na

análise conjunta, também foi possível verificar a existência de genótipos resistentes sem presença do marcador ligado ao gene, o que provavelmente indica a presença de outro gene, conferindo resistência a essas raças que não o *Co-10* e nem o *Co-4*<sup>2</sup>, sendo necessária a caracterização genética desses genótipos para que os mesmos possam ser disponibilizados para os programas de melhoramento. Por outro lado, a identificação dos acessos resistentes ao *C. lindemuthianum* pelos marcadores aponta novas perspectivas para a utilização dos marcadores moleculares na seleção assistida, tornando mais ágil e eficiente o processo de seleção nos programas de melhoramento.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*, *Colletotrichum lindemuthianum*, germoplasma, SF10<sub>1072</sub>, SAS13<sub>950</sub>.

## ABSTRACT

DARBEN, Luana Mieko, M.Sc. Universidade Estadual de Maringá, February, 2010. **Identification of common bean genotypes resistant to anthracnose by means of valuation of incompatibility reactions and molecular markers SCAR.** Adviser: Dr. Adriana Gonela. Committee members: Dr. Maria Celeste Gonçalves-Vidigal, Dr. Pedro Soares Vidigal Filho.

Common bean is one of the most cultivated legumes in the world, standing out as the main source of protein and calories, especially for rural people in Africa and Latin America. As a species grown throughout the year, is constantly vulnerable to attack by pathogenic fungi, among them, the *C. lindemuthianum*, causal agent of anthracnose, one of the most important common bean diseases, responsible for crop losses up to 100% under ideal conditions of temperature and humidity. *C. lindemuthianum* is a pathogen that presents a wide genetic variability, providing constant breaks in the resistance of commercial cultivars, requiring researchers to continuous searches for new sources of resistance. In Paraná State, more than 56 races of the pathogen have been identified, and race 73 is one of the most frequent. The objective of the present study was to identify common bean plants resistant to anthracnose through assessment of incompatibility reactions to races 73 and 2047 of *C. lindemuthianum* associated with the use of molecular markers SCAR SF10<sub>1072</sub> and SAS13<sub>950</sub> linked respectively to the *Co-10* gene and allele *Co-4<sup>2</sup>*. For this, 75 common bean accessions belonging to the Bean Germplasm Bank of Nupagri/UEM were assessed. Based on the results it was possible to identify 30 genotypes resistant to race 73, 36 to race 2047 and 14 genotypes that were resistant to both races. The analysis with SCARs SF10<sub>1072</sub> and SAS13<sub>950</sub> identified 28 and 45 genotypes, respectively, with the presence of the markers. In the joint analysis can be seen that the same markers were efficient, identifying 13 and 21 genotypes resistant to races 73 and 2047, indicating the possible presence of the *Co-10* and *Co-4<sup>2</sup>* allele, which confers resistance to two races respectively. It was also possible to verify the existence of resistant genotypes without the presence of the marker linked to the gene, which probably indicates the presence of another gene conferring resistance to these races, different to the *Co-10* and *Co-4<sup>2</sup>*, requiring the genetic characterization of

these accessions, so that they can be made available for breeding programs. Furthermore, the identification of accessions resistant to *C. lindemuthianum* by the markers present new perspectives for the use of molecular markers assisted selection, making it more agile and effective selection process in breeding programs.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, *Colletotrichum lindemuthianum*, germplasm, SF10<sub>1072</sub>, SAS13<sub>950</sub>.

## 1. INTRODUÇÃO

A antracnose é uma das doenças de maior importância que acomete a cultura do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) nas principais regiões produtoras do mundo, podendo causar perdas de até cem por cento na produção, quando se utilizam cultivares suscetíveis, sementes contaminadas e as condições climáticas forem favoráveis ao desenvolvimento do patógeno (Carbonell et al., 1999; Mendéz-Vigo, 2005). No Brasil, a antracnose ocorre nos principais Estados produtores, tais como Bahia, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Santa Catarina e São Paulo (Rava et al., 1994).

O *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Scrib., agente etiológico da antracnose do feijoeiro comum, é um fungo imperfeito, cosmopolita, com ocorrência mais severa em locais onde predominam temperaturas baixas, com um ótimo de 17°C, e elevada umidade relativa (Walker, 1952; Vieira, 1967). O patógeno caracteriza-se por apresentar ampla variabilidade patogênica, com aproximadamente 120 raças identificadas no mundo (Balardin et al., 1997; González et al., 1998; Mahuku e Riascos, 2004; Damasceno e Silva et al., 2007; Sansigolo et al., 2008). No Brasil já foram identificadas mais de 56 raças de *C. lindemuthianum* (Rava et al., 1994; Balardin et al., 1997; Andrade et al., 1999; Carbonell et al., 1999; Somavilla e Preste, 1999; Sartorato, 2002; Thomazella et al., 2002; Alzate-Marin e Sartorato, 2004; Gonçalves-Vidigal et al., 2004; Silva, 2004; Ishikawa et al., 2005; Damasceno e Silva et al., 2007; Gonçalves-Vidigal et al., 2008a; Sansigolo et al., 2008), com os patótipos 64, 65, 73, 81, 87 e 89 apresentando-se como os mais freqüentes, sendo encontrados principalmente nos Estados do Paraná, Santa Catarina, Goiás e no Distrito Federal.

A ampla variabilidade apresentada pelo *C. lindemuthianum*, a qual é atribuída a diferentes mecanismos, tais como a mutação, a recombinação sexual, a heterocariose e a parassexualidade (Azevedo, 1976; Rava et al., 1994; Rodríguez-Guerra et al., 2004) é responsável por contínuas quebras de resistência nas cultivares comerciais, pois muitas delas apresentam apenas um gene que confere resistência a algumas raças do patógeno, sendo facilmente superada quando do surgimento de novas raças (Menezes e Dianese, 1988; Pastor-Corrales et al., 1993; Balardin et al., 1999; Melotto e Kelly, 2000).

Diversas estratégias podem ser utilizadas com a finalidade de combater a antracnose, porém o emprego de cultivares resistentes é considerada a medida mais eficiente e menos onerosa (Zaumeier e Thomas, 1957; Mahuku et al., 2002). Para tanto, os programas de melhoramento genético do feijoeiro comum tanto do Brasil quanto do exterior, por meio de seus pesquisadores, têm constantemente procurado identificar novas fontes de resistência ao referido patógeno.

Até o presente momento foram descritos na literatura 13 genes que conferem resistência à antracnose e a suas respectivas sérias alélicas (Mc Rostie, 1919; Mastenbroek, 1960; Bannerot, 1965; Fouilloux, 1976; Gonçalves-Vidigal, 1994; Kelly e Young, 1996; Young et al., 1998; Geffroy et al., 1999; Melotto e Kelly, 2000; Alzate-Marin et al., 2001a; 2003a, 2003b; Kelly e Vallejo, 2004; Gonçalves-Vidigal e Kelly, 2006; Gonçalves-Vidigal et al., 2007, 2008b, 2009a, 2009b). Dentre esses genes, o *Co-10* apresenta um amplo espectro de resistência, sendo incompatível com 17 raças de *C. lindemuthianum* de comum ocorrência no Brasil destacando-se entre elas a raça 73 (Alzate-Marin et al., 2003a). Por outro lado, o alelo *Co-4<sup>2</sup>* é considerado um dos mais efetivos no combate à antracnose, conferindo resistência a pelo menos 80 raças de *C. lindemuthianum* destacando-se dentre elas a raça 2047 (Young et al., 1998).

Além da identificação dos genes por meio de métodos convencionais, uma ferramenta que tem se destacado na identificação dos mesmos são os marcadores moleculares, pois a utilização destes, ligados a genes que conferem resistência à antracnose nos processos iniciais dos programas de melhoramento, reduz tempo e gastos envolvidos durante todo o processo (Caixeta et al., 2006). Isso ocorre porque os marcadores de DNA estão proximamente ligados aos genes, não são influenciados pelo ambiente e apresentam efeitos epistático ou pleiotrópico mínimos ou nulo (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Dentre os marcadores moleculares disponíveis, os denominados SCAR (Região Amplificada de Seqüência Caracterizada) tem se destacado nas análises de feijoeiro comum, sendo identificados, até o momento, 14 marcadores SCAR ligados a genes que conferem resistência à antracnose, ou seja, *SE<sub>ACT</sub>/M<sub>CCA</sub>* (Vallejo e Kelly, 2008), *SCA<sub>reoli1000</sub>* (Adam-Blondon et al., 1994; Geffroy et al., 1998), *SQ4<sub>1440</sub>* (Awale et al., 2008 Young e Kelly, 1996), *SW12<sub>700</sub>* (Miklas et al., 2000; Singh et al., 2000; Rodríguez-Suárez et al., 2008), *SY20<sub>830</sub>* (Arruda et al.,

2000; Kelly et al., 2003; Queiroz et al., 2004b), SC08<sub>910</sub> (Arruda et al., 2000; Kelly et al., 2003; Queiroz et al., 2004), SAS13<sub>950</sub> (Young et al., 1998; Kelly et al., 2003), SH18<sub>1100</sub> (Alzate-Marin et al., 2001c; Awale e Kelly, 2001; Kelly et al., 2003), SBB14<sub>1150/1050</sub> (Awale e Kelly, 2001; Kelly et al., 2003), SAB3<sub>400</sub> (Vallejo e Kelly, 2001), SAZ20<sub>845</sub> (Alzate-Marin et al., 2000; Kelly et al., 2003; Queiroz et al., 2004), SZ04<sub>567</sub> (Kelly et al., 2003; Queiroz et al., 2004), SB12<sub>350</sub> (Mendez-Vigo et al., 2002) e SF10<sub>1072</sub> (Correa et al., 2000; Faleiro et al., 2000; Alzate-Marin et al., 2003a) os quais tem otimizado os programas de melhoramento que visam a obtenção de fontes de resistência à antracnose.

O presente trabalho teve como objetivo identificar genótipos de feijoeiro comum resistentes à antracnose por meio de avaliação das reações de incompatibilidade às raças 73 e 2047 de *C. lindemuthianum*, associado à utilização dos marcadores moleculares SCAR SF10<sub>1072</sub> e SAS13<sub>950</sub> ligados, respectivamente, ao gene *Co-10* e ao alelo *Co-4*<sup>2</sup>.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Panorama mundial e nacional do feijão

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma espécie utilizada largamente na alimentação de populações tanto rural quanto urbana, que habitam a América Latina e África, constituindo-se em uma das principais fontes de proteínas para essas populações (FAO, 2009).

Mundialmente, o feijoeiro comum é a leguminosa mais difundida, apresentando uma produção na safra de 2008 de aproximadamente 20,4 milhões de toneladas e resultando em uma produtividade média de 728.6 kg ha<sup>-1</sup> (FAO, 2009), sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial dessa cultura contribuindo com 17%. A Índia destaca-se como o maior produtor, com 3,9 milhões de toneladas na safra de 2008, ou seja, 19% da produção mundial. Brasil e Índia, juntamente com Myanmar, EUA, México e China, são responsáveis por 65% da produção mundial de feijão (FAO, 2009).

Na safra 2008/2009, a produção nacional de feijão alcançou a cifra de 3,491 mil toneladas. A região Sul destacou-se como a maior produtora, com 1,027 mil toneladas, cultivados em 876,5 mil hectares. O Estado do Paraná destacou-se como o maior produtor nacional, atingindo uma produção de 723,2 mil toneladas em uma área plantada de 630,4 mil hectares, resultando em uma produtividade de 1.147 kg ha<sup>-1</sup>. Em segundo lugar está a região Sudeste, com 948,1 mil toneladas, e a região Nordeste destacou-se como a terceira maior produtora contribuindo 901,3 mil toneladas (Conab, 2010).

Embora o Brasil se destaque como um dos maiores produtores mundiais de feijão, sua produção não é suficiente para atender a demanda interna, que é de aproximadamente 16 kg.habitante.ano<sup>-1</sup> (Santos e Nachiluk, 2008), sendo necessário, para suprir essa demanda, que sejam realizadas importações como, por exemplo, na safra de 2008/2009 na qual o Brasil importou cerca de 100 mil toneladas de feijão (Conab, 2010).

Diversos fatores contribuem para a baixa produtividade do feijoeiro, dentre eles destaca-se a ocorrência de doenças, das quais a antracnose é a mais importante (Chaves, 1980).



## 2.2. A antracnose do feijoeiro comum

A antracnose do feijoeiro comum é uma das mais severas doenças que atacam a cultura (Augustin e Costa, 1971) ocasionando perdas de até 100% na produção quando os fatores cultivar suscetível, ambiente favorável ao patógeno e sementes infectadas estiverem simultaneamente presentes durante o período de cultivo (Zaumeyer e Thomas, 1957; Rava et al., 1994; González et al., 1998). Trata-se de uma doença de caráter cosmopolita, com ocorrência mais severa em locais onde predominam temperaturas ideais entre 17 e 24°C e elevada umidade (Walker, 1952; Vieira, 1967; Chaves, 1980). Deve-se ressaltar que temperaturas inferiores a 13°C e superiores a 30°C limitam tanto a infecção quanto o desenvolvimento do patógeno (Zaumeyer e Thomas, 1957; Pastor-Corrales e Tu, 1989).

O agente causal da antracnose foi descrito inicialmente por Saccardo e Magnus, em 1878, como *Gloeosporium lindemuthianum*, baseado em coletas realizadas por Lindemuth em Bonn, na Alemanha (Zaumeyer e Thomas, 1957). Posteriormente, Scribner, notando a presença de setas, transferiu-o para o gênero *Colletotrichum* o qual foi classificado como pertencente à classe dos Deuteromicetos (fungos imperfeitos), ordem Melanconiales, família Melanconiaceae (Briosi e Cavi, 1889 citado por Sutton, 1992). Este patógeno apresenta duas fases reprodutivas, uma sexuada ou perfeita e outra assexuada ou imperfeita, o que, segundo McDonald e Linde (2002), é uma vantagem sobre os patógenos que apresentam somente o ciclo sexual ou assexual, pois durante o ciclo sexual muitas combinações novas de alelos são produzidas e as mutações podem ser recombinadas em muitos arranjos genéticos diversificados.

Na fase sexuada, o fungo é denominado *Glomerella cingulata* f. (Stonem Spauld & V. Schrenk) sp. *Phaseoli*, sendo classificado na classe dos Ascomicetos e ordem Diaportales. Nesta fase, o fungo produz peritécio e ascos, dentro dos quais originam-se os esporos, denominados de ascósporos (Kimati, 1980; Bailey e Jeger, 1992; Roca et al., 2003). Esta fase é muito difícil de ser observada na natureza, sendo encontrada comumente sob condições de laboratório por indução ou por desenvolvimento espontâneo (Kimati e Galli, 1970; Camargo Junior, 2004; Mendes-Costa e Souza, 2005). Entretanto, em 2007, foi realizado por Damasceno

e Silva e colaboradores o primeiro relato sobre a observação da fase sexual na natureza, no Estado de Minas Gerais.

Na fase assexuada, ou imperfeita, o fungo é denominado de *C. lindemuthianum*, apresentando micélio septado, ramificado e coloração, à medida que envelhece, variando de hialina a quase negra (Walker et al., 1969). Os conídios, localizados em um corpo de frutificação denominado acérvulo (Taber e Taber, 1974; Sutton, 1992) são hialinos, unicelulares, de alongados a cilíndricos, eretos, sem ramificação e medindo de 40 a 60µm de comprimento, apresentando as extremidades arredondadas ou uma delas pontiagudas.

A esporulação é abundante, quando em condições favoráveis à ocorrência da doença, formando uma massa de conídios de coloração rosada (Chaves, 1980). Por ocasião da germinação, um conídio pode emitir um ou mais tubos germinativos ou continuar crescendo, proporcionando a formação de hifas e micélio (Roca, 2002). As setas podem, às vezes, serem encontradas mergulhadas nos tecidos do hospedeiro e quase sempre estão presentes quando o patógeno é cultivado em meio de cultura. Estas setas, que são produzidas entre os conidióforos ou nas margens dos acérvulos, são pontiagudas, rígidas, de cor castanha e seu comprimento varia de 30 a 100µm (Chaves, 1980).

O *C. lindemuthianum* é um patógeno necrotrófico, o qual sobrevive entre as estações de cultivo do feijão na forma de micélio dormente no interior das sementes, ou na forma de esporos em restos culturais. Sementes contaminadas e chuvas moderadas, acompanhadas por ventos são fatores que contribuem para a disseminação do patógeno a longa distância e nas gerações seguintes (Vieira, 1988). Na disseminação a curta distância, destaca-se o salpico de chuvas sobre os resíduos de colheita, insetos, animais, homem e implementos agrícolas (Kimati, 1980).

Os sintomas da antracnose são de fácil identificação e podem ser observados em todos os estágios de desenvolvimento nas folhas, nos caules, nos ramos, nas vagens e nas sementes (Vieira, 1988).

Nas folhas, os sintomas são primeiramente visualizados na face abaxial, surgindo especificamente nas nervuras primárias e secundárias, caracterizados por lesões necróticas de coloração marrom-escuras. Posteriormente, estas manchas dão origem a regiões cloróticas, que culminam com o ressecamento da

folha, diminuindo a área foliar da planta responsável pela elaboração da fotossíntese (Kimati, 1980).

As lesões produzidas no caule e nos pecíolos são alongadas, escuras e às vezes deprimidas, podendo apresentar cancrios e estrangulamento da planta no decorrer do desenvolvimento da lesão (Chaves, 1980).

Nas vagens, os sintomas da antracnose são de fácil identificação. As lesões são arredondadas, escuras, deprimidas, de tamanho variável e com o centro claro sendo delimitadas por um anel negro, um pouco saliente, circundada por um bordo de cor café avermelhado (Chaves, 1980; Kimati, 1980). Quando em condições de alta umidade ocorre formação de massas róseas de esporos na superfície da lesão (Zaumeyer e Thomas, 1957) e, com o progresso da doença, geralmente as vagens murcham e secam (CIAT, 1981; Vieira et al., 1998).

O patógeno também apresenta a capacidade de infectar as sementes e, ao atravessar o tegumento, produz desde descolorações leves até lesões nos tecidos dos cotilédones, depreciando a qualidade do produto por ocasionar manchas no grão, tornando-o impróprio para o consumo, além do inconveniente do patógeno ser transmitido pela semente.

As sementes infectadas apresentam cancrios cuja coloração varia de amarela, café-escura a negra. Os cancrios são ligeiramente deprimidos e de tamanho variado (Zaumeyer e Thomas, 1957; Chaves, 1980; Mohan et al., 1989). Quando as sementes apresentarem tegumento negro, a visualização dos sintomas é dificultada.

A antracnose apresenta difícil controle, principalmente pelo fato do patógeno possuir eficiente transmissão por meio de sementes e grande capacidade de sobrevivência em restos culturais infectados (Sutton, 1992). Diversas estratégias são utilizadas para o controle da doença. Pio-Ribeiro e Chaves (1975) sugeriram o uso de cultivares resistentes e o plantio de sementes sadias como métodos de controle mais eficientes, pois estes praticamente não oneram o custo de produção, além de contribuírem para evitar o controle químico.

Entretanto, a alta variabilidade que o patógeno apresenta, resulta em um elevado número de raças nas regiões produtoras dessa cultura (Carbonell et al., 1999; Rava et al., 1994; Talamini et al., 2004). Além disso, o surgimento de novas raças justifica a importância de identificá-las para permitir o direcionamento dos

programas de melhoramento (Somavilla e Prestes, 1998; Bigirimana e Höfte, 2001).

### **2.3. Variabilidade patogênica e sistema de identificação de raças de *C. lindemuthianum***

O fungo *C. lindemuthianum* apresenta ampla variabilidade patogênica, o que justifica o elevado número de raças fisiológicas existentes. Azevedo (1976) ressalta que a mutação não é a única responsável pela variabilidade patogênica; a heterocariose, a recombinação sexual, a recombinação assexual ou parassexualidade e determinantes citoplasmáticos também são fontes para a diversidade genética existente entre os fungos. Sendo assim, o estudo de qualquer um destes processos já contribuiria para o melhor conhecimento do comportamento genético do fungo (Magallanes, 1997).

O primeiro relato da existência de variabilidade em *C. lindemuthianum* foi realizado por Barrus (1911, 1918) o qual identificou as raças denominadas Alfa e Beta. Diversos trabalhos realizados posteriormente identificaram várias raças em todo o mundo, confirmando a ampla variabilidade do patógeno (Burkholder, 1923; Andrus e Wade, 1942; Yerkes Jr. E Ortiz, 1956; Yerkes Jr., 1958; Goth e Zaumeyer, 1965; Cruickshank, 1966; Oliari et al., 1973; Schnock et al., 1975; Fouilloux, 1975; Pio Ribeiro e Chaves, 1975; Hubbeling, 1976; Krüger et al., 1977; Fouilloux, 1979; Menezes et al., 1982; Tu, 1984; Paradela Filho et al., 1991; Tu, 1994).

Por não haver consenso quanto à nomenclatura das raças, o que dificultava a comparação dos resultados, a troca de informação entre os pesquisadores e a possibilidade de verificar a real dinâmica populacional do patógeno, sentiu-se a necessidade de utilizar uma metodologia padrão para a identificação e denominação das raças.

Diante desse fato, Pastor-Corrales (1991) propôs a utilização de um grupo de cultivares em uma ordem pré-estabelecida, no qual são utilizadas 12 cultivares diferenciadoras ( $d_n$ ) internacionalmente aceitas para classificar e confirmar as raças do patógeno baseado no sistema binário proposto por Habgood (1970), as quais são identificadas com os números de 1 a 12 (Quadro 1).

Quadro 1 – 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. Kabbon	$2^5$	32
7. México 222	$2^6$	64
8. PI 207.262	$2^7$	128
9. TO	$2^8$	256
10. TU	$2^9$	512
11. AB 136	$2^{10}$	1024
12. G 2333	$2^{11}$	2048

A designação 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. 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 2 – Equivalência entre o sistema de denominação clássica de raças e o sistema de classificação binário (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
	epsilon – México 222 ( S )	65
	epsilon – Kaboon ( S ); México 222 ( S )	97
	eta	81
Gama	gama	102
Delta	delta	23

Quadro 2, Cont.

	delta – Widusa ( R )	7
	lambda	55
	lambda – México 222 ( S )	119
	capa – Widusa ( R ) ; México 222 ( S )	79
	capa – México 222 ( S )	95
	mu	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

Estudos desenvolvidos por Rava et al. (1994) mostraram a equivalência entre o sistema de denominação clássico das raças e do sistema de classificação binário. A adoção deste processo de padronização permitiu a comparação dos dados de diferentes grupos de pesquisa (Quadro 2) (Mahuku e Riascos, 2004).

Quadro 3 – Raças de *C. lindemuthianum* descritas mundialmente nas principais regiões produtoras de feijoeiro comum

Raças	Cultivares diferenciadoras <sup>1/2/</sup>												Referência s <sup>3/</sup>
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2, 3, 5
1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1, 3
2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1, 3
3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
4	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
5	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
6	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
7	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1, 3
8	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	2, 4, 5
9	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1, 3
10	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5
11	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	3, 5
15	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	3

Quadro 3, Cont...

17	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1, 3, 5
19	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1
23	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	3
26	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	5
27	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	5
31	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	3
36	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	3
38	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	3
39	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	3
47	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	3
55	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	1
64	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	3, 4, 5
65	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1, 3, 4, 5
69	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	4
72	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	5
73	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	1, 3, 4, 5
75	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	5
81	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	1, 3, 4, 5
83	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	5
87	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	3, 4, 5
89	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	1, 3, 4, 5
91	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	5
121	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	3
128	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	3
129	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	3
132	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	3
133	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	3
137	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	3
139	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	3
192	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	3
193	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	1
201	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	1
209	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	1
256	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	1, 2, 3
257	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	1, 3
261	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	3
264	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	2
320	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	1, 2, 3
321	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	1, 5
337	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	1, 4
357	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	1
384	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	2
385	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	3
388	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	3
392	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	2

Quadro 3 - Cont...

393	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
448	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	1, 2, 3
449	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	1, 3
453	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	1, 3
457	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	1, 3
465	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	1
469	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	1
513	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	3
515	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	3
517	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	3
521	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	1, 3
523	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	3
525	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	3
529	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	3
535	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	3
593	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	3
641	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	3
647	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	3
651	+	+		+	-	-	-	+	-	+	-	-	3
653	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	3
833	+	-	-	-	-	-	+		+	+	-	-	1
905	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	3
1025	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	3
1033	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	1, 3
1049	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	3
1088	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	2, 3
1089	+	-		-	-	-	+	-	-	-	+	-	3
1093	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	3
1097	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	3
1153	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	3
1161	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	3
1165	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	1
1217	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	3
1344	-	-	-	-	-	-	+		+	-	+	-	1
1417	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	3
1431	+	+	+		+	-	-	+	+	-	+	-	1
1433	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	3
1435	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	3
1472	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	1, 2
1473	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	3
1481	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	3
1489	+	-	-		+	-	+	+	+	-	+	-	3
1497	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	3
1545	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1, 3
1549	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3



Quadro 3 - Cont...

1561	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	3
1600	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	1
1601	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	1
1609	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	3
1645	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	3
1673	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	1
1677	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	1
1741	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	1
1929	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	1, 3
1945	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	3
1985	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	3
1993	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	1, 3
2001	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	3
2009	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	3
2047	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	3
3481	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	3
3545	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	3
3977	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	3
3993	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	3

<sup>1</sup>/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.

<sup>2</sup>/ (+): suscetível e (-): resistente.

<sup>3</sup>/Referências: 1, Balardin et al. (1997); 2, González et al. (1998); 3, Mahuku e Riascos (2004); 4, Damasceno e Silva et al. (2007); 5, Sansigolo et al. (2008);

A partir do momento da adoção do sistema de padronização, vários estudos para a identificação de raças e caracterização de genes de resistência vêm sendo realizados. Até o momento, foram identificadas aproximadamente 120 raças de *C. lindemuthianum* (Quadro 3) nas diversas regiões produtoras do mundo (Balardin et al., 1997; González et al., 1998; Mahuku e Riascos, 2004; Damasceno e Silva et al., 2007; Sansigolo et al., 2008).

No Brasil foram identificadas, nas diversas regiões produtoras de feijoeiro comum, mais de 56 raças fisiológicas de *C. lindemuthianum* (Quadro 4), sendo as raças 64, 65, 73, 81, 87 e 89 as de maior frequência no país (Rava et al., 1994; Balardin, 1997; Balardin et al., 1997; Andrade et al., 1999; Sartorato, 2002; Thomazella et al., 2002; Talamini et al., 2004). Neste contexto, o Estado do Paraná apresenta a maior variabilidade de raças de *C. lindemuthianum*, no qual foram identificadas 40 raças, seguido por Goiás com 17 raças, Santa Catarina com 16 raças e Rio Grande do Sul com 14 raças (Balardin et al., 1990; Alzate-Marin e Sartorato, 2004; Sansigolo et al., 2008).

Quadro 4 – Raças de *C. lindemuthianum* descritas nas principais regiões produtoras de feijoeiro comum no Brasil

Raças	Cultivares diferenciadoras <sup>1/2/</sup>												Referências <sup>3/</sup>
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1, 2, 7
1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
5	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
7	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5, 6, 7
8	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5, 9
10	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	2
11	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	2
17	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	4
23	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	4, 5, 7
26	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2
27	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2
31	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	4, 6
55	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	4, 5
64	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	5, 7
65	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	4, 5, 6, 7, 8, 9
67	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	5
69	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	6, 7, 8
71	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	7, 8
72	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	5, 7, 8
73	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	4, 5, 6, 7, 8
75	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	5, 8
77	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	8
79	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	5
81	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	5, 6, 7, 8, 9
83	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	5, 8
85	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	8
86	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	7
87	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	5, 6, 7, 8, 9
89	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	5, 6, 7, 8
91	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	1
93	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	8
95	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	5, 6, 8
96	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	8
97	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	5, 7, 8
101	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	5, 8
102	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	5
105	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	8
109	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	7, 8
111	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	7, 8
117	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	5

Quadro 4, Cont...

119	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	5, 6
121	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	7
123	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	8
125	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	8
127	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	8
137	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	7
193	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	8
217	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	7
249	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	7
320	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	7
321	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	8
337	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	3
339	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	5
343	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	5
453	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	4, 5
585	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	5
593	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	1

<sup>1</sup>/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. <sup>2</sup>/ (+): suscetível e (-): resistente. <sup>3</sup>/Referências: 1, Damasceno e Silva et al. (2007); 2, Sansigolo et al. (2008); 3, Balardin et al. (1997); 4, Balardin (1997); 5, Rava et al. (1994); 6, Thomazella et al. (2002); 7, Andrade et al. (1999); 8, Sartorato (2002); 9, Talamini et al. (2004).

Sansigolo et al. (2008), com o objetivo de caracterizar 20 isolados de *C. lindemuthianum* coletado em oito regiões produtoras de feijoeiro comum do Estado do Paraná, identificou as raças 0, 10, 11, 17, 26, 27, 64, 72, 73, 75, 81, 83, 87 e 89. Deve-se ressaltar que foi o primeiro registro das raças 10, 11, 17, 26, 27, 75 e 83 no Paraná.

Comparando as raças brasileiras mais freqüentes com as de outros países, é possível verificar uma grande diferença entre as freqüências das raças identificadas. No Brasil, há um predomínio de raças mais simples como, por exemplo, a 65. Em países como Nicarágua, México e EUA são freqüentemente encontradas raças mais complexas, como a 264, 320, 1608 e 1545 (Thomazella et al., 2002). Este comportamento reflete provavelmente as diferenças nos germoplasmas utilizados e também nas práticas agrícolas de cada região (González et al., 1998).

Estudos realizados por Balardin e Kelly (1998), em países da América do Sul, Central e do Norte, concluíram que a raça 73 tem se caracterizado como o patótipo de *C. lindemuthianum* de mais ampla ocorrência, devendo converter-se

em referencial quanto aos genes de resistência que devem estar presentes em uma cultivar de feijoeiro recomendada para estas regiões produtoras. No Estado do Paraná, a raça 73 caracteriza-se como uma das mais freqüentes (Rava et al., 1994; Balardin et al., 1997; Andrade et al., 1999; Carbonell et al., 1999; Somavilla e Preste, 1999; Sartorato, 2002; Thomazella et al., 2002; Alzate-Marin e Sartorato, 2004; Gonçalves-Vidigal et al., 2004; Silva, 2004; Ishikawa et al., 2005; Damasceno e Silva et al., 2007; Gonçalves-Vidigal et al., 2008a; Sansigolo et al., 2008). Por outro lado, a raça 2047, uma das mais virulentas descrita até o momento, foi identificada Pastor-Corrales et al. (1994) em isolados da Costa Rica.

Portanto, 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 um sistema ideal, pois as 12 cultivares diferenciadoras dificilmente representam todos os genes do hospedeiro, dificultando a classificação precisa das raças (Alzate-Marin et al., 2001c; Damasceno e Silva et al., 2007).

#### **2.4. Fontes de resistência**

Os pesquisadores envolvidos nos programas de melhoramento genético do feijoeiro comum tanto do Brasil quanto do exterior tem constantemente realizado pesquisas na busca por novas fontes de resistência à antracnose. Isso porque a ampla variabilidade patogênica apresentada pelo *C. lindemuthianum* dificulta o controle da antracnose, principalmente quando se utiliza a resistência genética, sendo necessário que os pesquisadores atuem sempre prevendo possíveis quebras da resistência em cultivares comerciais por novas raças do patógeno. Para tanto, é necessário que exista à disposição dos pesquisadores novas fontes de resistência que serão utilizadas para a introgressão de genes de resistência em cultivares comerciais.

Os primeiros estudos realizados com o intuito de se identificar genes que conferem resistência à antracnose foram realizados por McRostie (1919), o qual foi designado gene *A* (*Co-1*). Por sua vez, o gene *Are* (*Co-2*) foi identificado na cultivar do feijão preto Cornell 49-242, por Mastenbroek, em 1960, e confere resistência às raças alfa, beta, gama e delta, grupos Brasileiro I e II e grupos

Mexicano I e II (Oliari et al., 1973; Pio Ribeiro e Chaves 1975). Na década de 1960, 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 (1988) relatou que o uso do gene *Are* (*Co-2*), em programas de melhoramento, propiciou resultados satisfatórios na obtenção de cultivares resistentes. Porém, o autor afirmou que a ampla utilização do gene *Are* (*Co-2*), conduziria a uma situação perigosa, uma vez que essa resistência é governada por somente um gene e, conseqüentemente, facilmente seria superado pelo aparecimento de alguma nova raça. Conforme o autor, esse fato levou os pesquisadores europeus a procurarem novas fontes de resistência. Isso ocorreu com o aparecimento das raças 31 e 89, as quais superaram a resistência apresentada pela cultivar Cornell 49-242 (Menezes e Dianese, 1988; Rava et al., 1994).

Bannerot (1965) identificou o gene *Mexique 1* (*Co-3*) na cultivar México 222. Em 1969, na Europa, Bannerot citado por Fouilloux (1976, 1979) verificou a presença dos genes dominantes *Mexique 2* (*Co-4*) e *Mexique 3* (*Co-5*), respectivamente, nas cultivares TO e TU e G2333, cujo espectro de resistência foi diferente do exibido pelo gene *Are* (*Co-2*). Por sua vez, Hallard e Trebuchet (1976) demonstraram a existência de uma série alélica no loco *Mexique 1* (*Co-3*) que confere resistência a todas as raças identificadas na época, com exceção da alfa-brasil. De acordo com Fouilloux (1976), *Mexique 2* (*Co-4*) confere resistência às raças alfa, beta, gama, delta, epsilon, lambda, capa e alfa-brasil. Por outro lado, o gene dominante *Mexique 3* (*Co-5*) diferente daqueles descritos anteriormente, confere resistência a diversas raças, inclusive a alfa-brasil.

Diversos estudos sobre a caracterização de genes de resistência foram conduzidos utilizando o conjunto de cultivares diferenciadoras de raças do *C. lindemuthianum*, sendo identificados tanto no conjunto gênico Andino quanto no Mesoamericano.

No Brasil, em 1981, foi iniciado um programa no Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, que teve como objetivo a obtenção de novas cultivares resistentes ao *C. lindemuthianum*, mediante cruzamentos simples e de retrocruzamentos com cultivares comerciais, utilizando TO e TU como fontes de

resistência. A base genética da resistência foi ampliada, mais tarde, utilizando-se as cultivares PI 207262 e AB 136, dentre outras (Sartorato, 1988).

Schwartz et al. (1982) identificaram fontes de resistência ao *C. lindemuthianum* e, dentre elas, destacou-se a cultivar diferenciadora Mesoamericana AB 136. Posteriormente, Gonçalves-Vidigal (1994) caracterizou o gene de resistência presente em AB 136, nomeando-o pelo símbolo Q. Com a padronização dos genes que conferem resistência ao *C. lindemuthianum*, os quais deverão conter o símbolo Co, o referido gene presente em AB 136 foi renomeado para Co-6 (Kelly e Young, 1996).

Balardin et al. (1997) identificaram sete raças de *C. lindemuthianum*, em nove regiões produtoras de feijão no Rio Grande do Sul, no período de 1988 a 1992. Os autores observaram que a resistência dos genes A (Co-1), Are (Co-2) e Mexique 1 (Co-3), presente no conjunto diferenciador, foi superada pelas raças identificadas. As cultivares TU, AB 136 e G 2333 apresentaram ampla resistência às raças do *C. lindemuthianum* identificadas, destacando-se entre elas: 5 (Brasileiro I), 65 (epsilon), 31 (capa), 453 (zeta), 17 (alfa), 23 (delta), 73 e 55 (lambda).

Tendo por base os esforços empreendidos pelos pesquisadores envolvidos nos programas de melhoramento genético do feijoeiro comum visando à identificação de genes que conferem resistência à antracnose, até o momento, já foram identificados 13 genes e suas respectivas séries alélicas, quais sejam: Co-1 (Mc Rostie, 1919); Co-1<sup>2</sup>, Co-1<sup>3</sup> (Melotto e Kelly, 2000); Co-1<sup>4</sup> (Alzate-Marin et al., 2003b); Co-1<sup>5</sup> (Gonçalves-Vidigal e Kelly, 2006); Co-2 (Mastenbroek, 1960); Co-3 (Bannerot, 1965); Co-3<sup>2</sup> (Bannerot, 1965; Fouilloux, 1976, 1979); Co-3<sup>3</sup> (Geffroy et al., 1999; Rodriguez-Suarez et al., 2004; Mendez-Vigo et al., 2005; Alzate-Marin, 2007); Co-4 (Fouilloux, 1976, 1979), Co-4<sup>2</sup> (Young et al., 1998); Co-4<sup>3</sup> (Alzate-Marin et al., 2007); Co-5 (Young e Kelly, 1996; Young et al., 1998; Alzate-Marin et al., 2007); Co-5<sup>2</sup> (Vallejo e Kelly, 2009); Co-6 (Schwartz et al., 1982; Gonçalves-Vidigal, 1994; Kelly e Young, 1996); Co-7 (Pastor-Corrales et al., 1994; Young et al., 1998); co-8 (Alzate-Marin et al., 1997); Co-10 (Alzate-Marin et al., 2003a); Co-11 (Gonçalves-Vidigal et al., 2007a), Co-12 (Gonçalves-Vidigal et al., 2008b); Co-13 (Gonçalves-Vidigal et al., 2009a) e o Co-14 (Gonçalves-Vidigal, 2009b). Destes, nove genes são de origem Mesoamericana e quatro de origem Andina.

## **2.5. Utilização de marcadores moleculares na identificação de genes de resistência a antracnose**

Mesmo com a comprovada eficiência das técnicas clássicas de melhoramento, refletida pelos contínuos ganhos genéticos em produtividade obtidos ao longo de vários anos para várias culturas (Matos et al., 2007), novas alternativas podem ser utilizadas para aumentar a eficiência dos programas de melhoramento. Dentre essas alternativas, destacam-se os marcadores moleculares, os quais têm sido utilizados, cada vez mais, na seleção assistida por marcadores aumentando a eficiência na transferência de fatores genéticos (Caixeta et al., 2006).

Os marcadores moleculares foram inicialmente utilizados no melhoramento de plantas no início da década de 1980 (Soller e Beckmann, 1983) e constituem-se basicamente em um conjunto de métodos de detecção de variações nas seqüências de DNA, sendo, portanto, formas de explorar os polimorfismos naturais existentes entre os indivíduos, tornando-os úteis nas diversas investigações em genética (Caixeta et al., 2006). Os marcadores podem ser classificados em duas categorias: hibridização ou obtidos por amplificação, dependendo de como o polimorfismo é evidenciado.

Dentre os marcadores cujo polimorfismo é revelado por hibridização, destaca-se o RFLP (Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição) (Botstein, et. al., 1980). A partir do advento da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) (Mullis e Faloona, 1987), no início da década de 1990, a facilidade e rapidez da técnica possibilitaram o surgimento de uma nova geração de marcadores moleculares, sendo os mais importantes o RAPD (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) (Williams et al., 1990), os microssatélites ou SSR (Seqüências Simples Repetidas em Tandem) (Litt e Luty, 1989) e o AFLP (Polimorfismo no Comprimento dos Fragmentos Amplificados) (Vos et al., 1995).

Na cultura do feijoeiro comum, um dos marcadores mais utilizados entre 1990 e 2006 foi o RAPD (Vilarinhos et al., 1995; Vasconcelos et al., 1996; Duarte, 1998; Cattan-Toupance et al., 1998; Franco, 1998; Machado, 1999; Arraya et al., 2000; Kalia et al., 2001; Beebe et al., 2001; Franco et al., 2001; Ceolin et al., 2006).

Os marcadores RAPD são gerados pela amplificação de segmentos dispersos no genoma com o uso de *primers* únicos mais curtos e de seqüência arbitrária. Esses primers, com tamanho de aproximadamente 10 nucleotídeos, ligam-se a seqüências complementares no genoma, permitindo que, assim, haja amplificação de segmentos compreendidos entre esses. O RAPD apresenta como vantagens, em relação a outros marcadores, a rapidez e praticidade do método, necessidade de menores quantidades de DNA e o menor custo. Uma de suas limitações é a natureza dominante do marcador (Williams et al., 1990; Ferreira e Grattapaglia, 1998). Outra limitação refere-se à sua reprodutibilidade, uma vez que várias marcas podem ser amplificadas usando-se apenas um iniciador, por causa de sua natureza aleatória.

Como alternativa, visando transpor tais limitações, os marcadores RAPD podem ser convertidos em marcadores SCAR (Região Amplificada de Seqüência Caracterizada). Neste caso, a banda de DNA correspondente ao marcador RAPD é clonada, seqüenciada e dois primers mais longos que o original são sintetizados e utilizados para amplificar o mesmo marcador, com temperatura de anelamento mais elevada tornando o processo de amplificação mais estável e reprodutível (Paran e Michelmore, 1993).

A utilização dos marcadores RAPD em programas de melhoramento genético que visam à obtenção de fontes de resistência à antracnose propiciou a identificação de 26 marcadores moleculares ligados a esses genes (Quadro 5).

Dentre os marcadores obtidos, 13 foram convertidos em marcadores SCAR (Quadro 6) e têm sido utilizados em programas de melhoramento otimizando a obtenção de cultivares comerciais resistentes à antracnose.

Um exemplo da utilização com sucesso dos marcadores SCAR foi descrito por Vallejo e Kelly (2001), os quais converteram o marcador RAPD OAB3<sub>450</sub>, identificado por Young e Kelly (1997), com o objetivo de marcar o alelo Co-5 de resistência à antracnose, em um marcador SCAR denominado SAB.

O alelo Co-4<sup>2</sup>, foi identificado com o auxílio dos marcadores RAPD, utilizando os primers OAL9 e OAS13. Os autores observaram que no cruzamento entre TO x SEL 1308 não havia ocorrido segregação, sugerindo que o alelo dominante em SEL 1308 estaria localizado no mesmo loco que o alelo Co-4 de TO. O marcador RAPD OAS13 foi convertido no marcador SCAR SAS13<sub>950</sub> por meio do par de primers SAS13.24XP e SAS13.24RP (Young et al., 1998).



Utilizando genitores portadores dos alelos de resistência à antracnose *Co-4* e *Co-5*, Parrela et al. (2008) demonstraram que com o uso do marcador SCAR SAS13 foi possível identificar a constituição genética da maioria das 35 famílias avaliadas quanto à reação a antracnose e a presença do alelo *Co-4*.

Quadro 5 - Marcadores moleculares ligados a genes presentes em feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) que conferem resistência à antracnose

Marcador	Distância (cM) e orientação*	Locus	Fonte de resistência	Referência
OF10 <sub>530</sub>	1,9 – rep.	<i>Co-1</i>	Michigan DRK	Young e Kelly (1997)
OA18 <sub>1500</sub>	1,2 – rep.	<i>Co-1</i> <sup>5</sup>	Widusa	Gonçalves-Vidigal e Kelly (2004)
OQ4 <sub>1440</sub>	5,5 – acop.	<i>Co-2</i>	Cornell 49242	Young e Kelly (1996)
OH20 <sub>450</sub>	0,5 – acop.	<i>Co-2</i>	Cornell 49242	Adam Blondon et al. (1994)
OB12 <sub>350</sub>	3,4 – acop.	<i>Co-3</i> <sup>3</sup>	BAT 93 e PI 207262	Méndez Vigo et al. (2005)
OY17 <sub>1100</sub>	1,6 – acop.	<i>Co-3</i> <sup>3</sup>	BAT 93 e PI 207262	Méndez Vigo et al. (2005)
OY20 <sub>830</sub>	sem recomb.	<i>Co-4</i>	TO	Alzate-Marin et al. (1999a)
OC8 <sub>900</sub>	9,7 – acop.	<i>Co-4</i>	TO	Alzate-Marin et al. (1999a)
OB3 <sub>1800</sub>	3,7 - rep.	<i>Co-4</i>	TO	Alzate-Marin et al. (1999a)
OI16 <sub>850</sub>	14,3 – acop.	<i>Co-4</i>	TO	Arruda et. al. (2000)
OJ11 <sub>380</sub>	18,1 – acop.	<i>Co-4</i>	TO	Arruda et. al. (2000)
OH18 <sub>830</sub>	9,2 - acop.	<i>Co-4</i> <sup>2</sup>	G 2333	Alzate-Marin et al. (1999a)
OAS13 <sub>950</sub>	sem recomb.	<i>Co-4</i> <sup>2</sup>	SEL 1308	Young et al.(1998)
OAL9 <sub>740</sub>	4,5 - acop.	<i>Co-4</i> <sup>2</sup>	G 2333	Young et al.(1998)
OL04 <sub>1000</sub>	0,0 – acop.	<i>Co-4</i> <sup>2</sup>	ESAL 696 (G2333 x ESAL 696)	Silva e Santos (2001)
OH18 <sub>1200</sub>	5,6 – acop.	<i>Co-4</i> <sup>2</sup>	G2333	Alzate-Marin et al. (2001b)
OAS13 <sub>950</sub>	3,5 – acop.	<i>Co-4</i> <sup>3</sup>	PI 207262	Silva et al. (2007); Alzate-Marin et al. (2007)
OAB3 <sub>450</sub>	5,9 - acop.	<i>Co-5</i>	TU, G 2333, SEL 1360	Young e Kelly (1997)
OAH1 <sub>780</sub>	12,3 - acop.	<i>Co-6</i>	AB 136	Young e Kelly (1997)
OAK20 <sub>890</sub>	7,3 - rep.	<i>Co-6</i>	Catrachita	Young e Kelly (1997)
OAZ20 <sub>940</sub>	7,1 - acop.	<i>Co-6</i>	AB 136	Alzate-Marin et al. (1999a)
OAZ4 <sub>560</sub>	8,5 - acop.	<i>Co-6</i>	AB 136	Alzate-Marin et al. (1999a)
OAZ9 <sub>950</sub>	20,4 - rep.	<i>Co-6</i>	AB 136	Alzate-Marin et al. (1999a)
AZ20 <sub>950</sub>	2,2 – acop.	<i>co-8</i>	AB 136	Alzate-Marin et al. (2001a)
OX11 <sub>630</sub>	5,8 – acop.	<i>Co-10</i>	Ouro Negro	Alzate-Marin et al. (2003a)
OF10 <sub>1050</sub>	7,7 – acop.	<i>Co-10</i>	Ouro negro	Alzate-Marin et al. (2003a)

\* acop. = acoplamento; rep. = repulsão; recomb. = recombinantes

Para testar a eficiência do marcador SCAR<sub>Reoli</sub> ligado ao gene *Co-2* em genótipos Mesoamericanos, uma vez que foi desenvolvido para genótipos Andinos, Geffroy et al. (1998) utilizaram 10 genótipos comerciais Andinos e Mesoamericanos resistentes e três linhas isogênicas para o gene *Co-2*. Todos os genótipos portadores do gene de resistência apresentaram um fragmento de 136pb. Porém, duas cultivares suscetíveis (BAT 93 e TO) também apresentaram os padrões associados com a resistência, ou seja, ao *Co-2*. Essa ambigüidade continuou mesmo após a digestão com outras enzimas de restrição. Desta forma, os autores demonstraram que este marcador só poderia ser aplicado em materiais de origem Andina.

Corrêa et al. (2000), utilizando linhagens do cruzamento entre a cultivar Ouro Negro e US Pinto 111, desenvolveram o marcador SF10<sub>1072</sub>. Alzate-Marin et al. (2003a) identificaram o mesmo marcador ligado ao gene *Co-10* presente na cultivar Ouro Negro que apresenta um amplo espectro de resistência à antracnose por ser incompatível com as raças 23, 64, 67, 73, 81, 83, 87, 89, 95, 102, 117, 119, 343, 453, 1033, 1545 e 1600 de *C. lindemuthianum* de comum ocorrência no Brasil.

Em 2001, Awale e Kelly desenvolveram os marcadores SCAR SH18 e SBB14, ligados ao alelo *Co-4*<sup>2</sup> e demonstraram sua reprodutibilidade em outros genótipos que possuem diferentes alelos do gene *Co-4*.

Miklas e Kelly (2002) obtiveram, por meio de retrocruzamentos assistidos com o marcador SAS13<sub>950</sub>, linhagens de feijão Pinto com o alelo *Co-4*<sup>2</sup> na geração RC<sub>3</sub>F<sub>2:3</sub>. A utilização da seleção assistida nesse trabalho ressaltou a importância na utilização dos marcadores moleculares como auxiliares em programas de melhoramento reduzindo o tempo para obtenção de uma nova cultivar resistente à antracnose.

Os autores Mendez-Vigo et al. (2002) encontraram uma ligação entre o marcador RAPD OB12<sub>350</sub> e o gene *Co-9*, presente na linhagem A 1220, e construíram um marcador SCAR (SB12) para monitorar esse gene. Segundo Kelly e Vallejo (2004), a presença da marca SCAR na cultivar BAT 93 e na cultivar PI 207262 confirma que o gene *Co-9*, presente na cultivar BAT 93, era proveniente de seu genitor, o PI 207262.

Quadro 6 – Marcadores moleculares SCAR ligados a genes que conferem resistência à antracnose

SCAR	Marcador de origem	Tamanho (pb) Orientação	Seqüência (5'-3')	Locus	Grupo de ligação	Referência
SCAreoli	H2O	1000	GGG AGA CAT CCA TCA GAC AAC TCC GTA TCC ATT TGAA GGA GCT	Co-2	B11	Geffroy et al. (1998); Adam-Blondon et al. (1994)
SQ4	OQ4	1440	CCT TAG GTA TGG TGG GAA ACG A TGA GGG CGA GGA TTT CAG CAA GTT	Co-2	B4	Awale et al. (2008); Young and Kelly (1996)
SW12	W12	700 cis	TGG GCA GAA GTT CTA GCA TGT GGC TGG GCA GAA GCA CAG TAT GAT TTG	Co-3/Co-3 <sup>3</sup>	B4	Miklas et al. (2000); Singh et al. (2000); Rodríguez-Suárez et al. (2008)
SY20	Y20	830 cis	AGC CGT GGA AGG TTG TCA T CCG TGG AAA CAA CAC ACA AT	Co-4	B8	Queiroz et al. (2004b); Kelly et al. (2003)
SC08	C08	910 cis	AGA ATG CCT TTA GCT GTT GG CAG AGA GGC TAG GCT TAT CG	Co-4	B8	Queiroz et al. (2004b); Kelly et al. (2003)
SAS13	AS13	950 cis	CAC GGA CCG AAT AAG CCA CCA ACA CAC GGA CCG AGG ATA CAG TGA AAG	Co-4 <sup>2</sup>	B8	Young et al. (1998); Kelly et al. (2003)
SH18	H18	1100 cis	CCA GAA GGA GCT GAT AGT ACT CCA CAA C GGT AGG CAC ACT GAT GAA TCT CAT GTT GGG	Co-4 <sup>2</sup>	B8	Awale e Kelly (2001); Kelly et al. (2003)
SBB14	BB14	1150/1050 codominante	GTG GGA CCT GTT CAA GAA TAA TAC GTG GGA CCT GGG TAG TGT AGA AAT	Co-4 <sup>2</sup>	B8	Awale e Kelly (2001) Kelly et al. (2003)
SAB3	AB-3	400 cis	TGG CGC ACA CAT AAG TTC TCA CGG TGG CGC ACA CCA TCA AAA AAG GTT	Co-5	B7	Vallejo e Kelly (2001) Campa et al. (2005)
SZ20	Z20	845 cis	ACC CCT CAT GCA GGT TTT TA CAT AAT CCA TTC ATG CTC ACC	Co-6	B7	Queiroz et al. (2004) Kelly et al. (2003)
SZ04	Z04	567 trans	GGC TGT GCT GAT TAA TTC TGG TGC TCA TTT TAT AAT GGA GAA AAA	Co-6	B7	Queiroz et al. (2004) Kelly et al. (2003)
SB12	B-12	350 cis	CCT TGA CGC ACC TCC ATG TTG ACG ATGGG TTG GCC	Co-3 <sup>3</sup>	B4	Mendez de Vigo et al. (2002)
SF10	F0	1072 CIS	GGA AGC TTG GTG AGC AAG GA GGA AGC TTG GCT ATGATG GT	Co-10	B4	Correa et al. (2000); Alzate-Marin et al. (2003a)

Melo et al. (2005) evidenciaram que os marcadores OX11<sub>550</sub> e SF10<sub>1072</sub>, previamente identificados na população Ouro Negro/Rudá também foram validados e eficientes na seleção indireta quanto à resistência a patótipos de *C.lindemuthianum* e *U. appendiculatus* na população Ouro Negro/Pérola.

Marcadores SCAR foram utilizados para o estudo inicial da caracterização molecular e genética dos genes de resistência à antracnose presentes na cultivar G2338. A análise com os marcadores ligados a genes previamente descritos indicaram que G2338 é portadora dos genes *Co-5* e *Co-4*. Dada a complexidade do *locus Co-4*, os autores acreditam que a diferença entre G2333 e G2338 ocorre devido às diferenças alélicas na composição desse *locus* (Vallejo e Kelly, 2005).

Utilizando os marcadores SZ20 e SZ04, Campa et al. (2007) observaram que existe um conjunto de genes de resistência à antracnose localizado no grupo de ligação B7, que corresponderia ao gene *Co-6*. Os resultados também indicaram que a cultivar AB136 possui pelo menos um segundo gene dominante, independente do *Co-6*, que confere resistência às raças 375 e 453.

Vidigal Filho et al. (2008), para verificar a presença dos marcadores SF10<sub>1072</sub> SAS13<sub>950</sub>, analisaram quarenta acessos de feijoeiro e 233 linhas F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub> derivadas de retrocruzamentos entre Pérola x G2333. O estudo mostrou que a maioria das cultivares apresentava pelo menos um gene de resistência de cultivares Mesoamericana (*Co-2*, *Co-3* e *Co-11* ou *Co-4*<sup>2</sup>).

Beraldo et al. (2009) utilizaram marcadores SCARs ligados aos principais genes de resistência à antracnose para seleção e obtenção de linhagens avançadas de feijoeiro contendo o maior número desses genes. Os autores identificaram três genitores e nove linhagens com quatro genes de resistência e concluíram que o gene *Co-6*, proveniente do genótipo AB-136 (marcador SZ20), foi o mais freqüente, seguido por *Co-4*<sup>2</sup>, *Co-3*<sup>3</sup>, *Co-5*, e *Co-4*.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Material Vegetal

O Programa de Melhoramento Genético do Feijoeiro Comum do Núcleo de Pesquisa Aplicada à Agricultura (Nupagri), pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM), tem como um dos objetivos identificar genótipos resistentes à antracnose e transferir os genes identificados para cultivares comerciais. Para tanto, 75 genótipos de feijoeiro comum pertencentes ao Banco de Germoplasma de Feijoeiro (BGF/Nupagri) (Quadro 7) foram analisados visando identificar fontes de resistência às raças 73 e 2047 de *C. lindemuthianum*.

Quadro 7 – Número de registro no BGF/Nupagri (NR), número de identificação nos Bancos Ativos de Germoplasma (BAG) da Embrapa e Epagri, nome comum e Estado de origem dos 75 genótipos de feijoeiro comum analisados

	NR	BAG <sup>1/2/</sup>	Nome comum	Conjunto gênico <sup>3/</sup>	Grupo comercial	Estado de origem <sup>4/</sup>
1	BGF 1	-	-	M	Rosinha	PR
2	BGF 2	-	-	A	Preto	PR
3	BGF 3	-	-	A	Preto	PR
4	BGF 4	-	-	M	Preto	PR
5	BGF 5	-	-	M	Rosinha	PR
6	BGF 6	-	-	A	Manteigão	PR
7	BGF 9	-	Corinthiano	A	Diversos	PR
8	BGF 11	-	-	A	Manteigão	PR
9	BGF 12	-	-	M	Roxinho	PR
10	BGF 13	-	Pixirum	M	Diversos	PR
11	BGF 14	-	-	A	Diversos	PR
12	BGF 15	-	Pitanga	A	Manteigão	PR
13	BGF 16	-	-	A	Manteigão	PR
14	BGF 17	-	-	A	Manteigão	PR
15	BGF 18	-	Paco Paraná	M	Diversos	PR
16	BGF 19	-	-	A	Roxinho	PR
17	BGF 20	-	-	A	Manteigão	PR
18	BGF 28	-	Carioca Pintado I	M	Carioca	PR
19	BGF 29	-	Carioca Pintado II	M	Carioca	PR
20	BGF 30	-	Carioca Pitoko	M	Carioca	PR
21	BGF 31	-	Iapar 31	M	Carioca	PR
22	BGF 35	-	Preto IV	M	Preto	PR
23	BGF 36	-	Rosinha	M	Rosinha	PR
24	BGF 37	-	Roxinho	M	Roxinho	PR
25	BGF 39	-	Jalo Pardo	A	Manteigão	PR
26	BGF 40	-	Jalo Pintado I	A	Manteigão	PR
27	BGF 41	-	Jalo Pintado II	A	Manteigão	PR
28	BGF 44	220296 <sup>1/</sup>	Rosinha Opaco	M	Rosinha	MS
29	BGF 45	220297 <sup>1/</sup>	Rosinha A	M	Rosinha	MS

Quadro 7 – Cont...

30	BGF 46	220423 <sup>1/</sup>	Rosinha B	M	Rosinha	MS
31	BGF 47	220433 <sup>1/</sup>	Rosinha C	M	Rosinha	MS
32	BGF 48	220319 <sup>1/</sup>	Rosinha D	M	Rosinha	MS
33	BGF 49	220298 <sup>1/</sup>	Roxinho A	M	Roxinho	MS
34	BGF 50	220300 <sup>1/</sup>	Carioquinha Limpo	M	Carioca	MS
35	BGF 51	220302 <sup>1/</sup>	Rosado	M	Diversos	MS
36	BGF 52	220333 <sup>1/</sup>	Mulatão Lustroso	M	Pardo	MS
37	BGF 53	220386 <sup>1/</sup>	Bico de Ouro A	M	Bico de Ouro	MS
38	BGF 54	220448 <sup>1/</sup>	Bico de Ouro B	M	Bico de Ouro	MS
39	BGF 55	220396 <sup>1/</sup>	Mulatinho Vagem Roxa A	M	Mulatinho	MS
40	BGF 56	220420 <sup>1/</sup>	Mulatinho Vagem Roxa B	M	Mulatinho	MS
41	BGF 57	220399 <sup>1/</sup>	Carioca Vagem Rosada	M	Roxinho	MS
42	BGF 58	220400 <sup>1/</sup>	Jalo	A	Manteigão	MS
43	BGF 60	220403 <sup>1/</sup>	Uberabinha Preto	A	Preto	MS
44	BGF 61	220406 <sup>1/</sup>	Manteiguinha de Cipó	A	Manteigão	MS
45	BGF 62	220411 <sup>1/</sup>	Jalo sem Cipó	A	Manteigão	MS
46	BGF 63	220412 <sup>1/</sup>	Carioca sem Cipó	M	Carioca	MS
47	BGF 64	220413 <sup>1/</sup>	Bodoquena	A	Manteigão	MS
48	BGF 66	220415 <sup>1/</sup>	Rosinha sem Cipó	M	Mulatinho	MS
49	BGF 68	220417 <sup>1/</sup>	Manteiga com Cipó	A	Manteigão	MS
50	BGF 70	220419 <sup>1/</sup>	Bolinha	A	Manteigão	MS
51	BGF 71	220428 <sup>1/</sup>	Roxinho Mineiro	M	Roxinho	MS
52	BGF 72	220430 <sup>1/</sup>	Preto Guamirim	M	Preto	MS
53	BGF 74	220437 <sup>1/</sup>	Rosinha Guaicurus	M	Rosinha	MS
54	BGF 75	220440 <sup>1/</sup>	Cara Suja	A	Pardo	MS
55	BGF 76	-	Rio Tibagi [S-89-N(1)] Introduzida do IICA	M	Preto	Costa Rica
56	BGF 77	-	Aporé	M	Carioca	Embrapa
57	BGF 78	-	Iapar 44	M	Preto	Iapar
58	BGF 91	Cfe 17 <sup>2/</sup>	Preto Brilhoso Achatado	M	Preto	SC
59	BGF 92	Cfe 14 <sup>2/</sup>	Preto Precoce Cunha Porã	M	Preto	SC
60	BGF 93	Cfe 68 <sup>2/</sup>	Crioulo Manteiga	A	Preto	SC
61	BGF 94	Cfe 71 <sup>2/</sup>	Crioulo Brilhoso	M	Preto	SC
62	BGF 95	Cfe 72 <sup>2/</sup>	Crioulo 159	M	Preto	SC
63	BGF 96	Cfe 85 <sup>2/</sup>	FC 75	A	Preto	SC
64	BGF 97	Cfe 26 <sup>2/</sup>	FC 2016	A	Preto	SC
65	BGF 98	Cfe 19 <sup>2/</sup>	FC 2001	A	Preto	SC
66	BGF 99	Cfe 05 <sup>2/</sup>	FC 2045	A	Preto	SC
67	BGF 100	Cfe 121 <sup>2/</sup>	Crioulo Brilhoso Ponte Serrada	M	Preto	SC
68	BGF 103	Cfe 90 <sup>2/</sup>	FC 89	M	Preto	SC
69	BGF 104	Cfe 88 <sup>2/</sup>	Preto Redondo CN 694 FC 1212	A	Preto	SC
70	BGF 105	Cfe 119 <sup>2/</sup>	FC 117	M	Preto	SC
71	BGF 110	Cfe 664 <sup>2/</sup>	Azulão Ponte Serrada	A	Preto	SC
72	BGF 111	Cfe 128 <sup>2/</sup>	Azulão Ab. Luz	A	Preto	SC
73	BGF 112	-	Porto Real	M	Carioca	SC
74	BGF 113	-	Safira	M	Roxinho	SC
75	BGF 114	-	Amendoim Cavallo	A	Manteigão	SC

<sup>1/</sup>número de registro no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF). <sup>2/</sup>número de registro no Banco Ativo de Germoplasma da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri). <sup>3/</sup>M = Mesoamericano; A = Andino. <sup>4/</sup>PR = Paraná; MS = Mato Grosso do Sul; SC = Santa Catarina.

Dentre os 75 genótipos analisados, 27 foram coletados no Estado do Mato Grosso do Sul e cedidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP) mediante Acordo de Transferência de Material – II (ATM-II). A Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) cedeu 18 genótipos de seu Banco Ativo de Germoplasma, os quais foram coletados em Santa Catarina. Os demais genótipos foram coletados em reservas indígenas na região de Toledo, Estado do Paraná, pelo Engenheiro Agrônomo Rodrigo Garcia (BGF1 ao BGF 20), e doados ao Banco Ativo de Germoplasma de Feijoeiro do Nupagri e os 13 genótipos restantes já pertenciam ao banco de germoplasma.

As sementes de cada genótipo foram semeadas em vasos, contendo substrato e mantidas em casa de vegetação para obtenção de linhas puras. Esse procedimento foi repetido por dois ciclos. Após o segundo ciclo, as sementes dos 75 genótipos foram colhidas e secas em estufa a 34°C por três dias. A seguir, procedeu-se às avaliações, mediante inoculação com as raças 73 e 2047 de *C. lindemuthianum* e às análises com os marcadores SCAR SF10<sub>1072</sub> e SAS13<sub>950</sub>.

### **3.2. Obtenção das amostras para extração do DNA**

As sementes de cada um dos 75 genótipos (10 sementes/genótipo) foram semeadas em bandejas plásticas contendo substrato à base de turfa e vermiculita e mantidas em casa de vegetação até o surgimento das primeiras folhas trifolioladas (estádio V3), segundo escala fenológica de Gepts e Fernandez (1982). Após esse período, um folíolo jovem de cada plântula foi coletado individualmente com auxílio de tubos plásticos tipo eppendorf, congelado em nitrogênio líquido e armazenado em freezer (-20°C) para posterior extração do DNA. A seguir, as bandejas foram transferidas para a câmara de nebulização, com temperatura controlada (22 ± 2°C), para que as plântulas aclimatassem e fossem inoculadas, posteriormente, com suspensão de esporos das raças 73 e 2047.

### **3.3. Preparo do inóculo**

O preparo do inóculo foi realizado segundo a metodologia proposta por Cárdenas et al. (1964) a qual consiste na multiplicação dos esporos de cada patótipo do *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 quatorze dias a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ .

### **3.4. Inoculação e Incubação**

Após o período de incubação (14 dias), foi realizada a retirada das vagens de cada tubo com o auxílio de uma pinça, sendo transferidas para um becker contendo água destilada esterilizada, dando origem a uma suspensão de esporos, que a seguir foi filtrada através de uma dupla camada de gaze, obtendo-se, assim, no final do processo, uma suspensão líquida de esporos para a raça 73 e uma para a raça 2047.

As soluções de esporos foram analisadas em um hematocítômetro sendo realizadas cinco contagens de esporos para cada raça de *C. lindemuthianum*. A partir dessas contagens, a concentração das soluções foi ajustada para aproximadamente  $1,2 \times 10^6$  esporos  $\text{mL}^{-1}$  de água destilada esterilizada, por meio de diluições. A seguir, procedeu-se a inoculação das plântulas que estavam aclimatando na câmara de nebulização mediante a utilização de um pincel umedecido na suspensão de esporos.

Após as inoculações, as plântulas foram mantidas na mesma câmara por 72 horas, à temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , controlando-se a luminosidade (12 horas de iluminação de 680 lux / 12 horas de escuro) e com aproximadamente 100% de umidade relativa. Posteriormente, as plantas foram transferidas para bancadas, em ambiente apropriado, com temperatura aproximada de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , sob luz artificial, onde permaneceram até a realização das avaliações.

### **3.5. Avaliação dos Sintomas**

A avaliação visual dos sintomas em cada plântula foi realizada aproximadamente 10 dias após a inoculação, utilizando-se a escala de



severidade proposta por Van Schoonhoven e Pastor-Corrales (1987), 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 freqüência 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 freqüência 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 abundante em talos, ramos, 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 as plantas com notas de 4 a 9 foram consideradas suscetíveis.

### **3.6. Extração do DNA genômico**

A extração do DNA foi efetuada com base na metodologia proposta por Afanador et al. (1993), com modificações. No momento da extração, os tubos plásticos contendo os folíolos coletados anteriormente foram retirados do freezer e colocados em um recipiente de isopor contendo gelo moído. A seguir, foram adicionados em cada tubo 396 $\mu$ L de tampão de extração (CTAB; 1M Tris-HCl pH 7,5; 5M NaCl; 0,5M EDTA) e 4 $\mu$ L de  $\beta$ -mercaptoetanol procedendo-se, em seguida, à maceração do tecido em homogeneizador.

Após a maceração, as amostras foram incubadas em banho-maria a 65°C por 20 minutos, invertendo-se os tubos por duas vezes durante este período. Posteriormente, adicionou-se a cada amostra 400µL de uma solução de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1) procedendo-se à homogeneização das amostras em orbital shaker por 15 minutos. A seguir, as amostras foram centrifugadas a 13.000rpm por cinco minutos.

Ao final da centrifugação a fase superior do sobrenadante foi transferida para tubos plásticos tipo eppendorf os quais já continham 400µL de isopropanol gelado. Após a transferência, os tubos foram invertidos cuidadosamente por quatro vezes permanecendo sobre a bancada, a temperatura ambiente, por cinco minutos, sendo transferidos a seguir para o freezer (-20°C) por um período de uma hora.

Transcorrido esse período, as amostras foram retiradas do freezer e centrifugadas a 13.000rpm por cinco minutos. O sobrenadante foi descartado e os tubos foram invertidos sobre a bancada até que o precipitado ficasse totalmente seco.

Posteriormente, o precipitado foi ressuspendido em 100µL de tampão TE (1M Tris HCl pH 7,5; 0,5M EDTA), sendo adicionados a seguir 4µL de RNase. As amostras foram homogeneizadas com cuidado permanecendo sobre a bancada, à temperatura ambiente, por 15 minutos. Após esse período, foram adicionados 500µL de etanol absoluto gelado por amostra deixando-as em temperatura ambiente por 10 minutos. A seguir, as amostras foram transferidas para freezer (-20°C), permanecendo ali por aproximadamente 12 horas (overnight). No dia seguinte, as amostras foram retiradas do freezer e centrifugadas a 13.000rpm por cinco minutos. O sobrenadante foi descartado, os tubos foram novamente invertidos, permanecendo sobre a bancada tempo suficiente para que o precipitado ficasse totalmente seco. A seguir, ressuspendeu-se o precipitado em 100µL de tampão TE e as amostras foram congeladas em freezer (-20°C).

Após a extração, o DNA foi quantificado em espectrofotômetro Femto 700S e as amostras diluídas para se obter uma concentração final por amostra de 10ng µL<sup>-1</sup>.

### 3.7. Reações de amplificação com marcadores moleculares SCARs

As reações de amplificação, em um volume total de 25 µL cada, continham: 30ng de DNA, 20µM de cada dNTP (dATP dCTP dGTP dTTP), 3,0mM de MgCl<sub>2</sub>, 10mM Tris-HCl, pH 8,3, 50mM de KCl, 1,15µM de cada primer (senso e antisenso) e uma unidade de Taq DNA polimerase (Williams et al., 1990).

Dois marcadores SCAR foram utilizados nas análises dos 75 genótipos. O primeiro foi o SCAR SF10<sub>1072</sub>, o qual está ligado ao gene de resistência *Co-10* (Corrêa et al., 2000; Faleiro et al., 2000; Alzate-Marin et al., 2003a); o segundo foi o marcador SCAR SAS13<sub>950</sub>, que se encontra ligado ao alelo *Co-4<sup>2</sup>* (Young et al., 1998; Kelly et al., 2003). As características dos dois marcadores estão apresentadas no Quadro 8.

Quadro 8 - Características dos marcadores moleculares SCAR SF10<sub>1072</sub> e SAS13<sub>950</sub> utilizados nas análises dos 75 genótipos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

SCAR	Tamanho (bp)	Sequência (5'-3')	Programa
SAS13	950 cis	CACGGACCGAATAAGCCACCAACA CACGGACCGAGGATACAGTGAAAG	34 ciclos de 94°C por 10s, 72°C por 144s; seguidos por 1 ciclo a 72°C por 5 minutos.
SF10	1072 cis	GGAAGCTTGGTGAGCAAGGA GGAAGCTTGGCTATGATGGT	1 ciclo a 94°C por 3 minutos; 35 ciclos de 94°C por 15s, 65°C por 60s, 72°C por 90s, seguidos por 1 ciclo a 72°C por 7 minutos.

As amplificações foram conduzidas em um termociclador Techne, modelo TC-412, utilizando os programas descritos para cada marcador SCAR, conforme metodologias propostas por Corrêa et al. (2000) e Young et al. (1998) para os marcadores SCAR SF10<sub>1072</sub> e SAS13<sub>950</sub>, respectivamente. Concluída a amplificação, os fragmentos de DNA produzidos foram fracionados em gel de agarose 1,2% preparado com tampão TAE 1X (40mM Tris-acetato, 20mM ácido acético e 1mM EDTA), contendo brometo de etídio (0,02%) em cuba de eletroforese com o mesmo tampão. Os géis foram submetidos a um campo elétrico de 3 V cm<sup>-1</sup> e o processo de migração do DNA durou aproximadamente 3 horas.

Os fragmentos amplificados foram visualizados sob luz UV em fotodocumentador Endurance TC 412 e as imagens foram capturadas em

câmera digital Cannon. Utilizou-se como padrão de tamanho o DNA *ladder* de 100pb.

A avaliação dos géis foi realizada procurando-se identificar quais genótipos apresentaram as marcas de 1072pb e 950pb que correspondem, respectivamente, aos marcadores ligados ao gene *Co-10* e ao alelo *Co4<sup>2</sup>* que conferem resistência às raças 73 e 2047 de *C. lindemuthianum*.

### **3.8. Análises fenotípicas e genotípicas**

As análises dos dados fenotípicos e dos obtidos por meio dos marcadores SCAR forneceram quatro diferentes respostas: plantas resistentes com presença do marcador ( $R^+$ ), plantas resistentes com ausência do marcador ( $R^-$ ), plantas suscetíveis com presença do marcador ( $S^+$ ) e plantas suscetíveis com ausência do marcador ( $S^-$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Reação de incompatibilidade dos genótipos de feijoeiro comum às raças 73 e 2047 de *C. lindemuthianum*

As reações de incompatibilidade às raças 73 e 2047 estão apresentadas no Quadro 9.

Quadro 9 – Reação de incompatibilidade dos 75 genótipos de feijoeiro comum (*P. vulgaris* L.) às raças 73 e 2047 de *C. lindemuthianum*

NR	Nome comum	Reação de incompatibilidade <sup>1/</sup>	
		Raça 73	Raça 2047
1	BGF 1	-	S
2	BGF 2	-	S
3	BGF 3	-	R
4	BGF 4	-	R
5	BGF 5	-	R
6	BGF 6	-	R
7	BGF 9	Corinthiano	S
8	BGF 11	-	R
9	BGF 12	-	R
10	BGF 13	Pixirum	R
11	BGF 14	-	S
12	BGF 15	Pitanga	R
13	BGF 16	-	R
14	BGF 17	-	R
15	BGF 18	Paco Paraná	S
16	BGF 19	-	R
17	BGF 20	-	R
18	BGF 28	Carioca Pintado I	S
19	BGF 29	Carioca Pintado II	R
20	BGF 30	Carioca Pitoko	S
21	BGF 31	Iapar 31	S
22	BGF 35	Preto IV	S
23	BGF 36	Rosinha	S
24	BGF 37	Roxinho	R
25	BGF 39	Jalo Pardo	S
26	BGF 40	Jalo Pintado I	S
27	BGF 41	Jalo Pintado II	R
28	BGF 44	Rosinha Opaco	S
29	BGF 45	Rosinha A	S
30	BGF 46	Rosinha B	R

Quadro 9, Cont...

31	BGF 47	Rosinha C	S	S
32	BGF 48	Rosinha D	S	S
33	BGF 49	Roxinho A	R	S
34	BGF 50	Carioquinha Limpo	S	R
35	BGF 51	Rosado	R	R
36	BGF 52	Mulatório Lustroso	R	R
37	BGF 53	Bico de Ouro A	S	S
38	BGF 54	Bico de Ouro B	S	S
39	BGF 55	Mulatinho Vagem Roxa A	R	S
40	BGF 56	Mulatinho Vagem Roxa B	R	S
41	BGF 57	Carioca Vagem Rosada	S	S
42	BGF 58	Jalo	R	S
43	BGF 60	Uberabinha Preto	S	S
44	BGF 61	Manteiguinha de Cipó	R	S
45	BGF 62	Jalo sem Cipó	S	R
46	BGF 63	Carioca sem Cipó	S	S
47	BGF 64	Bodoquena	S	S
48	BGF 66	Rosinha sem Cipó	S	R
49	BGF 68	Manteiga com Cipó	R	R
50	BGF 70	Bolinha	R	R
51	BGF 71	Roxinho Mineiro	S	R
52	BGF 72	Preto Guamirim	S	S
53	BGF 74	Rosinha Guaicurus	S	R
54	BGF 75	Cara Suja	S	S
55	BGF 76	Rio Tibagi	S	S
56	BGF 77	Aporé	R	S
57	BGF 78	Iapar 44	R	S
58	BGF 91	Preto Brilhoso Achatado	S	S
59	BGF 92	Preto Precoce Cunha Porã	S	S
60	BGF 93	Crioulo Manteiga	S	R
61	BGF 94	Crioulo Brilhoso	S	R
62	BGF 95	Crioulo 159	R	R
63	BGF 96	CF 75	S	R
64	BGF 97	FC 2016	S	R
65	BGF 98	FC 2001	S	R
66	BGF 99	FC 2045	S	R
67	BGF 100	Crioulo Brilhoso Ponte Serrada	R	R
68	BGF 103	FC 89	S	S
69	BGF 104	Preto Redondo CN 694 FC 1212	S	R
70	BGF 105	FC 117	R	S
71	BGF 110	Azulão Ponte Serrada	S	R
72	BGF 111	Azulão Ab. Luz	S	R
73	BGF 112	Porto Real	S	R
74	BGF 113	Safira	S	R
75	BGF 114	Amendoim Cavalo	R	R

<sup>17</sup>R = resistente; S = Suscetível.

Com base nos resultados constatou-se que dos 75 genótipos analisados 30 foram resistentes à raça 73, 36 à raça 2047 e 14 a ambas as raças.

Dentre os 30 genótipos resistentes à raça 73, 17 são de origem Mesoamericana e 13 de origem Andina. Entre os genótipos Andinos, houve uma prevalência do grupo comercial Manteigão, com 12 genótipos resistentes (BGF 6, BGF 11, BGF 16, BGF 17, BGF 20, Pitanga, Jalo Pintado II, Jalo, Manteiguinha de cipó, Manteiguinha com cipó, Bolinha e Amendoim Cavallo) e, entre os Mesoamericanos, destacaram-se os grupos comerciais Preto e Roxinho com cinco (BGF 4, Iapar 44, Crioulo 159, Crioulo Brilhoso Ponte Serrada e FC 117) e três genótipos (BGF 12, Roxinho e Roxinho A), respectivamente. Os demais genótipos pertencem aos grupos comerciais Rosinha (BGF 5 e Rosinha B), Carioca (Carioca Pintado II e Aporé), Mulatinho (Mulatinho Vagem Roxa A e Mulatinho Vagem Roxa B), Diversos (Pixirum e Rosado) e Pardo (Mulatão Lustroso). Vale ressaltar que 14 genótipos são oriundos do Estado do Paraná, 10 do Mato Grosso do Sul, quatro de Santa Catarina e dois são cultivares comerciais (Aporé e Iapar 44).

Na análise da reação de incompatibilidade à raça 2047 constatou-se que 19 genótipos pertencem ao conjunto gênico Andino e 17 são Mesoamericanos. O Estado de Santa Catarina contribuiu com 14 genótipos e os Estados do Paraná e Mato Grosso do Sul com 11 genótipos cada. O grupo comercial que apresentou o maior número de genótipos resistentes foi o Preto, com 12 genótipos (BGF 3, Crioulo Manteiga, Crioulo Brilhoso, Crioulo 159, CF 75, FC 2016, FC 2001, FC 2045, Crioulo Brilhoso Ponte Serrada, Preto Redondo CN694 FC 1212, Azulão Ponte Serrada e Azulão Ab. Luz), dos quais 11 são oriundos do Estado de Santa Catarina e pertencem ao programa de melhoramento do feijoeiro comum da Epagri. O segundo grupo que apresentou o maior número de genótipos foi o Manteigão, com nove (BGF 6, BGF 11, BGF 20, Pitanga, Jalo Pintado II, Jalo sem Cipó, Manteiga com Cipó, Bolinha e Amendoim Cavallo).

Um fato que merece destaque foi a constatação de que dos 75 genótipos analisados, 14 deles apresentaram resistência às duas raças de *C. lindemuthianum*. Destes, oito são de origem Andina e pertencem ao grupo comercial Manteigão (BGF 6, BGF 11, BGF 20, Pitanga, Jalo Pintado II,

Manteiga com cipó, Bolinha e Amendoim Cavallo). Os outros seis genótipos são de origem Mesoamericana e estão distribuídos nos grupos comerciais Preto (Crioulo 159 e Crioulo Brilhoso Ponte Serrada), Rosinha (BGF 5), Roxinho (Roxinho), Pardo (Mulatão Lustroso) e Diversos (Rosado).

Segundo Young e Kelly (1999) e Balardin e Kelly (1998), genótipos Mesoamericanos são predominantemente mais resistentes a isolados Andinos e genótipos Andinos a isolados Mesoamericanos. No presente estudo, dos 75 genótipos analisados 44 são de origem Mesoamericana e 31 de origem Andina. De acordo com os resultados obtidos quando esses genótipos foram inoculados com a raça 73, 42% dos Andinos e 38,6% dos Mesoamericanos foram resistentes e, quando inoculados com a raça 2047, 61% dos genótipos Andinos e 38,6% dos Mesoamericanos apresentaram reação de incompatibilidade à raça em questão. Vale ressaltar que tanto a raça 73 quanto a 2047 (Balardin et al., 1997) apresentam origem Mesoamericana o que explicaria a predominância de resistência nos genótipos de origem Andina, fato este muito marcante quando os mesmos foram inoculados com a raça 2047.

A utilização de fontes de resistência às principais raças de *C. lindemuthianum* visando a piramidação de genes Andinos e Mesoamericanos, constitui uma das estratégias dos programas de melhoramento para obtenção de cultivares comerciais com resistência durável (Young e Kelly, 1997). Os genótipos de feijoeiro comum analisados constituem fontes importantes de resistência à antracnose que devem ser disponibilizados para os programas de melhoramento do feijoeiro, principalmente do Brasil, pois foram incompatíveis com a raça 73, uma das mais freqüentes no país, e a 2047 considerada uma das raças de maior virulência já identificadas até o momento.

#### **4.2. Análise dos genótipos de feijoeiro comum com os marcadores moleculares SCAR**

Os resultados das análises com os marcadores moleculares SCAR SF10<sub>1072</sub> e SAS13<sub>950</sub> nos 75 genótipos de feijoeiro comum estão apresentados no Quadro 10.

Nas análises com o marcador molecular SAS13<sub>950</sub>, 45 genótipos apresentaram a marca de 950pb a qual está relacionada ao marcador SAS13.



Diferentemente do observado com o marcador SF10<sub>1072</sub>, no qual houve uma predominância de genótipos Mesoamericanos com o marcador, nas análises com o SAS13<sub>950</sub> ocorreu uma distribuição mais homogênea, ou seja, 24 genótipos são de origem Andina e 21 de origem Mesoamericana. Quanto aos grupos comerciais, os genótipos dos grupos Preto (BGF 3, BGF 4, Uberabinha Preto, Rio Tibagí, Iapar 44, Preto Brilhoso Achatado, Crioulo Manteiga, CF75, FC 2001, FC 2045, Crioulo Brilhoso Ponte Serrada, FC89, Preto Redondo CN 694 FC 1212 e Azulão Ab. Luz) e Manteigão, no total de 14 e 13 genótipos, respectivamente de cada grupo, evidenciaram a presença do marcador; no grupo Rosinha quatro genótipos apresentaram a marca de 950pb (BGF 1, Rosinha Opaco, Rosinha B e Rosinha D).

As análises com o marcador SF10<sub>1072</sub> evidenciaram que dos 75 genótipos analisados, 28 apresentaram o marcador. Destes, 22 são de origem Mesoamericana e seis de origem Andina. Quanto aos grupos comerciais, seis genótipos do grupo Rosinha apresentaram o marcador SF10<sub>1072</sub> (BGF 5, Rosinha, Rosinha Opaco, Rosinha B, Rosinha D e Rosinha Guaicurus); cinco genótipos do grupo comercial Preto (Uberabinha Preto, Preto Guamirim, Rio Tibagí, Iapar 44 e Crioulo 159); quatro genótipos dos grupos Roxinho (BGF12, Roxinho A, Carioca Vagem Rosada e Roxinho Mineiro) e Manteigão (Jalo, Bodoquena, Manteiga com Cipó e Bolinha) e três genótipos do grupo Mulatinho (Mulatinho Vagem Roxa A, Mulatinho Vagem Roxa B e Rosinha sem Cipó), dois dos grupos Bico de Ouro (Bico de Ouro A e Bico de Ouro b) e Pardo (Mulatão Lustroso e Cara Suja) e, por fim, um genótipo do grupo diversos (BGF 12) evidenciaram a presença do marcador SF10<sub>1072</sub>.

Os grupos Roxinho (BGF 12, BGF 19 e Roxinho Mineiro), Carioca (Iapar 31, Carioquinha Limpo e Aporé) e Mulatinho (Mulatinho Vagem Roxa A, Mulatinho Vagem Roxa B e Rosinha sem Cipó) evidenciaram três genótipos cada com o marcador SAS13<sub>950</sub> e, no grupo Bico de Ouro, dois genótipos apresentaram o marcador (Bico de Ouro A e Bico de Ouro B).

O marcador SF10<sub>1072</sub> foi identificado na cultivar Mesoamericana Ouro Negro e está ligado ao gene mesoamericano *Co-10* a 6,0±1,3cM de distância (Correa et al., 2000; Alzate-Marin et al., 2003a). As análises com o marcador demonstraram a sua eficiência ao identificar majoritariamente genótipos de origem Mesoamericana que apresentaram incompatibilidade à raça 73.

Resultados similares podem ser observados para o marcador SCAR<sub>Reoli</sub>, ligado ao gene *Co-2*, que foi desenvolvido para genótipos Andinos e, Geffroy et al. (1998) demonstraram que só poderiam ser usados em materiais de origem Andina.

Quadro 10 – Resultados das análises dos 75 genótipos de feijoeiro comum com os marcadores SCAR SF10<sub>1072</sub> e SAS13<sub>950</sub>

NR	Nome comum	Marcador molecular SCAR <sup>17</sup>	
		SF10 <sub>1072</sub>	SAS13 <sub>950</sub>
1	BGF 1	-	+
2	BGF 2	-	-
3	BGF 3	-	+
4	BGF 4	-	+
5	BGF 5	+	-
6	BGF 6	-	+
7	BGF 9	Corinthiano	+
8	BGF 11	-	+
9	BGF 12	-	+
10	BGF 13	Pixirum	+
11	BGF 14	-	+
12	BGF 15	Pitanga	+
13	BGF 16	-	+
14	BGF 17	-	+
15	BGF 18	Paco Paraná	-
16	BGF 19	-	+
17	BGF 20	-	+
18	BGF 28	Carioca Pintado I	-
19	BGF 29	Carioca Pintado II	-
20	BGF 30	Carioca Pitoko	-
21	BGF 31	Iapar 31	+
22	BGF 35	Preto IV	-
23	BGF 36	Rosinha	+
24	BGF 37	Roxinho	-
25	BGF 39	Jalo Pardo	+
26	BGF 40	Jalo Pintado I	+
27	BGF 41	Jalo Pintado II	+
28	BGF 44	Rosinha Opaco	+
29	BGF 45	Rosinha A	-
30	BGF 46	Rosinha B	+
31	BGF 47	Rosinha C	-
32	BGF 48	Rosinha D	+
33	BGF 49	Roxinho A	-
34	BGF 50	Carioquinha Limpo	+
35	BGF 51	Rosado	-
36	BGF 52	Mulatão Lustroso	-

Quadro 10, Cont...

37	BGF 53	Bico de Ouro A	+	+
38	BGF 54	Bico de Ouro B	+	+
39	BGF 55	Mulatinho Vagem Roxa A	+	+
40	BGF 56	Mulatinho Vagem Roxa B	+	+
41	BGF 57	Carioca Vagem Rosada	+	-
42	BGF 58	Jalo	+	+
43	BGF 60	Uberabinha Preto	+	+
44	BGF 61	Manteiguinha de Cipó	-	+
45	BGF 62	Jalo sem Cipó	-	+
46	BGF 63	Carioca sem Cipó	+	-
47	BGF 64	Bodoquena	+	-
48	BGF 66	Rosinha sem Cipó	+	+
49	BGF 68	Manteiga com Cipó	+	-
50	BGF 70	Bolinha	+	+
51	BGF 71	Roxinho Mineiro	+	+
52	BGF 72	Preto Guamirim	+	-
53	BGF 74	Rosinha Guaicurus	+	-
54	BGF 75	Cara Suja	+	-
55	BGF 76	Rio Tibagí	+	+
56	BGF 77	Aporé	-	+
57	BGF 78	lapar 44	+	+
58	BGF 91	Preto Brilhoso Achatado	-	+
59	BGF 92	Preto Precoce Cunha Porã	-	-
60	BGF 93	Crioulo Manteiga	-	+
61	BGF 94	Crioulo Brilhoso	-	-
62	BGF 95	Crioulo 159	+	-
63	BGF 96	CF 75	-	+
64	BGF 97	FC 2016	-	-
65	BGF 98	FC 2001	-	+
66	BGF 99	FC 2045	-	+
67	BGF 100	Crioulo Brilhoso Ponte Serrada	-	+
68	BGF 103	FC 89	-	+
69	BGF 104	Preto Redondo CN 694 FC 1212	-	+
70	BGF 105	FC 117	-	-
71	BGF 110	Azulão Ponte Serrada	-	-
72	BGF 111	Azulão Ab. Luz	-	+
73	BGF 112	Porto Real	-	-
74	BGF 113	Safira	-	-
75	BGF 114	Amendoim Cavallo	-	-

<sup>17</sup> - = ausência do marcador; + = presença do marcador.

Em estudos com a cultivar G2333, Young (1998) identificou o marcador SAS13<sub>950</sub> estritamente ligado ao alelo *Co-4*<sup>2</sup> (0,0cM). No presente estudo, o resultado das análises com o mesmo marcador mostrou sua eficiência na identificação de genótipos Andinos e Mesoamericanos.

### 4.3. Análise conjunta entre a reação de incompatibilidade com as raças 73 e 2047 e os marcadores moleculares SCAR

A análise comparativa entre a reação de incompatibilidade e a presença dos marcadores moleculares SF10<sub>1072</sub> e SAS13<sub>950</sub> está apresentada no Quadro 11.

Quadro 11 – Análise conjunta dos 75 genótipos de feijoeiro comum considerando a reação de incompatibilidade às raças 73 e 2047 de *C. lindemuthianum* e a presença ou ausência dos marcadores SCAR SF10<sub>1072</sub> e SAS13<sub>950</sub>

Reação de incompatibilidade/Presença e/ou ausência do marcador <sup>1</sup>	73/SF10 <sub>1072</sub>	2047/SAS13 <sub>950</sub>
R <sup>+</sup>	BGF 5, BGF 12, BGF 13, BGF 46, BGF 49, BGF 52, BGF 55, BGF 56, BGF 58, BGF 68, BGF 70, BGF 78, BGF 95	BGF 1, BGF 3, BGF 6, BGF 9, BGF 11, BGF 15, BGF 20, BGF 41, BGF 44, BGF 50, BGF 62, BGF 66, BGF 70, BGF 71 BGF 93, BGF 96, BGF 98, BGF 99, BGF 100, BGF 104, BGF 111
R <sup>-</sup>	BGF 4, BGF 6, BGF 11, BGF 15, BGF 16, BGF 17, BGF 19, BGF 20, BGF 29, BGF 37, BGF 41, BGF 51, BGF 61, BGF 77, BGF 100, BGF 105, BGF 114	BGF 5, BGF 18, BGF 37, BGF 45, BGF 51, BGF 52, BGF 68, BGF 74, BGF 94, BGF 95, BGF 97, BGF 110, BGF 112, BGF 113, BGF 114
S <sup>+</sup>	BGF 36, BGF 44, BGF 48, BGF 53, BGF 54, BGF 57, BGF 60, BGF 63, BGF 64, BGF 66, BGF 71, BGF 72, BGF 74, BGF 75, BGF 76	BGF 4, BGF 12, BGF 13, BGF 14, BGF 16, BGF 17, BGF 19, BGF 31, BGF 39, BGF 40, BGF 46, BGF 48, BGF 53, BGF 54, BGF 55, BGF 56, BGF 58, BGF 60, BGF 61, BGF 76, BGF 77, BGF 78, BGF 91, BGF 103
S <sup>-</sup>	BGF 1, BGF 2, BGF 3, BGF 9, BGF 14, BGF 18, BGF 28, BGF 30, BGF 31, BGF 35, BGF 39, BGF 40, BGF 45, BGF 47, BGF 50, BGF 62, BGF 91, BGF 92, BGF 93, BGF 94, BGF 96, BGF 97, BGF 98, BGF 99, BGF 103, BGF 104, BGF 110, BGF 111, BGF 112, BGF 113	BGF 2, BGF 28, BGF 29, BGF 30, BGF 35, BGF 36, BGF 47, BGF 49, BGF 57, BGF 63, BGF 64, BGF 72, BGF 75, BGF 92, BGF 105

<sup>1</sup>R<sup>+</sup> = resistente com a presença do marcador; R<sup>-</sup> = resistente com ausência do marcador; S<sup>+</sup> = suscetível com presença do marcador; S<sup>-</sup> = suscetível com ausência do marcador.

Quando foi realizada a comparação entre a reação de incompatibilidade dos genótipos à raça 73 com os dados do marcador

SF10<sub>1072</sub>, observou-se que 17,3% dos genótipos resistentes apresentaram marcador ligado ao gene *Co-10* (Quadro 11). Concomitantemente, o marcador SAS13<sub>950</sub> foi eficiente em identificar 28% dos genótipos resistentes à raça 2047 (Quadro 11). Os demais genótipos que apresentaram marcador, tanto ligado ao gene *Co-10* quanto ao alelo *Co-4<sup>2</sup>*, foram suscetíveis quando inoculados com as raças 73 e 2047. Outro fato que merece destaque foi que, em 22,7% dos genótipos resistentes, a raça 73 e 20% dos resistentes à raça 2047 não foi detectada a presença do marcador.

Os genótipos resistentes, nos quais houve a amplificação do marcador, possivelmente possuem o gene (*Co-10*) ou o alelo (*Co-4<sup>2</sup>*), ou ainda um novo gene não identificado que confere resistência às raças de *C. lindemuthianum* testadas. A ocorrência de plantas resistentes com análise molecular negativa pode ocorrer devido à quebra de ligação entre o gene de resistência e o marcador, por *crossing over*, porém sem causar dano ao gene, (Sudupak et al., 1993; Melotto et al., 2004) ou que possuam genes de resistência diferentes dos avaliados (Moura, 2005).

As plantas suscetíveis que amplificaram marcadores ligados a genes de resistência indicam que, apesar da existência de algum gene de resistência, este não foi suficiente para conferir resistência total às raças, ressaltando a interação gene "raça-específico".

Deve-se ainda ressaltar a possibilidade da ocorrência de quebra de ligação entre o marcador e o gene. O marcador SF10<sub>1072</sub> foi originalmente mapeado a uma distância de 6,0±1,3cM (Correa et al., 2000). Melotto e Kelly (2000, demonstraram a possibilidade de recombinação intragênica que ocorre no loco *Co-4*, gerando assim recombinantes suscetíveis, mesmo que em uma taxa reduzida, porém que amplificam o marcador.

A análise combinada entre as reações de incompatibilidade às raças 73 e 2047 e os marcadores moleculares evidenciou que muitos genótipos possuem pelo menos um gene de resistência de origem Mesoamericana, ou seja, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6*, *Co-10*, *Co-4<sup>2</sup>*, ou outro gene ainda não identificado. Portanto, será necessário que estes genótipos sejam analisados por meio do teste de alelismo, para, posteriormente, vir a ser incluídos nos programas de melhoramento do feijoeiro comum.

Ressalta-se ainda que a utilização da seleção assistida por marcadores moleculares em processos iniciais dos programas de melhoramento é muito importante, pois reduz tempo e gastos envolvidos durante todo o processo. Portanto, neste trabalho, a identificação de genótipos que apresentaram marcadores ligados a genes de resistência à antracnose contribuiu para a redução da quantidade de genótipos que deverão ser analisados na próxima fase.

## 5. CONCLUSÕES

Dentre os 75 genótipos de feijoeiro comum pertencentes ao Banco de Germoplasma do Nupagri foram identificadas importantes fontes de resistência ao *C. lindemuthianum*, tanto de origem Andina quanto Mesoamericana que podem ser disponibilizadas aos programas de melhoramento.

A identificação de genótipos resistentes às raças 73 e 2047 de *C. lindemuthianum* e que apresentaram o marcador ligado ao respectivo gene/alelo é um forte indicativo da presença desse gene/alelo.

A identificação de genótipos resistentes à antracnose, que não apresentaram associação a nenhum ou a pelo menos um dos marcadores analisados, evidencia que os mesmos podem apresentar novas fontes de resistência ao *C. lindemuthianum*. Sendo assim, a caracterização genética desses genótipos é de extrema importância para posteriormente virem a ser utilizados em programas de melhoramento.

Por outro lado, a identificação dos genótipos resistentes ao *C. lindemuthianum* pelos marcadores apontam novas perspectivas para a utilização dos marcadores moleculares na seleção assistida, tornando mais ágil e eficiente o processo de seleção nos programas de melhoramento.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM-BLONDON, A.F.; SEVIGNAC, M.; BANNEROT, H.; DON, M. SCAR, RAPD, and RFLP markers linked to the dominant gene (*Are*) conferring resistance to anthracnose. **Theoretical Applied Genetics**, 88:865-870, 1994.

AFANADOR, L.K.; HALEY, S.D.; KELLY, J.D. Adoption of a 'mini-prep' DNA extraction protocol for RAPD marker analysis in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, 36:10-11, 1993.

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

ALZATE-MARIN, A.L.; MENARIN, H.; CARVALHO, G.A.; PAULA, J.J.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Improved selection with newly identified RAPD markers linked to resistance gene to four pathotypes of *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Phytopathology**, 89:281-285, 1999a.

ALZATE-MARIN, A.L.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Co-evolution model of *Colletotrichum lindemuthianum* (Melanconiaceae, Melanconiales) races that occur in some brazilian regions. **Genetics and Molecular Biology**, 22:115-118, 1999b.

ALZATE-MARIN, A.L.; MENARIM, H.; CHAGAS, J.M.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Identification of RAPD marker linked to the Co-6 anthracnose resistant gene in common bean cultivar AB 136. **Genetic Molecular Biology**, 23:633–637, 2000.

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 Bean Improvement Cooperative**, 44:117-118, 2001a.

ALZATE-MARIN, A.L.; MENARIM, H.; BAÍA, G.S.; PAULA JR, T.J.; SOUZA, K.A.; COSTA, M.R.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean differential cultivar G2333 and identification of a new molecular marker linked to the *Co-4<sup>2</sup>* gene. **Journal of Phytopathology**, 149:259–264, 2001b.

ALZATE-MARIN, A.L.; NIETSCHKE, S.; COSTA, M.R.; SOUZA, K.A.; SARTORATO, A.; BARROS, E.G.; DEBARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Análises do DNA de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* e *Phaeoisariopsis griseola* visando identificação de patótipos. **Summa Phytopathologica**, 27:197-203, 2001c.

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, 2003a.

ALZATE-MARIN, A.L.; COSTA, M.R.; MENARIM, H.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Herança da resistência à antracnose na cultivar de feijoeiro comum Cornell 49-242. **Fitopatologia Brasileira**, 28:302-306, 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-4<sup>3</sup>* and *Co-9* in common bean cultivar Tlalnepantla 64 (PI 207262), **Euphytica**, 154:1-8, 2007.

ANDRADE, E.M.; COSTA, J.G.C.; RAVA, C.A. Variabilidade patogênica de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de algumas regiões brasileiras. In: VI RENAFE - REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO. Salvador, 1999. **Resumos Expandidos...** Salvador: Embrapa Arroz e Feijão, 1999, p.242-244.

ANDRUS, C.F.; WADE, B.L. The factorial interpretation of anthracnose resistance in beans. **Index to USDA Technical Bulletins**, 310:1-29, 1942.

ARRAYA, R.; MORA, F.; SINGH, S.P. Fuentes de resistència a la antracnosis y La mancha angular em frijol común na Costa Rica. **Agronomía Mesoamericana**, 11:11-15, 2000.

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 resistència a duas raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* 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<sup>2</sup>* gene in common bean. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, 44:119–120, 2001.

AWALE, H.; ISMAIL, S.M.; VALLEJO, V.A.; KELLY, J.D. SQ4 SCAR marker linked to the *Co-2* gene on B11 appears to be linked to the *Ur-11* gene. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 51:174-175, 2008.

AZEVEDO, J.L. Variabilidade em fungos fitopatogênicos. **Summa Phytopathologica**, 2:3-15, 1976.

BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Wallingford: C. A. B. International/British Society for Plant Pathology, 1992. 388p.

BALARDIN, R.S. Identificação de raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* no Rio Grande do Sul - Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, 22:50-53, 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.; 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.; JAROSZ, A.M.; KELLY, J.D. Virulence and molecular diversity in *Colletotrichum lindemuthianum* from South, Central and North America. **Phytopathology**, 87:1184-91, 1997.

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.

BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Improved selection with newly identified RAPD markers linked to resistance gene to four pathotypes of *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Phytopathology**, 89:281-285, 1999.

BARRUS, M.F. Variations 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.) B. C. **Phytopathology**, 8:589-614, 1918.

BEEBE, S.; RENGIFO, J.; GAITAN, E.; DUQUE, M.C.; TOHME, J. Diversity and Origin of Andean Landraces of Common Bean. **Crop Science**, 41:854-862, 2001.

BERALDO, A.L.A.; COLOMBO, C.A.; CHIORATO, A.F.; ITO, M.F.; CARNBONELL, S.A.M. Aplicação de marcadores SCARs para seleção de linhagens resistentes à antracnose em feijoeiro. **Bragantia**, 68:53-61, 2009

BIGIRIMANA, J.; HÖFTE, M. Bean anthracnose: inoculation methods and influence of plant stage on resistance of *Phaseolus vulgaris* cultivars. **Journal of Phytopathology**, 149:403-408, 2001.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNIC, M.; DAVIS, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, 32:314-331, 1980.

BURKHOLDER, W.H. The gamma strain of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Brit. et Cav. **Phytopathology**, 13:316-323, 1923.

CAIXETA, E.T.; OLIVEIRA, A.C.B.; BRITO, G.G.; SAKIYAMA, N.S. Tipos de marcadores. In.: BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. (eds.). Marcadores moleculares. Viçosa: UFV, 2006. 9-78p.

CAMARGO JUNIOR, O.A. **Identificação de recombinantes de *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli* por meio de marcadores RAPD**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2004. 60p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

CAMPA, A.; RODRÍGUEZ-SUÁREZ, C.; PAÑEDA, A.; GIRALDEZ, R.; FERREIRA, J.J. The bean anthracnose resistance gene *Co-5*, is located in

linkage group B7. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 48:68–69, 2005.

CAMPA, A.; PÉREZ -VEGA, E.; GIRALDEZ, R.; FERREIRA, J.J. Inheritance of race-specific resistance to anthracnose in the differential cultivar AB136. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 50:87-77, 2007.

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.

CÁRDENAS, F.; ADAMS, M.W.; ANDERSEN, A. The genetic system for reaction of field beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to infection by three physiologic races of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Euphytica**, 13:178-186, 1964.

CATTAN-TOUPANCE, I.; MICHALAKIS, Y.; NEEMA, C. Genetic structure of wild bean population in their South-Andean center of origin. **Theoretical and Applied Genetics**, 96:844-851, 1998.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL – CIAT. **La antracnosis del frijol y su control**. Cali, 27, 1981. (CIAT - Série 04SB-06.08).

CEOLIN, A.C.G.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; KVITSCHAL, M.V.; GONELA, A.; SCAPIM, C.A. Genetic divergence of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) group carioca using morpho-agronomic traits by multivariate analysis. **Hereditas**, 143:251-259, 2006.

CHAVES, G. La Antracnosis. In: SCHWARTZ, H.F.; GALVEZ, G.E. (eds.). Problemas de producción del frijol: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. Cali: CIAT, 1980. p. 37-53.

CHIORATO, A.F.; CARBONELL, S.A.M.; MOURA, R.R.; ITO, M.F.; COLOMBO, C.A. Co-evolução entre raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e feijoeiro. *Bragantia*, 65:381-388, 2006.

CIPRIANO, R. **O sucesso da soja e do feijão tropical**. Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento. 2006. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/bionoticias/noticia.asp?id=1914>>. Acesso em: 15, outubro, 2007.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Acompanhamento de safra brasileira de grãos, quarto levantamento, janeiro 2010. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/4graos\\_07.01.10.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/4graos_07.01.10.pdf)>. Acesso em: 7, janeiro, 2010.

CORRÊA, R.X.; COSTA, M.R.; GOOD-GOD, P.I.; RAGAGNIN, V.A.; FALEIRO, F.G.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Sequence characterized amplified regions linked to rust resistance genes in the common bean. **Crop Science**, 40:804-807, 2000.

COSTA, M.R.; TANURE, J.P.M.; ARRUDA, K.M.A.; CARNEIRO, J.E.S.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Pyramiding of anthracnose, angular leaf spot and rust resistance genes in Black and Red bean cultivars. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 49:187-188, 2006.

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.; 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.

DUARTE, J.M. **Estudo da divergência genética em raças de feijão por meio de marcadores RAPD**. Lavras: UFLA, 1998. 78p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

FALEIRO, F.G.; VINHADELLI, W.S.; RAGAGNIN, V.A.; CORRÊA, R.X.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. RAPD markers linked to a block of genes conferring rust resistance to the common bean. **Genetic Molecular Biology**, 23:399–402, 2000.

FAO. **Faostat database gateway**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 1, dezembro, 2009.

FERREIRA, A. M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: Embrapa/Cenargen, 1998. 220 p.

FOUILLOUX, G. L'antracnose du haricot: etude des relations entre les pathotypes anciens et nouveaux. Etude de nouvelles sources de resistance totale. In: REUNION EUCARPIA HARICOT. Versailles, 1975. **Proceedings...** Versailles: Centre National de Recherches Agronomiques, 81-92, 1975.

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, 221-235, 1979.

FRANCO, M.C. **Análise da divergência genética em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): resistência a bacteriose, nodulação e capacidade combinatória**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998, 91p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento).

FRANCO, M.C.; CASSINI, S.T.A.; OLIVEIRA, V.R.; TSAI, S.M. Caracterização da diversidade genética em feijão por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 36:381-385, 2001.

GEFFROY, V.; CREUSOT, F.; FALQUET, J.; SEVIGNAC, M.; ADAM-BLONDON, A.F.; BANNEROT, H.; GEPTS, P.; DRON, M. A family of LRR sequences at the *Co-2* locus for anthracnose resistance in *Phaseolus vulgaris* and its potential use in marker- assisted selection. **Theoretical and Applied Genetics**, 96:494–502, 1998.

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 co-evolution process between *Phaseolus vulgaris* and its fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. **Molecular Plant- Microbe Interactions**, 12:774-784, 1999.

GEPTS, P.; FERNÁNDEZ, F. **Etapas de desarrollo de la planta de frijol comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Cali: CIAT, 1982. NUMERO DE PAGINAS

GEPTS, P. *Phaseolin as an evolutionary markers*. In: GEPTS, P. (eds.). **Genetics resources, domestication and evolution of *phaseolus* beans**. Dordrecht: Kluwer, 1988. p. 215-241.

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

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; KELLY, J.D. RAPD marker linked to *Co-1<sup>5</sup>* anthracnose resistance gene in *Widusa*. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, 47:135-136, 2004.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; THOMAZELLA, C.; ELIAS, H.T.; VIDIGAL FILHO, P.S. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates by using differential cultivars. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 47:243-244, 2004.



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.; THOMAZELLA, C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; KVITSCHAL, M.V.; ELIAS, H.T. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates using differential cultivars of common bean in Santa Catarina state, *Brazil*. **Brazilian Archives of Biology Technology**, 51:883-888, 2008a.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; LACANALLO, G.F.; VIDIGAL, P.S. A new Andean gene conferring resistance to anthracnose in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Jalo Vermelho. **Plant Breeding**, 127:592-596, 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, 2009a.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; LACANALLO, G.F.; SOUSA, L.L.. Inheritance and Allelic relationships of Anthracnose Resistance in Common bean Pitanga cultivar. In: TWENTIETH BIENNIAL MEETING OF THE BEAN IMPROVEMENT COOPERATIVE, Fort Collins, Colorado. **Proceedings...** Colorado: BIC Program and Abstracts. p. 26. 2009b

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.

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

HALLARD, J.; TREBUCHET, G. Bean anthracnose in western Europe. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, 19:44-46, 1976.

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.O.; 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, 2005, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: Embrapa, 501-504, 2005.

KALIA, N.R.; LAL, M.; KALIA, R. Genetic divergence in common bean. **Indian Journal of Agricultural Research**, 35:139-140, 2001.

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.

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

KELLY, J.D.; YOUNG, R.A. Proposed symbols for anthracnose resistance genes. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, 39:20-24, 1996.

KIMATI, H. Doenças do feijoeiro – *Phaseolus vulgaris*. In: GALLI, F (eds.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 297-318, 1980.

KIMATI, H.; GALLI, F. ***Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et v. Scherenk. f. sp. *phaseoli* n.f., fase ascogênica do agente causal da antracnose do feijoeiro**. *Anais da E.S.A. “Luis de Queiroz”*, 27:411-437, 1970.

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.

LITT, M.; LUTY, J.A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a nucleotide repeat within the cardiac muscle action gene. *American Journal of Human Genetics*, 44:398-401, 1989.

MACHADO, C.F. **Procedimentos para escolha de genitores de feijão**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1999. 118p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

MAGALLANES, M.G.R. **Aspectos citológicos da variabilidade genética em *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld & Schrenck f.sp. (*Colletotrichum lindemuthianum* [Sacc. & Magn] Scribner)**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997. 82p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

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.

MATOS, J.W.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Trinta e dois anos do programa de melhoramento genético do feijoeiro comum em Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, 31:1749-1754, 2007.

McDONALD, B.A.; LINDE, C. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. **Euphytica**, 124:163-180, 2002.

McROSTIE, G.P. Inheritance of anthracnose resistance as indicated by a cross between a resistant and a susceptible bean. **Phytopathology**, 9:141-148, 1919.

MELO, C.L.P.; CARNEIRO, J.E.S.; CRUZ, L.C.; CRUZ, C.D.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Use of molecular markers linked to common bean anthracnose resistance in a real breeding situation. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, 48:80-81, 2005.

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.; COELHO, M.F.; PEDROSA-HARAND, A.; KELLY, J.D.; CAMARGO, L.E.A. The anthracnose resistance locus *Co-4* of common bean is located on chromosome 3 and contains putative disease resistance-related genes. **Theoretical and Applied Genetics**, 109:690-699, 2004.

MENDES-COSTA, M.C.; SOUZA, E.A. Genética de *Glomerella cingulata* (Stonem) Spauld & Schrenk f. sp. *phaseoli* : Caracterização genotípica. In: 51º CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 2005, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Genética, CD-ROOM, 2005.

MENDÉZ-VIGO, B.; RODRIGUEZ, C.; PANEDA, A.; GIRALDEZ, R.; FERREIRA, J.J. Development of a SCAR marker linked to *Co-9* in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 45:116-117, 2002.

MENDÉZ-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.

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.

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., 1982, Goiânia. **Anais...** Goiânia: CNPAF, 297-299, 1982.

MIKLAS, P.N.; KELLY, J.D. The use of MAS to develop pinto bean germplasm possessing *Co-4<sup>2</sup>* gene for anthracnose resistance. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 45:68-69, 2002.

MIKLAS, P.N.; STONE, V.; DALY, M.J.; STAVELY, J.R.; STEADMAN, J.R.; BASSET, M.J.; DELORME, R.; BEAVER, J.S. Bacterial, fungal, and viral disease resistance loci mapped in a recombinant inbred common bean population ('Dorado'/XAN 176). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 125:476-481, 2000.

MOHAN, S.K.; BIANCHINI, A.; MENEZES, J.R. **Doenças do feijoeiro no Estado do Paraná: guia para identificação e controle**. Londrina: Iapar, 1989, 56p.

MOURA, R.R. Associação de marcadores RAPD a *loci* de resistência em feijoeiro a *Colletotrichum lindemuthianum*. Campinas: IAC Instituto Agronômico de Pós-Graduação, 2005. 94p. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Vegetal).

MUKESHIMANA, G.; KELLY, J.D. Evaluation of Rwandan varieties for disease resistance. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 46:145-146, 2003.

MULLIS, K.; FALOONA, F. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalysed chain reaction. **Methods Enzymology**, 55: 335-350, 1987.

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.

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.

PARAN, I.; MICHELMORE, R.W. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical and Applied Genetics**, 85:985-93, 1993.

PARRELA, N.N.L.D.; SANTOS, J.B.; PARRELLA. R.A.C. Seleção de famílias de feijão com resistência à antracnose, produtividade e tipo de grão carioca. **Ciência e Agrotecnologia**, 32:1503-1509, 2008.

PASTOR-CORRALES, M.A.; TU, J.C. Anthracnose. In: SCHWARTZ, A.F.; PASTOR-CORRALES, M.A. (eds.). **Bean production problems in the tropics**. Cali: CIAT, 1989. p. 77-104.

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

PASTOR-CORRALES, M.A.; OTOYA, M.A.M.; MAYA, M.M. Diversidad de la virulencia de *Colletotrichum lindemuthianum* en Mesoamérica y la región Andina. **Fitopatología Colombiana**, 17:31-38, 1993.

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.

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.

QUEIROZ, V.T.; SOUSA, C.S.; COSTA, M.R.; SANGLAD, D.A.; ARRUDA, K.M.A.; SOUZA, T.L.P.O.; RAGAGNIN, V.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Development of SCAR markers linked to common bean anthracnose resistance genes *Co-4* and *Co-6*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 47:249-250, 2004.

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. **Recombinação genética em *Colletotrichum lindemuthianum* por meio de anastomoses entre conídios**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002. 138p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

ROCA, M.M.G.; DAVIDE, C.L.; MENDES-COSTA, M.C. Cytogenetics of *Colletotrichum lindemuthianum* (*Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli*). **Fitopatologia Brasileira**, 28:367-373, 2003.

RODRÍGUEZ-GUERRA, R.; RAMÍREZ-RUEDA, M.T.; SIMPSON, J. Capacidad de anastomosis de cepas del hongo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib., agente causal de la antracnosis del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Mexicana de Fitopatología**, 22:37–43, 2004.

RODRÍGUEZ-SUÁREZ, C.; FERREIRA, J.J.; CAMPA, A.; PAÑEDA, A.; GIRADLES, 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 Genetic**, 116:807-814, 2008.

RODRÍGUEZ-SUAREZ, C.; PAÑEDA, A.; FERREIRA, J.J.; GIRALDEZ, R. Allelic relationships of anthracnose resistance gene cluster B4 in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 47:145-146, 2004.

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**, 51:192-192, 2008.

SANTOS, N.C.B.; NACHILUK, K. Panorama do feijão de inverso sem irrigação no Estado de São Paulo. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, 3:1-3, 2008.

SARTORATO, A. Antracnose. In: ZIMMERMANN, M.J.O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. (Orgs.). **Cultura do feijoeiro**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: Potafos, 1988. p. 457-477.

SARTORATO, A. Determinação da variabilidade patogênica do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc.) Scrib. In: 7º CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO. Viçosa, 2002. **Resumos...** Viçosa: CNPAF, 2002. p.114- 116.



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.

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).

SILVA, M.V.; SANTOS, J.B. Identificação de marcadores moleculares RAPD ligado ao alelo *Co-4*<sup>2</sup> de resistência do feijoeiro comum ao agente causal da antracnose. **Ciência e Agrotecnologia**, 25:1097-1104, 2001.

SILVA, M.G.M.; ALZATE-MARIN, A.L.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Association between RAPD marker OPAS13<sub>950C</sub> and anthracnose resistance *Co-4*<sup>3</sup> of common bean cultivar PI 207262. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 7:21-28, 2007.

SINGH, S.P.; MORALES, F.J.; MIKLAS, P.N.; TERÁN, H. Selection for bean golden mosaic resistance in intra- and inter-racial bean populations. **Crop Science**, 40:1565-1572, 2000.

SOLLER, M.; BECKMANN, J.S. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, 67:25-33, 1983.

SOMAVILLA, L.L.; PRESTES, A.M. Reação de cultivares de feijoeiro a alguns patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Fitopatologia Brasileira**, 23:290-299, 1998.

SUDUPAK, M.A.; BENNETZEN, J.L.; HULBERT, S.H. Unequal exchange and meiotic instability of disease-resistance genes in the *Rp1* region of maize. **Genetics**, 133:199-125, 1993.

SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAYLEY, J.A.; JEGGER, M.J. (eds.). **Colletotrichum, biology, pathology and control**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 1-26.

TABER, W.A.; TABER, R.A. The ascomycetes. In: LASKIN, A. I.; LECHEALIER, H. A. (Ed.). **Handbook of microbiology**. Cleveland: CRC, 1974. 328 p.

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.; 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.

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.

TU, J.C. Occurrence and characterization of the epsilon race of bean anthracnose in Ontário. **Plant Disease**, 68:69-70, 1984.

VALLEJO, V.; KELLY, J.D. Development of a SCAR marker linked to *Co-5* gene in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 44:121-122, 2001.

VALLEJO, V.; KELLY, J.D. **The use of AFLP analysis to tag the Co-12 gene conditioning resistance to bean anthracnose.** Disponível em: [http://www.intlag.org/pag/10/abstracts/PAGX\\_P233.html](http://www.intlag.org/pag/10/abstracts/PAGX_P233.html). Plant and Animal Genome X Conference 2002, San Diego, CA, 2002.

VALLEJO, V.; KELLY, J.D. Initial dissection of the anthracnose resistance in the landrace cultivar G 2338. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 48:76-77, 2005.

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.

VAN SCHOONHOVEN, A.; PASTOR-CORRALES, M.A. **Standart system for the evaluation of bean gemplasm.** Cali: CIAT,. 1987. 54p.

VASCONCELOS, M.J.V.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A.; VIEIRA, C. Genetic diversity of the common bean *Phaseolus vulgaris* L. determined by DNA-based molecular markers. **Brazilian Journal of Genetics**, 19:447-451, 1996.

VIDIGAL FILHO, P.S.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; KELLY, J.D.; KIRK, W.W. Sources of resistance to anthracnose in traditional common bean cultivars from Paraná, Brazil. **Journal Phytopathology**, 155:108-113, 2007.

VIDIGAL FILHO, P.S.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; SILVA, C.R.; A. GONELA, A.; LACANALLO, G.F. Identification of anthracnose resistance genes in common bean cultivars from Paraná State, Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 51:64-65, 2008.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro.** Viçosa: Imprensa Universitária, 1988. 231p.

VIEIRA, C. **O feijoeiro comum: cultura, doenças e melhoramento.** Viçosa: Imprensa Universitária, 1967. 220p.

VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão**: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas Gerais. Viçosa: UFV, 1998. 596.

VILARINHOS, A.D.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; BARROS, E.G.; PAULA JÚNIOR, T.J.; CRUZ, C.D.; MOREIRA, M.A. RAPD-PCR characterization of varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) used to identify races of anthracnose fungus (*Colletotrichum lindemuthianum*). **Brazilian Journal of Genetics**, 18:275-280, 1995.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T.V.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, 23:4407-4414, 1995.

WALKER, J.; NIKANDROW, A.; MILLAR, G.D. Species de *Colletotrichum* on *Xanthium* (Asteraceae) with comments on some taxonomic and nomenclatural problems in the genus *Colletotrichum*. **Mycological Research**, 95:1175-1193, 1969.

WALKER, J.C. Diseases of bean and lima bean. In: WALKER, J.C. (eds.) **Diseases vegetable crops**. New York: Macgraw-Hill, 1952. p.10-56.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, 18:6531-6535, 1990.

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

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

YOUNG, R.A.; KELLY, J.D. RAPD marker flanking the *Are* gene for anthracnose resistance in common bean. **Journal American Societ Horticulture Science**, 121:37-41, 1996.

YOUNG, R.A.; KELLY, J.D. RAPD markers linked to three major anthracnose resistance genes in common bean. **Crop Science**, 37:940-946, 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.