

**COMPROVAÇÃO DA VARIABILIDADE
PATOGENICA DENTRO DA RAÇA 65 DE
*Colletotrichum lindemuthianum***

LIVIA MARIA CHAMMA DAVIDE

2006

LIVIA MARIA CHAMMA DAVIDE

**COMPROVAÇÃO DA VARIABILIDADE PATOGÊNICA DENTRO DA
RAÇA 65 DE *Colletotrichum lindemuthianum***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Prof. Dra. Elaine Aparecida de Souza

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Davide, Livia Maria Chamma

Comprovação da variabilidade patogênica dentro da raça 65 de *Colletotrichum lindemuthianum* / Livia Maria Chamma Davide. -- Lavras : UFLA, 2006.

59 p. : il.

Orientadora: Elaine Aparecida de Souza.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Variabilidade patogênica. 2. *Colletotrichum lindemuthianum*. 3. Cultivares diferenciadoras. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-589.24

LIVIA MARIA CHAMMA DAVIDE

**COMPROVAÇÃO DA VARIABILIDADE PATOGÊNICA DENTRO DA
RAÇA 65 DE *Colletotrichum lindemuthianum***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 08 de março de 2006.

Ph. Dr. Carlos Roberto Casela

CPMS/EMBRAPA

Dr. Magno Antônio Patto Ramalho

DBI/UFLA

Dra. Elaine Aparecida de Souza
UFLA/DBI
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais, Cláudio e Lisete, por proporcionarem condições para chegar até
aqui, sempre me aconselhando e apoiando com muito amor;
A minha irmã, Helena, pela pessoa especial que alegra meus dias e me apóia
sempre que preciso;
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me fazer sentir sua presença em todos os momentos da minha vida, guiando minhas decisões e encorajando-me sempre.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Biologia, em especial ao setor de Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de realização do mestrado;

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos;

À Embrapa Arroz e Feijão por ter cedido o material genético;

À professora e orientadora Dra. Elaine Aparecida de Souza pela disponibilidade, dedicação e ensinamentos transmitidos ao longo do curso;

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Magno e Dr. Casela, por contribuírem para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Ao Professor Dr. Bosco pela disponibilidade e pelas valiosas sugestões que contribuíram para a melhoria deste trabalho;

Aos Professores do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras pela amizade e pelos conhecimentos transmitidos durante o curso;

A Dra. Maria Gabriela Roca por toda confiança, oportunidade, ensinamentos e amizade, os quais facilitaram em muito minha caminhada até aqui;

Aos funcionários do Departamento de Biologia (Dona Erundina, Elaine, Lamartine, Patrícia, Rafaela e Zélia) pelo auxílio na realização deste trabalho;

Aos colegas do Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças, Marciane, Osnil e, Kaesel pelos conselhos e sugestões;

Aos estagiários Henrique, Fabíola e Cassius pela disponibilidade e inestimável ajuda na condução dos experimentos.

Aos colegas Adriano, Rafael e Nádia pela colaboração para finalização deste trabalho.

A todos os colegas do GEN pela excelente convivência;

Aos amigos Alex, Flávio, Francine, Helton, Juliana Érica, Leonardo, Marcelo (Jacaré), Marcus, Paula, Quélen e Tathiana por fazerem parte de momentos inesquecíveis que guardarei com muito carinho por toda a minha história;

Às amigas Fernanda e Josy por todos estes anos de amizade sincera;

Ao Rafael por estar ao meu lado, mesmo apesar da distância, me dando carinho, apoio e incentivo, demonstrando ser um grande companheiro nos bons e maus momentos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	03
2.1 Antracnose do feijoeiro.....	03
2.2 Variabilidade patogênica em isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	05
2.3 Resistência Horizontal e Vertical.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Origem e manutenção do isolados.....	19
3.2 Preparo das suspensões.....	20
3.3 Inoculação dos isolados.....	20
3.4 Análises estatísticas.....	22
3.5 Avaliação da resistência genética de <i>Phaseolus vulgaris</i> a <i>lindemuthianum</i>	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 Avaliação da resistência genética das cultivares diferenciadoras de <i>lindemuthianum</i>	26
4.2 Avaliação da resistência genética das cultivares comerciais de <i>P. vulgaris</i> ao <i>C. lindemuthianum</i>	34
5 CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
ANEXOS.....	54

RESUMO

DAVIDE, Livia Maria Chamma. **Comprovação da variabilidade patogênica dentro da raça 65 de *Colletotrichum lindemuthianum***. 2006. 59 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)* - Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

A ampla variabilidade patogênica e a dificuldade de discriminar possíveis diferenças entre isolados de *C.lindemuthianum* têm causado problemas aos produtores e melhoristas de feijão. Desta forma, os objetivos deste trabalho foram estudar a variação dentro da raça 65 por meio da avaliação da agressividade entre os diferentes isolados e analisar a resistência genética (resistência vertical e horizontal) de cultivares do feijoeiro ao *C. lindemuthianum*. Para isto, foram utilizados seis isolados coletados em diferentes locais, cultivares hospedeiras e anos. As inoculações foram efetuadas no conjunto de doze cultivares diferenciadoras e em sete cultivares comerciais, de acordo com as normas estabelecidas pelo CIAT (1990). Além da concentração normalmente utilizada para inoculação, também foram avaliadas as concentrações de 10^2 , 10^3 , 10^4 e 10^5 esporos/mL. As análises estatísticas foram efetuadas por meio de uma adaptação do método do dialelo proposto por Melo & Santos (1999), o qual permite obter informações a respeito da resistência vertical e horizontal dos hospedeiros e também sobre a agressividade dos patógenos. A partir das análises obtidas das cultivares comerciais e diferenciadoras, constatou-se que não foi possível detectar a resistência horizontal no patossistema *C. lindemuthianum*-feijoeiro devido à presença de alelos de resistência vertical que inflacionaram as estimativas da capacidade geral de reação (CGR). Verificaram-se diferenças na agressividade dos isolados da raça 65, sendo os isolados CL 837 e CL 844 os mais agressivos. Fica evidente que o conjunto de cultivares diferenciadoras para determinação de raças de *C. lindemuthianum* foi ineficiente para detectar a diferença apresentada dentro da raça 65, sugerindo que novas cultivares devam ser acrescentadas.

* Orientador: Dra. Elaine Aparecida de Souza – UFLA (Orientadora).

ABSTRACT

DAVIDE, Livia Maria Chamma. **Proof of pathogenic variability within race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum***. UFLA, 2006. 59p. Dissertation (Master in Agronomy/ Plant Genetics and Breeding)* Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

The wide pathogenic variation and the difficulty to distinguish possible differences among *C. lindemuthianum* isolates have resulted in problems to producers and common breeders of beans. The aim of this work was to study the variation within the race 65 through the aggressiveness among different isolates and evaluate the genetic resistance (vertical and horizontal resistance) of *P. vulgaris* to *C. lindemuthianum*. Six isolates collected from different counties, host cultivars and years were used. The inoculations took place in the set of twelve differential cultivars and in seven commercial cultivars, according to the rules established by CIAT (1990). Besides the regular concentration of 10^6 spores/mL, the concentrations of 10^2 , 10^3 , 10^4 and 10^5 spores/mL have also been evaluated. Statistical analyses were carried out using the diallel method proposed by Melo & Santos (1999), which allowed getting information concerning the vertical and horizontal resistance of hosts as well as the aggressiveness of the pathogen. It was not possible to detect horizontal resistance in the *C. lindemuthianum* - common bean system, due to resistance alleles which increase the estimates of the general ability of reaction. Differences in the aggressiveness of isolates from race 65 were observed, being the CL 837 and CL 844 isolates, the most aggressive. Thus it is obvious that the set of differential cultivars to determine the *C. lindemuthianum* races was inefficient to detect differences within races 65, which suggests that new cultivars should be added.

* Guidance Committee: Dra. Elaine Aparecida de Souza – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

O feijoeiro comum é uma das culturas anuais de maior importância social e econômica no Brasil. Entre os fatores que afetam a produtividade e a qualidade dos grãos, a ocorrência de patógenos é o que mais se destaca. O fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal da antracnose, é um dos patógenos com maior ocorrência e danos expressivos à cultura.

Entre as medidas de controle desse patógeno, a resistência genética é a mais eficaz, tanto pela redução nos custos de produção como pela diminuição dos danos causados ao ambiente. A obtenção de cultivares resistentes é dificultada pela ocorrência de várias raças fisiológicas do patógeno (Abreu et al., 1993; Rava et al., 1994; Sartorato, 2002; Ishikawa et al. 2005). Estas raças têm sido identificadas pelo teste de patogenicidade realizado no conjunto de doze cultivares diferenciadoras recomendadas pelo CIAT (1990). No Brasil, mais de cinquenta raças de *C. lindemuthianum* já foram identificadas, sendo as raças 65, 73 e 81 as mais frequentes nos últimos anos (Silva, 2004).

A raça 65 tem sido relatada como uma raça estável e amplamente distribuída há mais de três décadas, possuindo grande importância para os programas de melhoramento do feijoeiro visando resistência à antracnose. Entretanto, deve-se mencionar que algumas cultivares mostram-se resistentes a determinados isolados e suscetíveis a outros de mesma raça (Cintra, 2005a, Souza et al., 2005). Este fato indica a existência de variabilidade dentro da raça 65, além de sugerir que o conjunto de cultivares diferenciadoras atualmente utilizado não consegue discriminar pequenas diferenças.

Portanto, para que os programas de melhoramento tenham êxito na obtenção de cultivares de feijoeiro com resistência mais duradoura é fundamental o conhecimento da variabilidade dentro de raças para que novas estratégias sejam adotadas. Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram estudar a variação

dentro da raça 65 por meio da avaliação da agressividade entre os diferentes isolados e analisar a resistência genética (resistência vertical e horizontal) de cultivares do feijoeiro ao *C. lindemuthianum*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Antracnose do feijoeiro

A antracnose é uma das doenças de grande importância da cultura do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pela sua ocorrência nas três épocas de cultivo, causando perdas de até cem por cento na produção quando se utilizam cultivar suscetível, sementes contaminadas e sob condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento do patógeno (Carbonell et al., 1999). Além de diminuir o rendimento da cultura, a antracnose deprecia a qualidade do produto por ocasionar manchas nos grãos, tornando-os indesejáveis ao consumo. Trata-se de uma doença cosmopolita, ocorrendo em locais de baixa a moderada temperatura e alta umidade relativa do ar (Kimati et al, 1997). Sua presença já foi constatada em vários países da África, América, Ásia, Europa e na Austrália. No Brasil, a antracnose prevalece nos principais Estados produtores, tais como Bahia, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Santa Catarina e São Paulo (Rava & Sartorato, 1994).

O agente causal da antracnose do feijoeiro, *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magnus) Briosi & Cav., foi descrito inicialmente por Saccaros & Magnus como *Gloesporium lindemuthianum*, ao estudarem um material coletado por Lindemuth, em Bonn, na Alemanha (Bailey & Jeger, 1992). Posteriormente, Scribner, ao verificar a presença de setas, transferiu-o para o gênero *Colletotrichum*.

Este patógeno pertence à classe Deuteromicetos e à ordem Melanconiales (Rava et al., 1994) e apresenta duas fases reprodutivas, uma assexuada ou imperfeita e outra sexuada ou perfeita. Esta última somente foi encontrada sob condições de laboratório (Roca, 1997).

Na fase assexuada, o *C. lindemuthianum* produz conídios num corpo de frutificação denominado acérvulo (Sutton, 1992). As hifas no micélio apresentam-se septadas e ramificadas, com coloração variando de hialina a quase negra (Walker, 1959). Os conídios são hialinos, unicelulares, podendo ser oblongos, circulares. Em condições favoráveis à ocorrência da doença a esporulação é abundante, 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).

Os conídios, quando em condições favoráveis, germinam seis a nove horas após o contato inicial com o hospedeiro. Formam o tubo germinativo, em seguida o apressório e, subseqüentemente, penetram mecanicamente pela cutícula e epiderme do mesmo. O aparecimento de sintomas pode ser observado a partir do sexto dia após o início da infecção (Kimati et al., 1997).

Na fase sexuada, o fungo *C. lindemuthianum* é conhecido como *Glomerella cingulata* (Stonem Spaulde & V. Schrenk) f.sp. *phaseol*, pertencente à classe dos Ascomicetos e à ordem Diaportales. Os esporos sexuais ou ascósporos são resultantes dos processos de plasmogamia (fusão celular), seguido de cariogamia (fusão nuclear) e divisão meiótica, os quais são produzidos dentro de uma estrutura em forma de saco conhecida como asco. Os ascos localizam-se nos corpos de frutificação denominados peritécios, os quais possuem formato aproximadamente arredondado (Kimati et al., 1997).

Os sintomas causados pela antracnose podem ser visualizados em toda a parte aérea da planta, sendo típicas as lesões necróticas de coloração marrom escura, presentes na face inferior da folha. Nas vagens, apresentam-se como lesões circulares, deprimidas, de coloração marrom, com as bordas escuras e salientes, circundadas por um anel pardo-avermelhado. O hipocótilo pode apresentar lesões alongadas, superficiais ou deprimidas, podendo até ocorrer o estrangulamento do

mesmo e morte da planta conforme a agressividade do patógeno. Quando afeta as plântulas, lesões pequenas de coloração marrom ou preta podem ser observadas nos cotilédones (Kimati et al., 1997).

O fungo *C. lindemuthianum* pode ser introduzido em áreas isentas da doença, bem como incrementar seu inóculo em locais já contaminados (Vechiato et al., 1997). A disseminação ocorre por meio de respingos de chuvas, ventos, implementos agrícolas, homem, insetos e vários outros agentes, sendo que a maior fonte de inóculo, do ponto de vista epidemiológico, é representada pelas sementes infectadas. Essas são responsáveis pela disseminação da doença a longas distâncias. Este patógeno possui a capacidade de sobreviver no solo associado a restos de cultura por um a dois anos (Zaumeyer & Thomas, 1957).

A associação do patógeno com as sementes, por ocasião da semeadura, nem sempre assegura a ocorrência de doença (Machado, 1994). Para que a doença ocorra é necessária a perfeita interação entre patógeno, hospedeiro e ambiente. A antracnose do feijoeiro pode ocorrer em qualquer estágio fenológico da planta, porém as perdas serão maiores quanto mais precoce for o aparecimento da doença na lavoura.

As principais estratégias recomendadas para o controle desta doença são o uso de sementes saudáveis, de cultivares resistentes e a rotação de culturas, principalmente com plantas não hospedeiras, como o milho, por dois a três anos. Estas técnicas evitam a utilização de defensivos químicos, além de praticamente não onerarem o custo de produção (Pio-Ribeiro & Chaves, 1975).

2.2 Variabilidade patogênica em isolados de *Colletotrichum lindemuthianum*

A variabilidade patogênica ou capacidade do patógeno de causar doenças em determinadas cultivares de um mesmo hospedeiro é definida como

raça (Rava et al., 1994; Sartorato, 2002). Isso constitui uma complicação nos programas de melhoramento, pois as cultivares podem ser resistentes a certas raças e suscetíveis a outras. Desta forma, a cada nova raça que surge, cultivares resistentes podem tornar-se suscetíveis (Borém, 2005).

Este conceito foi observado pela primeira vez em 1911, nos EUA, quando variedades de feijão diferiam quanto ao caráter reação quando inoculadas com isolados de *C. lindemuthianum* obtidos de diferentes origens, mostrando que o fungo apresenta especialização fisiológica e variabilidade patogênica (Barrus, 1911). Neste trabalho, Barrus (1911, 1918) identificou duas raças distintas do patógeno, as quais foram posteriormente denominadas Alfa e Beta, iniciando, assim, a utilização das letras gregas para identificar as raças fisiológicas de *C. lindemuthianum*.

Em todo o mundo várias raças foram identificadas, mostrando uma grande variabilidade neste patógeno. Esta variabilidade patogênica era representada, até pouco tempo, por grupos de raça denominados Alfa, Beta, Gama, Delta, Mexicano I, Mexicano II, Brasileiro, Brasileiro II e raças fisiológicas pertencentes a estes grupos (Carbonell et al., 1999). Porém, havia uma grande dificuldade na troca de informações entre pesquisadores devido a diferenças nas metodologias e nomenclaturas utilizadas para a caracterização do patógeno (Alzate-Marin et al., 2001a). Desta forma, sentiu-se a necessidade de utilizar uma metodologia padrão para a identificação e denominação das raças.

Assim foi aprovado, no *Primer Taller de Antracnosis del Frijol en América Latina*, no CIAT (Pastor-Corrales, 1992), um sistema binário proposto por Habgood (1970) para determinação de raças de *C. lindemuthianum*. Este consiste na utilização de um conjunto de doze cultivares diferenciadoras em ordem pré-estabelecida (Tabela 1). Cada uma delas possui um valor binário e, por meio da expansão binomial e da soma destes valores, é determinada a raça. Tal sistema tem sido utilizado em todo o mundo até os dias atuais.

A Tabela 1 mostra um exemplo de como identificar uma raça por meio do conjunto das doze cultivares diferenciadoras. Neste exemplo, foi considerado um

TABELA 1 Conjunto de cultivares diferenciadoras de feijoeiro para caracterização de raças fisiológicas de *C. lindemuthianum*, com seus respectivos alelos de resistência.

Cultivares diferenciadores	Série binomial	Valor binário	Reação	Alelos de resistência
Michelite	2 ⁰	1	S	-
MDRK	2 ¹	2	R	Co-1
Perry Marrow	2 ²	4	R	Co-1 ³
Cornell 49-242	2 ³	8	R	Co-2
Widusa	2 ⁴	16	R	Co-1 ⁵
Kaboon	2 ⁵	32	R	Co-1 ²
Mexico 222	2 ⁶	64	S	Co-3
PI 207262	2 ⁷	128	R	Co-4 ³
TO	2 ⁸	256	R	Co-4
TU	2 ⁹	512	R	Co-5
AB 136	2 ¹⁰	1024	R	Co-6, co-8
G 2333	2 ¹¹	2048	R	Co-4 ² , Co-5, Co-7
Raça	-	65	-	-

isolado classificado como pertencente à raça 65, a qual corresponde ao somatório dos valores binários referentes às cultivares com as quais o isolado apresentou reação de compatibilidade (1 + 64).

No Brasil, o primeiro estudo de identificação de raças foi realizado por Kimati em 1966, utilizando isolados coletados no Estado de São Paulo, onde foram caracterizadas raças pertencentes aos grupos Alfa Mexicano II e Delta (Augustin & Costa, 1971).

Até o ano de 2004 foram identificadas mais de 50 raças fisiológicas de *C. lindemuthianum* nas diversas regiões produtoras de feijão do Brasil (Rava et al., 1994; Balardin et al., 1997; Somavilla & Preste, 1999; Carbonell et al., 1999; Thomazella et al., 2002; Talamini et al., 2002; Alzate-Marin & Sartorato, 2004;

Sartorato et al., 2004; Silva, 2004; Gonçalves-Vidigal et al., 2004; Ishikawa et al., 2005), sendo as raças 64, 65, 73, 81, 87, 89 as de maior frequência no país. No Estado de Minas Gerais prevalecem as raças 65, 73, 81 e 89 (Silva, 2004). Cultivares como Carioca, Pérola e Rudá, plantadas no Estado, são suscetíveis à maioria das raças (Lanza et al., 1997).

A raça 65, anteriormente identificada como Epsilon (grupo Alfa), vem se destacando como uma das mais frequentes e de ampla distribuição geográfica, como mostram vários trabalhos há mais de três décadas (Rava et al., 1994; Balardin et al., 1997; Somavilla & Prestes, 1999; Carbonell et al., 1999; Talamini et al., 2002; Sartorato, 2002; Alzate-Marin & Sartorato, 2004; Sartorato et al., 2004; Silva, 2004; Ishikawa et al., 2005).

Comparando as raças brasileiras mais frequentes com as de outros países, como, por exemplo, Nicarágua, México e EUA, é possível verificar uma grande diferença entre as frequências das raças identificadas. No Brasil, há um predomínio de raças mais simples. Nos países citados, são frequentemente encontradas raças mais complexas, como, por exemplo, 264, 320, 1608, 1545. Estas diferenças entre as populações dos patógenos nas diversas regiões afetadas pelo *C. lindemuthianum* provavelmente refletem as diferenças nos germoplasmas utilizados e também nas práticas agrícolas de cada região (González et al., 1998).

Apesar de o atual sistema de determinação de raças ter facilitado muito a troca de informações, além da identificação de fontes de resistência de cultivares de diferentes regiões e da dinâmica populacional do patógeno, este ainda não é o sistema ideal, pois algumas cultivares possuem os mesmos alelos de resistência, como pode ser observado na Tabela 1 (Young et al., 1997; Nietsche et al., 2000). Assim, as cultivares diferenciadoras dificilmente representam todos os genes do hospedeiro, dificultando a classificação precisa das raças (Alzate-Marin et al., 2001a) e podendo levar a problemas de variação dentro das raças.

A associação de diferentes alelos de resistência em uma mesma variedade tem sido proposta como uma estratégia para desenvolver resistência ampla e durável à doença. Porém, o uso desta estratégia, principalmente pelos programas de melhoramento convencionais, tem sido difícil devido à necessidade de inoculações

múltiplas e seqüenciais, as quais podem não ser eficientes para a detecção precisa dos genótipos de feijoeiro portadores de diferentes alelos de resistência (Faleiro et al., 2003).

Outro agravante é a ausência de cultivares originadas em um dos possíveis centros de origem do feijão, a região do Norte dos Andes. Hoje, o conjunto de cultivares diferenciadoras é representado por três isolados do centro de origem do Sul dos Andes (MDRK, Perry Marrow, Kaboon) e nove isolados do centro Mesoamericano (Michelite, Cornell 49-242, Widusa, Mexico 222, PI 207262, TO, TU, AB 136, G 2333) (Sicard et al., 1997a).

Ao estudarem a diversidade de virulência em 128 isolados de *C. lindemuthianum* originados de material selvagem dos três centros de diversidade de *P. vulgaris*, Sicard et al. (1997a) identificaram 25 raças distintas. Na Argentina e no México, as cultivares diferenciadoras mais suscetíveis foram as de origem Andina (Perry Marrow e MDRK) e Mesoamericana (Cornell, Mexico 222, TO), respectivamente. Foram encontradas dez raças especificamente no México e treze na Argentina. Já a região do Equador foi diferente das anteriores devido à alta frequência da raça zero (96,55%), sugerindo que as cultivares diferenciadoras não permitiram uma descrição apropriada da diversidade de virulência neste local.

A diversidade genética entre isolados de *C. lindemuthianum* foi caracterizada por Sicard et al. (1997b) com auxílio de marcadores moleculares e de virulência. Foram utilizados 45 isolados, coletados em cinco populações selvagens de feijão, localizadas no centro de origem do Sul dos Andes. Nestas populações foram identificadas 45 marcas polimórficas usando marcador RAPD. Entre estas, 35 apresentam alelos raros observados em apenas um ou dois isolados. A variabilidade dentro de cada população foi alta, visto que todas as populações apresentaram um grande número de raças. Variações moleculares também foram encontradas entre isolados que tiveram raças idênticas classificadas por meio do conjunto de cultivares diferenciadoras. Os resultados sugerem que os isolados selvagens originados nos Andes não refletem toda a diversidade encontrada em isolados cultivados de feijão comum.

Estudos realizados por Balardin & Kelly (1998) em países da América do Sul, Central e do Norte permitiram identificar 41 raças entre 138 isolados avaliados. Os isolados foram divididos em dois grupos, aqueles encontrados em ampla área geográfica e aqueles restritos a um único país. As raças 7, 65 e 73 apresentaram ampla distribuição. Embora as raças 65 e 73 tenham sido freqüentes e amplamente distribuídas, estas foram somente isoladas de hospedeiros com genótipos Mesoamericanos. O polimorfismo molecular confirmou uma extensiva variabilidade de virulência no fungo *C. lindemuthianum*. Foram formados 15 grupos e os dois maiores continham isolados de todas as regiões geográficas. Isolados de uma mesma raça foram freqüentemente dissimilares para os marcadores RAPD. Análises de vários isolados das raças 65 e 73 mostraram polimorfismo entre e dentro de países, com exceção entre isolados da raça 65 do Brasil. Isolados da raça 65 caracterizados nos EUA mostraram um diferente padrão de resistência, enquanto isolados originados no Brasil foram monomórficos.

Balardin et al. (1999) estudaram a divergência genética entre 57 isolados de *C. lindemuthianum* coletados em onze países localizados na Europa, América Norte, Central e do Sul, por meio de análises baseadas em PCR-RFLP e seqüenciamento de regiões de ITS de rRNA (ITS1 and ITS2). A análise em sete raças (7, 17, 23, 31, 65, 73 e 130) coletadas nos diferentes países permitiu identificar diferenças dentro das raças 7, 17, 31 e 73. A distância genética calculada mostrou que a raça 73 dos EUA possuía maior distância genética da raça 73 do México do que de uma raça altamente virulenta, a 2047, coletada na Costa Rica, ou da raça 89 do Brasil. Estes resultados sustentam que o nível de variabilidade molecular dentro dos isolados de *C. lindemuthianum* é maior do que a variabilidade caracterizada anteriormente pela análise de virulência e sugerem a evolução independente de padrões específicos de virulência.

Carbonell et al. (1999), ao inocularem dois isolados da raça 31, dois da raça 65 e três da raça 81, em cultivares recomendados para o plantio no Estado de São Paulo, verificaram diferenças dentro de raças, sugerindo que o conjunto de cultivares diferenciadores de *C. lindemuthianum* não era suficiente para a diferenciação da diversidade de patogenicidade dos isolados avaliados devido a

possíveis interações e combinações gênicas existentes entre os genes para resistência ao patógeno.

Com o objetivo de desenvolver uma metodologia que permitisse a identificação rápida e precisa de raças de *C. lindemuthianum*, Vilarinhos et al (1995) utilizaram marcadores moleculares RAPD para caracterizar as raças Alfa-Brasil, Alfa-Brasil Widusa resistente/Tu suscetível (raça 585), Zeta, Capa e Delta. Os produtos das amplificações polimórficas produziram um padrão característico para cada uma das raças estudadas e permitiram estimar a distância genética entre elas. Foi verificada alta similaridade genética entre a raça 585 e as demais. As raças Alfa-Brasil, Delta, Capa e Zeta, por sua vez, apresentaram baixa similaridade genética entre si. Os resultados obtidos permitiram alocar as raças em grupos que diferem daqueles definidos pelo uso de cultivares diferenciadoras. Segundo estes autores, a técnica de RAPD poderia ser utilizada para a classificação mais rápida e precisa das raças de *C. lindemuthianum*, já que a definição da raça por meio das cultivares diferenciadoras envolvem poucos locos no genoma do fungo e a técnica de RAPD permite comparações simultâneas em um grande número de locos.

Mesquita et al. (1998) utilizaram amostras de DNA de isolados das raças 64, 65, 73 e 89, procedentes de diversas regiões brasileiras, a fim de identificar bandas de DNA raças-específicas em *C. lindemuthianum*. Com auxílio da técnica de RAPD, os *primers* OPAR09, APAT18, OPAT09 evidenciaram bandas de 900, 1500 e 780 pb características das raças 64, 65 e 73, respectivamente. Uma banda de 1300 pb, gerada pelo *primer* OPO07, foi monomórfica para todos os isolados da raça 89 de *C. lindemuthianum*.

Posteriormente, Alzate-Marin et al. (2001) realizaram um estudo com o objetivo de verificar a presença ou ausência de bandas patótipo-específicas às raças 64, 65, 73 e 89. Para isto, amplificaram amostras do DNA de 41 isolados de 20 raças de *C. lindemuthianum* com os *primers* OPA09, OPAT18, APAT09, APAO07, os quais seriam relativos às raças 64, 65, 73 e 89, respectivamente. A banda de 900 pb estava presente nos isolados da raça 64, mas também em isolados da raça 23. A banda de 1500 pb foi observada na raça 65 e na maioria das raças, com exceção de alguns da raça 89. A banda de 780 pb apareceu nos isolados da

raça 73, 65, 67, 72, 102 e 585. Estes resultados comprovam a não ligação exclusiva entre os marcadores gerados pelos *primers* citados e as raças correspondentes.

Neste mesmo estudo, uma análise da variabilidade genética foi realizada a partir de 19 bandas polimórficas. Como resultado, foram observados dois agrupamentos, sendo o primeiro formado por um isolado das raças 55, 69, 81, 83, 87, 89, 95, 102, 117, 339, dois isolados da raça 23 e quatro das raças 64 e 65. O segundo agrupamento foi formado por um isolado de cada uma das raças 64, 65, 67, 72, 97, 343, 453, e 585, três isolados das raças 81 e 89 e sete isolados da raça 73. Desta forma, pode-se ressaltar que a análise molecular de poucos isolados pertencentes a poucas raças pode evidenciar resultados diferentes quando comparados às análises resultantes de um maior número de isolados por raças. Também resultados com base em análise molecular de várias raças, representados por um único isolado, podem sofrer mudanças quanto maior for o número de isolados da mesma raça.

Otoya et al. (1995), estudando a variabilidade genética em 168 isolados dos mais importantes Estados produtores de feijão da Colômbia, observaram que a diversidade entre e dentro de raças foi elevada. As raças de *C. lindemuthianum* não constituíram grupos geneticamente homogêneos, sugerindo que os diferentes isolados pertencentes a uma mesma raça submeteram-se a um processo de evolução convergente, ou seja, isolados com background genéticos diferentes teriam adquirido um mesmo fenótipo de virulência. Neste trabalho não foi observada correlação entre os marcadores moleculares e o teste de patogenicidade. Assim, o polimorfismo do DNA observado foi independente da virulência, ou seja, dois isolados podem ser da mesma raça, mas com contextos genéticos diferentes (pertencentes a grupos de RAPD distintos) e terem adquirido a mesma virulência pela evolução convergente, por terem enfrentado a mesma pressão de seleção. Além disso, a inoculação dos isolados no conjunto de cultivares diferenciadoras não permitiu informação sobre o background genético de uma raça; um grande número de biótipos pode ser agrupado em uma mesma raça (Zadok, 1959 citado por Otoya et al., 1995).

Ao realizarem um levantamento em 200 isolados de vários países do mundo, Mahuku & Riascos (2004) identificaram 90 raças e verificaram que todas as cultivares diferenciadoras já tiveram sua resistência quebrada por isolados de *C. lindemuthianum*. Este fato evidencia que o uso do conjunto de diferenciadores não é suficiente para a determinação da variabilidade patogênica.

Silva (2004) utilizou cultivares diferenciadoras e marcadores RAPD a fim de estudar a distribuição de isolados de *C. lindemuthianum* oriundos de diferentes regiões produtoras de feijão do Brasil e verificar se a maior variabilidade do patógeno é devida a diferenças entre ou dentro de raças. Foram identificadas 19 raças, incluindo duas (337 e 593) até então não detectadas no Brasil, entre os 88 isolados estudados. A raça 65, seguida das raças 81 e 73, foram as mais frequentes devido, principalmente, ao uso de cultivares suscetíveis a estas raças, como Pérola e Carioca, nos Estados produtores. O número de isolados infectando cada cultivar diferenciadora foi determinado e observou-se que tanto nos dados avaliados quanto nos dados compilados de estudos realizados nos últimos 10 anos no Brasil houve uma maior frequência de reações compatíveis com as cultivares Michelite e México 222. A partir de dados obtidos por meio de um dendrograma, pode-se verificar isolados pertencentes à mesma raça classificados em grupos diferentes, como no caso dos isolados da raça 65, encontrados nos grupos I e II. O mesmo ocorreu quando os isolados agrupados pertenciam apenas ao Estado de Minas Gerais. Uma alta similaridade foi verificada entre isolados de raças distintas (85*1 e 93*2, 65*2 e 81*6). O autor também realizou uma hierarquização quanto a raças, em que cada raça foi considerada uma população e, posteriormente, feita uma análise de variância molecular. A maior parte da variação foi encontrada dentro de raças (80,85%), sendo a maior parte desta foi oriunda de isolados da raça 65 do Estado de Minas Gerais. Desta forma, fica evidente que a maior parte da variação, neste trabalho, está contida dentro de raças.

Desta maneira, fica evidente que o estudo da variabilidade entre e dentro de raças fisiológicas deste patógeno torna-se importante tanto para estudos genéticos como para facilitar a condução de trabalhos de melhoramento visando resistência a

doenças, sendo um pré-requisito para o desenvolvimento de cultivares resistentes mais duradouras (Rava et al., 1993).

2.3 Resistência Horizontal e Vertical

A interação patógeno-hospedeiro é considerada compatível quando a planta não consegue se defender do ataque de patógenos, manifestando sintomas típicos da doença. Nesse caso, o patógeno é considerado virulento e a planta, suscetível. Numa interação incompatível, o patógeno não consegue se instalar na planta hospedeira e provocar doença. Assim, a planta é considerada suscetível e o patógeno, avirulento, ocorrendo um rápido reconhecimento molecular, seguido de várias reações de defesa do hospedeiro a tempo de impedir que o patógeno se estabeleça (Hammomd-Kosack & Jones, 2000).

Desta forma, a diferença entre resistência e suscetibilidade está na capacidade da planta de reconhecer o patógeno invasor e ativar de maneira rápida seus mecanismos de defesa (Guzzo, 2004). Este reconhecimento se dá pelo contato físico por meio da interação entre um receptor (moléculas codificadas por alelos de resistência) da planta e um elicitor (moléculas codificadas por alelos de avirulência) do patógeno, de forma direta ou indireta (Hammomd-Kosack & Parker, 2003).

A reação entre o elicitor e o receptor desencadearia uma reação complexa no sítio de infecção, resultando em uma reação incompatível (ausência de doença), em que a infecção e a colonização do tecido do hospedeiro pelo patógeno seriam grandemente limitadas. Por outro lado, se o patógeno possuir um alelo de virulência, este produzirá uma molécula que não será reconhecida pela molécula receptora da planta hospedeira, a qual, conseqüentemente, não reagirá à infecção, dando origem a uma reação compatível (presença de doença) (Bergamin Filho et al., 1995). Assim, uma raça contendo tanto o alelo de avirulência como o de virulência é capaz de causar doença em uma planta que contenha o alelo de

suscetibilidade, pois esta não produz moléculas receptoras que acusam a presença do patógeno (Bergamin Filho et al., 1995).

Segundo Vanderplanck (1963), a resistência pode ser classificada, de acordo com sua efetividade contra raças do patógeno, em resistência vertical e horizontal. A resistência vertical é específica às raças do patógeno, já a resistência horizontal, além de não ser específica às raças do patógeno, é durável.

Vanderplanck (1963) também observou que é possível identificar o tipo de resistência por meio da significância da interação cultivares por raças. Isto pode ser verificado quando uma série de diferentes isolados de um patógeno é inoculada em diferentes cultivares de um hospedeiro. Neste caso, a interação cultivares x raças altamente significativas sugere que a reação de cada cultivar é específica a uma raça particular, indicando que a resistência é do tipo vertical e que os patógenos diferem quanto à virulência. Para interações não significativas, as cultivares reagem de forma semelhante a todas as raças; neste caso infere-se que a resistência é do tipo horizontal e que os isolados diferem quanto à agressividade.

A resistência vertical envolve mecanismos cuja herança é governada por poucos genes, sendo os alelos responsáveis pela expressão do caráter (resistência) geralmente dominantes (Robinson, 1971). Esta resistência é dita qualitativa devido à fácil visualização das diferenças entre plantas suscetíveis e resistentes, inexistindo reações intermediárias na ausência de outras fontes de variação que não a genética, o que gera uma distribuição fenotípica descontínua (Bergamin Filho et al., 1995). Alguns autores consideram que além da resistência vertical completa, citada acima, também ocorra a resistência vertical parcial, a qual é caracterizada por reações intermediárias.

A resistência vertical parcial é comumente confundida com a resistência horizontal, governada na maioria das vezes por muitos genes de difícil identificação individual, uma vez que nenhum deles possui um efeito tão grande que possa ser seguido e localizado, conhecendo-se apenas o efeito combinado de genes como um todo (Vanderplank, 1968). Nelson (1978) considerou que a resistência horizontal é controlada por alguns genes de efeito principal, os quais possuem seus efeitos modificados por vários outros genes de efeito menor,

denominados modificadores. É considerada quantitativa devido à presença de uma variação contínua de graus de resistência, variando da extrema suscetibilidade até a extrema resistência (Bergamin Filho et al., 1995).

O fato de uma cultivar apresentar resistência vertical não exclui a possibilidade da resistência horizontal estar presente ou vice-versa (Bergamin Filho et al., 1995). Um estudo de simulação do controle genético envolvendo as duas resistências foi realizado por Melo & Santos (1999) com o objetivo principal de testar uma metodologia que conseguisse, de maneira simples, informar sobre a resistência vertical e horizontal do hospedeiro e também sobre a agressividade e virulência dos patógenos. Para isto, foi realizada uma simulação contendo 20, 10 e 5 hospedeiros. Foram considerados 10 genes com três tipos de efeitos, principal, médio e pequeno, os quais equivaliam à ocorrência conjunta da RV e RH. A simulação teve como base a severidade da doença esperada com a inoculação de vinte hospedeiros com vinte raças do patógeno. Os autores puderam observar uma alta correlação entre a capacidade geral de reação e a resistência horizontal e entre a capacidade geral de agressividade e a patogenicidade da raça. A capacidade específica da interação revelou ser um indicador da resistência vertical do hospedeiro e da virulência do patógeno.

Essa metodologia foi empregada por Cornélio (2001) no patossistema *Pyricularia grisea*-arroz. Os resultados indicaram a predominância de resistência vertical nas cultivares diferenciadoras e resistência horizontal nas cultivares comerciais.

Segundo Zaumeyer & Meiners (1975), o primeiro trabalho a contribuir para o estudo da herança da resistência de algumas doenças do feijão foi realizado por Burkholder, em 1918. Este autor estudou a resistência à antracnose ao realizar cruzamentos entre Wells Red Kidney, resistentes às raças Alfa e Beta de antracnose, e Perry Marrow, resistente apenas à raça Alfa. As plantas da geração F₂ foram inoculadas com apenas uma raça do patógeno e a resistência pareceu ser governada por um único alelo dominante.

Posteriormente, Schreiber (1932) complementou os estudos citados acima utilizando 37 isolados do patógeno, os quais dividiu dentro de três grupos

principais correspondentes às raças Alfa, Beta e Gamma. Cruzamentos recíprocos entre Dry Shell No.22 e Konserva e entre Dry Shell No.22 e Wachs Best von Allen mostraram uma razão de 3:1, com resistência condicionada pelo alelo dominante quando inoculados na geração F₂ com somente uma raça do patógeno. Quando as progênies do mesmo cruzamento foram inoculadas com duas raças ao mesmo tempo, uma razão de 9 resistentes para 7 suscetíveis foi notada, indicando ocorrer interação gênica do tipo epistasia recessiva dupla.

No mesmo trabalho, quando a inoculação foi feita com todos os 37 isolados juntos, um terceiro gene diferente foi indicado. Quando as raças usadas para inoculação foram selecionadas de dois destes grupos, os híbridos F₂ sempre mostraram uma razão de 9:7, mas quando as duas linhagens foram escolhidas do mesmo grupo, a razão sempre foi de 3:1. O autor conclui que cada um dos três genes para a resistência está em cromossomos diferentes citado por Zaumeyer & Meiners (1975).

Hoje, é notório que os mecanismos de resistência a *C. lindemuthianum* têm sido identificados em feijoeiro comum, demonstrando que níveis de resistência genética extremamente altos estão sob o controle de um ou poucos genes maiores (Pastor-Corrales, et al., 1994).

No passado, a identificação destes genes era realizada utilizando vários símbolos distintos; porém, visando simplificar esta situação, uma nova nomenclatura foi proposta por Kelly & Young (1996). A partir de então, o símbolo *Co*, de *Colletotrichum*, vem sendo utilizado para a identificação dos genes de resistência do feijoeiro.

Até o momento, os seguintes alelos de resistência do feijoeiro foram identificados: *Co*-1 (A), encontrado na cultivar Andina Michigan Dark Red Kidney; *Co*-1², presente na cultivar Kaboon; *Co*-1³, encontrado na Perry Marrow; *Co*-1⁴, presente em AND 277; *Co*-1⁵, presente em Widusa; *Co*-2 (Are), encontrado nas diferenciadoras mesoamericanas, como a Cornell 49242; *Co*-3 (Mexique-1), encontrado na cultivar Mexico 222; *Co*-3⁴, presente na cultivar México 227; *Co*-4 (Mexique-2), presente na cultivar TO; *Co*-4², encontrado na cultivar G233 e em SEL 1308; *Co*-4³, encontrado na cultivar PI 207262; *Co*-5 (Mexique-3), encontrado

nas cultivares TU, G2333 e Seleção 1360; *Co*-6, encontrado na cultivar AB 136; *Co*-7, encontrado na G2333; *c*-8, encontrado em AB 136; *Co*-9 presente na BAT; e *c*-10 encontrado na cultivar da Ouro Negro.

Segundo Arruda (1998), a resistência conferida pela cultivar TO à raça 65 se deve a um único alelo dominante. O mesmo foi observado em relação à resistência da cultivar AB 136 às raças 64 e 89 de *C. lindemuthianum* (Alzate-Marin et al., 1997). No caso da resistência conferida pela cultivar G2333, verificou-se que dois genes independentes com alelos dominantes são responsáveis pela resistência conferida às raças 73 e 89 (Alzate-Marin et al., 2001b).

Muitos alelos de resistência à antracnose já foram identificados e alguns até mapeados. A identificação destes genes comprova a presença marcante de resistência vertical no patossistema *C. lindemuthianum*-feijoeiro. Desta forma, espera-se que estas informações venham a contribuir com o melhoramento de plantas visando resistência à antracnose do feijoeiro.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças e em casa de vegetação, localizados na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

3.1 Origem e manutenção dos isolados

Foram utilizados seis isolados provenientes da micoteca do Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças da UFLA e dois da micoteca do CNPAF/EMBRAPA (TABELA 2).

Os isolados foram selecionados de acordo com o local de origem, a cultivar hospedeira e o ano de coleta. Foram utilizados os isolados da raça 65 devido à ampla distribuição e à alta frequência observada nos levantamentos de raças de *C. lindemuthianum* nas últimas décadas.

O isolamento do patógeno e a obtenção de culturas monospóricas foram realizados conforme a metodologia descrita por Mendes-Costa & Mendonça (1996).

TABELA 2 Descrição das isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* utilizados.

Identificação	Isolados	Procedência	Cultivar	Ano
1	LV 29	Lavras/MG	-	2001
2	LV 57	Lambari/MG	Talismã	2004
3	LV 58	Nepomuceno/MG	-	2004
4	LV 61	Ijaci/MG	Olath Pinto	2004
5	CI 837	Buritis/MG	Pérola	2000
6	CI 844	Buritis/MG	Pérola	2000

Cada isolado foi repicado para uma placa de Petri contendo meio de cultura M3S (Tu, 1981) e, em seguida, colocado em câmara de crescimento tipo B.O.D.,

sob temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Após a colonização total das placas foram armazenados em geladeira.

O número de repicagens dos isolados em uso foi controlado visando evitar uma possível perda de patogenicidade em função de sucessivas repicagens. Cada isolado foi repicado por no máximo duas gerações. Após estas, retornou-se aos isolados da micoteca.

3.2 Preparo das suspensões

Para a esporulação, tubos de ensaio contendo vagens de feijão comum parcialmente submersas em meio ágar-água foram autoclavados por duas horas não consecutivas. Os isolados foram repicados para os tubos de ensaio e mantidos à temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ na incubadora (B.O.D), por um período de 10 a 15 dias.

A partir destas vagens, foram preparadas suspensões de esporos em água destilada com auxílio de uma alça de Drigalski. As suspensões foram quantificadas em câmara de Newbawer e diluídas nas concentrações de 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 esporos/mL. Em cada bandeja de isopor foram aplicados 200-250mL de suspensão.

3.3 Inoculação dos isolados

As inoculações foram efetuadas no conjunto de doze cultivares diferenciadoras e em sete cultivares comerciais (Tabela 3), de acordo com as normas estabelecidas pelo Centro Internacional de Agropecuária Tropical (CIAT, 1990).

As cultivares comerciais escolhidas são recomendadas para o cultivo no Estado de Minas Gerais ou, como no caso das cultivares OPNS-331 e VC-3, estão

em fase de avaliação. A maioria das cultivares pertencem ao grupo do tipo Carioca, ainda preferido na grande maioria dos Estados brasileiros.

Para cada isolado e em cada uma das cinco concentrações, foi conduzido um experimento em blocos ao acaso (DBC), com 12 tratamentos para as cultivares diferenciadoras e 7 tratamentos para as cultivares comerciais. Em ambos os casos, utilizaram-se duas repetições. Para cada repetição foi utilizada uma bandeja de isopor com 128 células, contendo o substrato Plantmax®. A parcela foi constituída por 8 células, nas quais foram semeadas 8 sementes. Em todas as bandejas utilizou-se como testemunha a cultivar Pérola.

As suspensões de esporos foram inoculadas após a expansão completa das folhas primárias das plântulas (estádio fenológico V2), sendo pulverizadas em ambas as faces das folhas e nos caules até o ponto de escorrimento. Após as inoculações, as plantas foram mantidas em câmara úmida, com umidade relativa de 95%, temperatura em torno de 20°C e fotoperíodo de 12 horas, por aproximadamente 72 horas. Em seguida, as plantas foram transferidas para casa de vegetação, onde permaneceram por mais sete dias até o momento da avaliação, quando se utilizou uma escala descritiva de notas variando de um a nove, proposta por Rava et al. (1993):

- 1 - ausência de sintomas;
- 2 - até 1% da nervura apresentando manchas necróticas, perceptíveis somente na face inferior das folhas;
- 3 - maior frequência de sintomas foliares descrita no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas;
- 4 - até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces das folhas;
- 5 - maior frequência dos sintomas foliares descrita no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas;
- 6 - manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces das folhas, e presença de algumas lesões em talos, ramos e pecíolos;

7 – manchas necróticas na maioria das nervuras e em grande parte do tecido mesofílico adjacente, que se rompe. Presença de abundantes lesões no talo, ramos e pecíolos;

TABELA 3 Principais características das cultivares comerciais de feijão utilizadas.

Cultivares comerciais	Porte	Ciclo (dias)	Tipo de grão	Peso médio de 100 sementes (g)
Ouro Negro	prostrado	80-100	Preto	25-27
OPNS-331	prostrado	87	Carioca	-
Pérola	semi-ereto a prostrado	95	Carioca	23-25
Rosinha	ereto	93	Rosinha	23
Talismã	prostrado	75-85	Carioca	26-27
Valente	ereto	80-94	Preto	21- 22
VC-3	prostrado	85	Carioca	-

8 – manchas necróticas em quase todas as nervuras, muito abundante em talos, ramos, pecíolos, ocasionando rupturas, desfolhação e redução do crescimento das plantas;

9 – a maioria das plantas mortas.

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

3.4 Análises estatísticas

As notas médias dos isolados inoculados nas cultivares diferenciadoras e comerciais foram transformadas por meio de raiz quadrada para melhor atender as pressuposições da análise de variância.

As análises de variância individuais das notas médias de todas as cultivares foram realizadas com auxílio do programa estatístico MSTAT e obtidas separadamente para cada concentração e isolado, tanto para as cultivares diferenciadoras como para as cultivares comerciais. O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ij} = \mu + b_i + c_j + e_{ij}$$

em que:

Y_{ij} : observação referente ao bloco i , com a cultivar j ;

b_i : efeito de bloco, sendo $i = 2$;

c_j : efeito da cultivar, sendo $j = 1, 2, 3, \dots, w$;

e_{ij} : erro experimental associado à observação Y_{ij} , com $e_{ij} \cap N(0, \sigma^2)$.

Posteriormente, foram realizadas análises conjuntas utilizando as médias obtidas nas análises de variância individuais, para cada uma das cinco concentrações avaliadas. Neste caso, o modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{(ij)k} = \mu + b_{i(q)} + c_j + r_q + (cr)_{jq} + e_{ij}$$

em que:

$Y_{(ij)k}$: observação referente ao bloco i , com a cultivar j , dentro do isolado q ;

$b_{i(q)}$: efeito de bloco i dentro do isolado q ;

c_j : efeito da cultivar, sendo $j = 1, 2, 3, \dots, w$;

r_q : efeito do isolado, sendo $q = 6$;

$(cr)_{jq}$: efeito da interação entre a cultivar j e o isolado q ;

e_{ij} : erro experimental médio.

3.5 Avaliação da resistência genética de *P. vulgaris* a *C. lindemuthianum*

Foi utilizada uma adaptação do método do dialelo proposto por Melo & Santos (1999), o qual permite obter informações a respeito da resistência vertical e horizontal dos hospedeiros e também sobre a agressividade e virulência dos patógeno.

Para isto, utilizaram-se as médias, os graus de liberdade e os quadrados médios dos erros fornecidas pelos resultados obtidos das análises conjuntas, as

quais permitiram a obtenção do dialelo parcial e, conseqüentemente, das estimativas da capacidade geral de resistência (CGR), da capacidade geral de agressividade (CGA) e da capacidade específica de interação (CEI), por meio do modelo IV de Griffing (1956) realizado no programa estatístico MAPGEN. Cada tratamento é uma combinação dos diferentes isolados e cultivares, conforme o modelo da Tabela 4.

As análises dialélicas foram realizadas conforme o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + r_i + a_j + s_{ij} + e_{ij}$$

em que:

Y_{ij} : severidade da doença exibida pelo i th hospedeiro quando inoculado com o j th isolado;

r_i : efeito da capacidade geral de reação do i th hospedeiro (RH);

a_j : efeito da capacidade geral de agressividade do j th isolado (AH);

s_{ij} : efeito da capacidade específica de reação do i th hospedeiro inoculado com o j th isolado (RV);

e_{ij} : erro experimental médio.

A análise de variância para o modelo de dialelo parcial, envolvendo as combinações isolados x hospedeiro, é apresentada na Tabela 5.

As estimativas da capacidade geral de reação, da capacidade geral de agressividade e da capacidade específica da interação foram testadas pelo teste de t Student ao nível de 5% de probabilidade, segundo as expressões apresentadas por Still e Torrie (1980).

TABELA 4 Modelo do dialelo parcial proposto por Melo & Santos (1999).

Isolados	Cultivares				Média
	Cultivar 1	Cultivar 2	...	Cultivar i	
Isolado1	Y11	Y12	...	Y1i	Y1.
Isolado2	Y21	Y22	...	Y2i	Y2.
.
.
.
Isolado j	Y.j1	Y.j2	...	Yji	Yj.
Média	Y.1	Y.2	...	Y.i	Y..

TABELA 5 Análise de variância para o modelo de dialelo parcial proposto por Melo & Santos.

F.V	GL	QM	F
Tratamentos	$(cn - 1)$	Q1	
CGR (RH)	$c-1$	Q2	Q2/Q5
CGA (AH)	$n-1$	Q3	Q3/Q5
CEI (RV)	$(c-1)(n-1)$	Q4	Q4/Q5
Erro Médio		Q5	

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da resistência genética das cultivares diferenciadoras de *P. vulgaris* ao *C. lindemuthianum*

Na Tabela 6 são apresentados os resultados obtidos na concentração de 10^6 esporos/mL, sendo esta semelhante à concentração normalmente utilizada para determinação de raças em *C. lindemuthianum*, comprovando que todos os isolados pertencem à raça 65 ($2^0 + 2^6$).

O resumo das análises de variância individuais e conjunta para a severidade da antracnose nas cultivares diferenciadoras inoculadas com seis isolados da raça 65 e em cinco concentrações está apresentado nas Tabelas 7 e 8, respectivamente.

Nas análises individuais observa-se que houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre as cultivares diferenciadoras para severidade da doença em todos os isolados e concentrações avaliadas, exceto na concentração 10^2 ; no entanto, para os isolados LV 58 e Cl 837, foi detectada diferença mesmo nesta concentração (Tabela 7).

A partir dos resultados obtidos das análises individuais foram realizadas análises conjuntas envolvendo todos os isolados nas concentrações de 10^5 e 10^6 esporos/mL. Nas demais concentrações foram excluídos os dados dos isolados que apresentaram a estimativa do quadrado médio do erro nula nas análises individuais (Tabela 8).

As estimativas dos coeficientes de variação (CV's) obtidas na análise conjunta em todas as concentrações foram semelhantes às estimativas obtidas por Marques Júnior (1997) para nota de antracnose (Tabela 8). Constatou-se que todas as fontes de variação foram estatisticamente significativas ($P \leq 0,05$), mesmo nas concentrações mais baixas. Para a interação diferenciadoras x isolados, observa-se que as cultivares diferenciadoras apresentaram comportamentos não coincidentes quando inoculadas com os diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*, em

todas as concentrações testadas. Este resultado pode ser explicado pelos diferentes alelos de resistência presentes em cada uma destas cultivares e indica que a reação de cada cultivar diferenciadora é específica a uma raça (isolado) particular, ou seja, a resistência é do tipo vertical e os isolados diferem quanto à virulência (Vanderplanck,1963). A diferença significativa entre os isolados da raça 65 sugeriu a ocorrência de diferentes graus de severidade quando estes foram inoculados no conjunto de cultivares diferenciadoras. No entanto, considerando o critério adotado para determinação de raças de *C. lindemuthianum*, todos os isolados foram classificados como pertencentes à raça 65, como já mencionado.

TABELA 6 Notas médias dos isolados de *C. lindemuthianum* inoculados no conjunto de cultivares diferenciadoras.

Cultivares	Isolados						Reação
	LV 29	LV 5'	LV 58	LV 6	CI 837	CI 844	
Michelite (2 ⁰)	7,31	8,3	9,00	9,00	6,20	6,74	S
MDRK (2 ¹)	1,5	1,5	1,00	2,07	1,50	1,06	R
Perry Marrow (2 ²)	1,31	1,13	1,07	1,76	1,63	1,61	R
Cornell 49242 (2 ³)	1,14	1,65	1,07	1,00	1,67	1,08	R
Widusa (2 ⁴)	2,5	2,5	2,19	1,33	2,65	1,63	R
Kaboon (2 ⁵)	1,44	1,67	1,00	2,05	1,6	1,69	R
Mexico 222 (2 ⁶)	7,14	8,91	9,00	9,00	7,9	8,12	S
PI 207262 (2 ⁷)	1,81	1,14	1,00	1,63	2,16	1,08	R
TO (2 ⁸)	1,00	1,21	1,69	2,28	1,60	1,12	R
TU (2 ⁹)	1,00	1,21	1,00	1,00	1,90	1,00	R
AB 136 (2 ¹⁰)	1,36	1,13	1,08	1,88	1,87	1,17	R
G2333 (2 ¹¹)	1,32	1,17	1,06	1,00	1,48	1,15	R

A partir das médias obtidas nas análises de variância para cada concentração do inóculo, foram realizadas análises dialélicas por meio do modelo IV de Griffing (1956), de acordo com a metodologia proposta por Melo & Santos (1999). Segundo estes autores, este método permite, de maneira simples, informar sobre a resistência vertical e horizontal dos hospedeiros e também sobre a agressividade e virulência dos patógenos.

TABELA 7 Resumo da análise individual para os dados de severidade da antracnose do feijoeiro das cultivares diferenciadoras, inoculadas com diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* em cinco concentrações (esporos/mL).

Isolados	FV	QM				
		10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
LV 29	Diferenc.	0,01	0,05**	0,07**	0,14**	0,74**
	Erro	0,00	0,00	0,00	0,03	0,02
LV 57	Diferenc.	0,02	0,21**	0,82**	0,92**	0,97**
	Erro	0,03	0,01	0,02	0,01	0,05
LV 58	Diferenc.	0,50**	0,34	1,00**	1,04**	1,15**
	Erro	0,01	0,17	0,02	0,02	0,01
LV 61	Diferenc.	0,00	0,89**	0,88**	1,22**	1,07**
	Erro	0,00	0,07	0,03	0,01	0,019
CI 837	Diferenc.	0,09**	0,39**	0,24**	0,54**	0,57**
	Erro	0,01	0,09	0,02	0,02	0,04
CI 844	Diferenc.	0,05	0,15*	0,44*	0,68**	0,80**
	Erro	0,06	0,05	0,16	0,05	0,02

** e * significativo a 1e 5 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

O resumo dos resultados da análise dialélica envolvendo as cultivares diferenciadoras e os isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* é apresentado na Tabela 9. Verifica-se que todas as fontes de variação foram significativas em todas as concentrações ($P < 0,05$). Analisando os desdobramentos para a fonte de variação cruzamento, observa-se que 92,6% da soma de quadrados totais da variação observada foram devidos à capacidade geral de reação (CGR) na concentração de 10^6 , o que indica a predominância da resistência horizontal. Resultados semelhantes foram obtidos nas concentrações 10^5 e 10^4 .

TABELA 8 Resumo da análise conjunta para os dados de severidade da antracnose do feijoeiro das cultivares diferenciadoras, inoculadas com diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* em cinco concentrações (esporos/mL).

FV	GL	QM				
		10^2	10^3	10^4	10^5	10^6
Diferenc. (D)	11	0,32**	1,47**	2,88**	3,99**	5,30**
Isolados (I)	5	0,94**	0,71**	0,14*	0,38*	0,22**
D X I	55	0,11**	0,13*	0,13**	0,11**	0,05**
Erro	66	0,03 ¹	0,08 ²	0,05 ²	0,03	0,03
Média		1,23	1,33	1,42	1,40	1,48
C.V (%)		14,08	21,27	15,75	12,37	11,70

¹ Grau de liberdade de isolados, da interação e do erro igual 3, 33 e 44, respectivamente.

² Grau de liberdade de isolados, da interação e do erro igual 4, 44 e 55, respectivamente.

** e * significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

TABELA 9 Resumo da análise de variância do esquema de dialelo parcial para severidade das cultivares diferenciadoras, inoculadas em quatro concentrações (esporos/mL).

FV	GL	QM			
		10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Cruzamento	71	0,28**	0,33**	0,37**	0,42**
CGR (RH)	11	0,47**	0,89**	1,99**	2,51**
CGA (AH)	5	0,37**	0,10**	0,19**	0,10**
CEI (RV)	55	0,22**	0,22**	0,06**	0,03*
Erro	66	0,04¹	0,03¹	0,02	0,02
Média		1,33	1,37	1,39	1,48

¹ Grau de liberdade de isolados, da interação e do erro igual 4, 44 e 55, respectivamente.

** e * significativo a 1e 5 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

No entanto, estes resultados devem ser considerados com cautela, pois, na realidade, os alelos de resistência vertical (RV) presentes nas cultivares diferenciadoras poderiam estar inflacionando as estimativas da CGR, já que estes se expressam principalmente nas concentrações mais elevadas. Esta observação torna-se evidente ao analisarmos os resultados obtidos na concentração mais baixa, 10³ esporos/mL. Neste caso, a maior parte da variação observada (58,6%) foi devida à capacidade específica de interação (CEI) que reflete a resistência vertical, indicando, provavelmente, que a estimativa da CGR não está inflacionada. Possivelmente, esse fato ocorreu devido a falhas na expressão dos sintomas da doença nas cultivares suscetíveis. A partir destas informações, depreende-se que uso do termo resistência horizontal não é apropriado para esta situação e sugere-se que o modelo utilizado sofra algumas alterações a fim de evitar o inflacionamento da RH.

As cultivares diferenciadoras diferiram quanto às estimativas da capacidade geral reação (CGR), como pode ser visto na Tabela 10. As cultivares TU, AB 136 e G2333 apresentaram-se entre as mais resistentes. Este resultado coincide com o encontrado na literatura, em que estas são freqüentemente citadas como possíveis

fontes de resistência a ser utilizadas em programas de melhoramento visando resistência à antracnose, devido à baixa frequência de isolados capazes de quebrar a resistência destas cultivares (Abreu et al., 1993; Pastor-Corrales et al., 1994; Balardin et al., 1997; González et al., 1998; Carbonell et al., 1999; Talamini et al., 2002; Talamini et al., 2004).

Como já esperado para a raça 65 de *C. lindemuthianum*, as cultivares Michelite e Mexico 222 foram as mais suscetíveis, ou seja, apresentaram as maiores estimativas para a capacidade geral de reação (g_i).

Estes resultados demonstram a sensibilidade do modelo, já que para um isolado ser identificado como pertencente à raça 65, deve causar reação de suscetibilidade, após a inoculação com uma alta concentração de esporos (10^6 esporos/mL), nas cultivares Michelite e Mexico 222 ($2^0 + 2^6 = 65$). Desta forma, constata-se que o uso da análise dialéctica possibilitou confirmar os resultados

TABELA 10 Estimativas da capacidade geral de reação (g_i) para severidade das cultivares diferenciadoras, inoculadas com diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*.

COMERCIAIS	CONCENTRAÇÕES (ESPOROS/ML)			
	10^3	10^4	10^5	10^6
MICHELITE	0,44*	0,70*	1,13*	1,30*
MDRK	-0,16	-0,13	-0,31*	-0,30*
PERRY MARROW	-0,18*	-0,24*	-0,19*	-0,30*
CORNELL 49242	-0,16	-0,25*	-0,34*	-0,37*
WIDUSA	0,11	-0,12*	0,07	0,16*
KABOON	-0,13	-0,18	-0,16*	-0,24*
MÉXICO 222	0,73*	1,01*	1,28*	1,40*
PI 207262	0,13	0,15*	-0,24*	-0,29*
TO	-0,08	-0,25*	-0,30*	-0,28*
TU	-0,26*	-0,17*	-0,25*	-0,40*
AB 136	-0,25*	-0,27*	-0,37*	-0,30*
G 2333	-0,20*	-0,27*	-0,32*	-0,37*

Significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste de t.

obtidos pela avaliação convencional, inclusive em concentrações bastante abaixo da recomendada.

É interessante salientar que a cultivar G2333 é uma importante fonte de resistência para as raças 73, 81, 89, encontradas com grande frequência no Estado de Minas Gerais, além de outras raças relevantes para o Brasil (Rava et al., 1994). O isolado G2333 possui o alelo de resistência *Co-4*², além dos alelos *Co-5*, *Co-7*, sendo vencido apenas por raças superiores a 2047, felizmente ainda não identificada no Brasil (Pereira, 2003).

As estimativas da capacidade geral de agressividade (CGA), as quais informam sobre a agressividade dos isolados, estão exibidas na Tabela 11. Verifica-se que os isolados CI 844, CI 837 e LV 61 foram os mais agressivos, respectivamente. O isolado LV 29 foi o que demonstrou menor agressividade entre os isolados da raça 65 avaliados. É necessário ressaltar que este não foi avaliado nas concentrações de 10^3 e 10^4 devido aos resultados obtidos nas análises de variância individuais.

Outro fator importante a ser considerado é a condição ambiental em que o isolado LV 29 foi avaliado. Após a retirada das bandejas da câmara úmida para a avaliação em casa de vegetação, houve predomínio de temperaturas amenas, próximas a 21° C, e umidade variando de 53,6 a 82,1% para os demais isolados. Apenas para o isolado LV 29, as bandejas permaneceram sob temperatura mais elevada (24° C) e baixa umidade relativa (54%) na casa de vegetação, após a saída da câmara de nebulização. É importante lembrar que este isolado apresentou-se como um dos menos agressivos, indicando que a temperatura elevada, associada à baixa umidade, podem ter influenciado na redução do progresso da doença.

As estimativas da capacidade específica da interação (CEI), ou seja, o nível de resistência vertical das cultivares diferenciadoras em relação à agressividade dos isolados em diferentes concentrações, estão apresentadas na Tabela 1A. A significância da CEI não indica, necessariamente, que todos os efeitos (s_{ij}) foram significativos.

TABELA 11 Estimativas da capacidade geral de agressividade, para severidade das cultivares diferenciadoras inoculadas com diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*, em quatro concentrações.

ISOLADOS	CONCENTRAÇÕES (ESPOROS/ML)			
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
LV 29	-	-	-0,24*	-0,05
LV 57	-0,13*	-0,12*	-0,02	-0,01
LV 58	-0,15*	-0,03	0,03	-0,07*
LV 61	-0,05*	-0,02	0,07*	0,16*
CI 837	0,10*	0,03	0,09*	0,06
CI 844	0,26*	0,13*	0,08*	-0,09*

*Significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste de t.

Nas Tabelas 12 e 13 são apresentados os isolados capazes e incapazes de quebrar a resistência vertical das cultivares diferenciadoras; ou seja, foram consideradas apenas estimativas de s_{ij} que diferiram de zero estatisticamente pelo teste de t. Observa-se que apenas as cultivares Michelite, Cornell 49242, Widusa, TU e G2333 apresentaram resistência vertical na concentração de 10⁶ e somente para os isolados LV 61, CI 837 e CI 844. É importante salientar que as cultivares Cornell 49242, TU e G2333 devem possuir os mesmos alelos de resistência vertical, pois o mesmo isolado (LV 61) quebrou a resistência destas cultivares na concentração de 10⁶. Nota-se que não houve uma boa concordância entre os resultados obtidos para s_{ij} nas diferentes concentrações.

TABELA 12 Isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* capazes de quebrar a resistência vertical das cultivares quando inoculados em quatro concentrações distintas.

CULTIVARES	CONCENTRAÇÕES (ESPOROS/ML)*			
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
MICHELITE	LV 57	LV 57, CI 844	LV 29, CI 837, CI 844	CI 837
MDRK	-	-	CI 844	-
PERRY	-	-	LV 61	-
MARROW				
CORNELL 4924	-	-	-	LV 61
WIDUSA	-	-	LV 57, CI 844	CI 844
KABOON	-	-	-	-
MEXICO 222	LV 57	LV 57	LV 29	-
PI 207262	LV 61, 837, CI 844	LV 58, LV 61	LV 61	-
TO	-	-	-	-
TU	-	-	-	LV 61
AB 136	-	-	-	-
G 2333	-	-	-	LV 61

TABELA 13 Isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* incapazes de quebrar a resistência vertical das cultivares quando inoculados em quatro concentrações distintas.

CULTIVARES	CONCENTRAÇÕES (ESPOROS/ML)			
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
MICHELITE	CI 837, CI 844	LV 58, LV 61, CI 837	LV57, LV 58, LV 61	LV 58
MDRK	-	LV 57	-	-
PERRY	-	-	LV 29, CI 844	-
MARROW				
CORNELL 4924	-	-	-	-
WIDUSA	CI 844	LV 58	LV 61	LV 61
KABOON	-	-	-	-
MEXICO 222	CI 837	LV 58, CI 837	LV 61	-
PI 207262	LV 57	LV 57	LV 29	-
TO	-	-	-	-
TU	LV 57	LV 57	CI 844	-
AB 136	-	-	-	-

4.2 Avaliação da resistência genética de cultivares comerciais de *P. vulgaris* ao *C. lindemuthianum*

Os resumos das análises de variância individuais e conjuntas para a severidade da antracnose nas cultivares comerciais, inoculadas com seis isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*, em cinco concentrações, estão apresentados nas Tabelas 14 e 15. Constatou-se, nas análises individuais, que houve diferenças significativas ($P \leq 0,05$) entre as cultivares comerciais para severidade da doença em todos os isolados, nas concentrações de 10^5 e 10^6 esporos/mL.

TABELA 14 Resumo da análise de variância individual para os dados de severidade da antracnose do feijoeiro das cultivares comerciais inoculadas em cinco concentrações (esporos/mL).

Isolados	FV	QM				
		10^2	10^3	10^4	10^5	10^6
LV 29	Comerciais	0,06*	0,04	0,07	0,54**	0,52*
	Erro	0,01	0,01	0,02	0,03	0,1
LV 57	Comerciais	0,01	0,15	1,38**	1,57**	1,37**
	Erro	0,01	0,05	0,02	0,01	0,02
LV 58	Comerciais	0,02	0,02	0,59*	1,01**	1,05**
	Erro	0,01	0,01	0,15	0,05	0,01
LV 61	Comerciais	0,00	0,19	1,58**	1,64**	1,69**
	Erro	0,00	0,11	0,04	0,01	0,01
CI 837	Comerciais	0,56*	0,92**	0,89*	0,51*	0,36**
	Erro	0,05	0,00	0,18	0,04	0,01
CI 844	Comerciais	0,04	0,42**	0,77**	0,07**	0,64**
	Erro	0,03	0,01	0,03	0,01	0,01

** e * significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

Apenas para o isolado LV 29 não foi detectada diferença na concentração de 10^4 esporos/mL. Entretanto, para o isolado CI 837 foi detectada diferença significativa, inclusive na concentração de 10^2 esporos/mL.

Assim como para as cultivares diferenciadoras, as análises conjuntas das cultivares comerciais foram realizadas a partir das estimativas obtidas das análises individuais, abrangendo todos os isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*, nas concentrações 10^4 , 10^5 e 10^6 . Nas concentrações de 10^2 e 10^3 foram eliminados os dados dos isolados que apresentaram estimativa do quadrado médio do erro nula nas análises individuais (Tabela 15).

Verificou-se que os efeitos das cultivares comerciais, dos isolados, com exceção na concentração de 10^2 esporos/mL, e da interação cultivares comerciais x isolados foram estatisticamente significativos ($P \leq 0,05$).

TABELA 15 Resumo da análise conjuntas para os dados de severidade da antracnose do feijoeiro das cultivares comerciais inoculadas em cinco concentrações (esporos/mL).

FV	GL	QM				
		10^2	10^3	10^4	10^5	10^6
Cultivares (C)	6	0,23**	1,03**	3,28**	4,90**	4,70**
Isolados (I)	5	0,08	0,33**	1,41**	1,40**	1,73**
C X I	30	0,09**	0,14*	0,029**	0,21**	0,19**
Erro	36	0,02¹	0,04¹	0,07	0,02	0,01
Média		1,24	1,20	1,63	1,80	1,79
C.V (%)		11,40	16,66	16,23	7,86	5,59

¹ Grau de liberdade de isolado, da interação e do erro igual 4, 24 e 30, respectivamente.

** e * significativo a 1e 5 %, respectivamente, pelo teste de F.

A diferença significativa entre os isolados de mesma raça propõe que ocorreram diferentes graus de severidade quando estes foram inoculados nas cultivares comerciais avaliadas. Já a interação cultivares comerciais x isolados indica que as cultivares apresentaram comportamentos não coincidentes quando inoculadas com os diferentes isolados testados, sugerindo haver predominância da resistência vertical, como relatado por Vanderplanck (1963).

As análises dialélicas foram efetuadas conforme a metodologia proposta por Melo & Santos (1999), a qual utiliza o modelo IV de Griffing (1956). Para isso, foram utilizadas as médias das análises de variância conjunta em todas as concentrações avaliadas (Tabela 16).

A partir dos resultados obtidos na análise dialélica, detectou-se que todas as fontes de variação, em todas as concentrações do inóculo, foram estatisticamente significativas ($P \leq 0,05$).

TABELA 16 Resumo da análise de variância do esquema de dialelo parcial para severidade das cultivares comerciais, inoculadas com diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* em cinco concentrações (esporos/mL).

FV	GL	QM				
		10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Cruzamento	41	0,11**	0,29**	0,47**	0,52**	0,52**
CGR	6	0,14**	0,25**	1,91**	2,45**	2,35**
CGA (AH)	5	0,40**	1,79**	0,71**	0,70**	0,86**
CEI (RV)	30	0,05**	0,05*	0,15**	0,10**	0,09*
Erro	36	0,01¹	0,02¹	0,035	0,01	0,005
Média		1,20	1,25	1,63	1,79	1,79

¹ Grau de liberdade de isolados, da interação e do erro igual 4, 24 e 34, respectivamente.

** e * significativo a 1e 5 %, respectivamente, pelo teste de F.

Verifica-se que houve predomínio da capacidade geral de reação (CGR), na concentração de 10^6 esporos/mL, correspondendo a 66,54% da soma de quadrados total da variação observada nos cruzamentos. Resultado semelhante foi obtido para as cultivares diferenciadoras e, da mesma forma como ocorreu nestas, é conveniente mencionar que os efeitos da RV estão inflacionando as estimativas obtidas da CGR.

Como pode ser verificado na Tabela 17, as cultivares comerciais diferiram quanto às estimativas da capacidade geral de reação (CGR). As cultivares Ouro Negro, Valente e OPNS-331 apresentaram-se entre as mais resistentes, enquanto Pérola e Rosinha foram as mais suscetíveis, em todas as concentrações avaliadas.

A capacidade geral de agressividade (CGA) revelou que o comportamento médio de cada isolado foi estatisticamente diferente quando estes foram inoculados nas cultivares comerciais. Chama a atenção o fato de este comportamento ter sido observado em todas as concentrações do inóculo (Tabela 18).

TABELA 17 Estimativas da capacidade geral de reação (gi) para severidade das cultivares comerciais, inoculadas com diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*.

CULTIVARES	CONCENTRAÇÕES (ESPOROS/ML)				
	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6
PÉROLA	0,25*	0,31*	0,75*	0,86*	0,78*
VALENTE	-0,17*	-0,20*	-0,34*	-0,45*	-0,47*
TALISMÃ	-0,08	-0,11	-0,22*	-0,19*	-0,17*
OURO NEGRO	-0,11*	-0,18*	-0,54*	-0,64*	-0,56*
ROSINHA	0,21*	0,40*	0,87*	0,96*	1,00*
OPNS-331	-0,01	-0,12	-0,28*	-0,32*	-0,38*
VC-3	-0,10*	-0,09	-0,25*	-0,22*	-0,20*

* significativo a 5 % de probabilidade pelo teste de t.

Da mesma forma como ocorreu para as cultivares diferenciadoras, os isolados CI 844 e CI 837 foram considerados os mais agressivos. As menores estimativas para a agressividade foram obtidas para os isolados LV 58 e LV 57, respectivamente. É conveniente salientar que o isolado LV 61 não foi avaliado na concentração 10^2 , enquanto o CI 837 não foi avaliado na concentração de 10^3 esporos/mL.

Torna-se necessário registrar a influência da interação patógeno-hospedeiro nestes resultados. Os isolados CI 837 e CI 844 foram coletados na cultivar Pérola, no ano 2000, em Buritis, Minas Gerais, sugerindo que esta diferença de agressividade se deve ao fato de este ser oriundo de uma região diferente região dos demais isolados. A cidade de Buritis está localizada no Alto Paranaíba de Minas, enquanto a maioria dos outros isolados foram coletados na região Sul do Estado.

Dentro da casa de vegetação, a umidade foi fornecida por meio de irrigação; porém, esta pode ter variado entre as inoculações de acordo com a temperatura e umidade externas.

TABELA 18 Estimativas da capacidade geral de agressividade (g_j) para severidade das cultivares comerciais, inoculadas com diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* em cinco concentrações.

CULTIVARES	CONCENTRAÇÕES (ESPOROS/ML)				
	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6
LV 29	-0,4*	0,00	-0,37*	0,00	-0,23*
LV 57	-0,19*	-0,04	-0,03	-0,16*	-0,26*
LV 58	-0,18*	-0,16*	-0,26*	-0,34*	-0,17*
LV 61	-	0,07	-0,06	-0,25*	-0,25*
CI 837	0,40*	-	0,24*	0,30*	0,45*
CI 844	0,01	-0,13*	0,48*	0,45*	0,46*

* significativo a 5 % de probabilidade pelo teste de t.

As maiores umidades verificadas fora da casa de vegetação foram observadas para os isolados CL 844 (82,1%), LV 57 (82,1%) e CI 837 (68,4%) nas cultivares diferenciadoras e CL 844 (78,1%) e CI 837 (61,8%) nas cultivares comerciais. Este resultado sugere que além da interação patógeno-hospedeiro, a umidade pode ter influenciado na classificação dos isolados quanto à agressividade.

Segundo Chaves (1980), a temperatura e umidade relativa ideais para o progresso da doença ocorrem entre 17 a 20°C e acima de 91%, respectivamente. A partir desta afirmação, depreende-se que as cultivares permaneceram sob condições próximas às ideais para a manifestação da antracnose do feijoeiro nas cultivares avaliadas.

Os isolados capazes e incapazes de quebrar a resistência vertical das cultivares comerciais estão apresentados nas Tabelas 19 e 20, respectivamente. Todas as sete cultivares comerciais avaliadas apresentaram sua resistência quebrada na concentração de 10^6 esporos/mL. As cultivares Pérola e Rosinha tiveram sua resistência quebrada em todas as concentrações. Cultivares como VC-3 e Talismã devem possuir os mesmos alelos de resistência, já que o isolado LV 61 foi capaz de quebrar a resistência destas cultivares na concentração de 10^6 esporos/mL. O mesmo ocorreu com outras cultivares na mesma concentração.

TABELA 19 Isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* capazes de quebrar a resistência vertical das cultivares quando inoculados em cinco concentrações distintas.

CULTIVARE	CONCENTRAÇÕES (ESPOROS/ML)				
	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
PÉROLA	LV 29, LV 57	LV 29	LV 29	LV 58	LV 58
VALENTE	CI 837	-	CI 844	CI 844	CI 844
TALISMÃ	CI 844	-	-	LV 57, LV 61	LV 57, LV 61
OURO	-	-	-	-	CI 844
NEGRO					
ROSINHA	LV 58, CI 844	LV 29	LV 29, CI 844	LV 29, CI 837, CI 844	LV 29, CI 837, CI 844
OPNS-331	-	-	-	-	LV 29
VC-3	CI 837	-	-	LV 57, LV 61	LV 58, LV 61

TABELA 20 Isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* incapazes de quebrar a resistência vertical das cultivares quando inoculados em cinco concentrações distintas.

CULTIVARE	CONCENTRAÇÕES (ESPOROS/ML)				
	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
PÉROLA	CI 837	CI 844	LV 61	LV 57, LV 61	LV 61
VALENTE	-	-	CI 837	CI 837	CI 837
TALISMÃ	LV 29	-	CI 844	LV 29, CI 844	LV 29, CI 844
OURO	-	-	-	-	-
ROSINHA	CI 837	LV 29	LV 57, LV 61	LV 57, LV 58, LV 61	LV 57, LV 58, LV 61
OPNS-331	-	-	LV 29		CI 837, CI 844
VC-3	CI 844	LV 29	LV 29, CI 844	CI 844	LV 29, CI 844

Na Tabela 21 é apresentada a reação das cultivares comerciais aos isolados da raça 65 utilizando o sistema tradicional de avaliação em *C. lindemuthianum*.

Fica evidente que as cultivares Pérola e Rosinha foram as mais suscetíveis em todas as concentrações, sendo que, na concentração de 10^6 esporos/mL, foi detectada a suscetibilidade destas cultivares a todos os isolados testados. Estes resultados confirmam a suscetibilidade já conhecida destas cultivares e demonstram o potencial para a utilização como testemunhas nos experimentos realizados com a raça 65. É de fundamental importância evitar o plantio das cultivares Pérola e Rosinha em áreas com ambiente favorável à disseminação do patógeno e/ou com histórico de antracnose.

Apenas o isolado Cl 837, na concentração de 10^2 esporos/mL, foi capaz de causar reação de suscetibilidade nas cultivares Pérola e Rosinha. Além das cultivares mencionadas acima, o isolado em questão também causou reação de suscetibilidade na concentração 10^6 nas cultivares Valente, Talismã, OPNS-331 e VC-3. Apenas a cultivar Ouro Negro foi resistente a este isolado.

TABELA 21 Cultivares comerciais que apresentaram reação de suscetibilidade após inoculação com os isolados da raça 65 de *C.lindemuthianum* em cinco concentrações distintas.

CULTIVARES	CONCENTRAÇÕES (ESPOROS/ML)				
	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6
PÉROLA	837	837, 844	57, 61, 837, 84	29, 57, 61, 837, 844	29, 57, 58, 61, 837, 844
VALENTE	-	-	-	-	837
TALISMÃ	-	-	-	29, 844	837, 844
OURO NEGRO	-	-	-	-	-
ROSINHA	837	837, 844	57, 61, 837, 84	29, 57, 58, 61, 837, 844	29, 57, 58, 61, 837, 844
OPNS-331	-	-	837	837, 844	837, 844
VC-3	-	-	-	844	837, 844

* os números apresentados na Tabela referem-se aos isolados utilizados neste experimento.

A resistência da cultivar Valente a diferentes raças de *C. lindemuthianum* foi testada por Sartorato et al. (2004). Entre as 19 raças avaliadas, esta cultivar foi resistente a 17 (incluindo a raça 65) e suscetível a apenas duas.

A cultivar Talismã, recomendada para o Estado de Minas Gerais, foi lançada como resistente às raças 65, 81 e 89 de *C. lindemuthianum*, freqüentes no Estado de Minas Gerais. Porém, no presente trabalho, foi possível observar que esta apresentou reação de suscetibilidade aos isolados CI 844 e CI 837 na concentração de 10^6 e aos isolados LV 29 e CI 844 na concentração de 10^5 esporos/mL. É interessante considerar que os isolados CI 837 e CI 844 foram obtidos em região geográfica diferente das regiões em que foram feitas as avaliações para a obtenção da cultivar Talismã, além de ser um isolado relativamente antigo. Estes fatos poderiam explicar a maior virulência destes isolados na cultivar Talismã.

A reação da cultivar Talismã a isolados da raça 65 foi avaliada em outras oportunidades. Cintra et al. (2005a) observaram reação de suscetibilidade, enquanto Souza et al. (2005) verificaram que esta cultivar apresentou comportamento de resistência.

As cultivares OPNS-331 e VC-3 tiveram reações semelhantes aos isolados da raça 65, diferindo apenas quanto ao isolado CI 837 nas concentrações de 10^5 e 10^6 esporos/mL. Para a maioria dos isolados, estas cultivares apresentaram reações de resistência. Estas cultivares também foram avaliadas quanto à resistência às raças 65, 81 e 2047 por Cintra et al. (2005b). O melhor comportamento em termos de resistência aos três isolados testados foi obtido pela linhagem OPNS-331. Porém, esta apresentou reação suscetível à raça 65. Ao contrário, a linhagem VC-3 foi resistente à raça 65, concordando com as nossas avaliações.

No presente trabalho, entre todas as cultivares comerciais avaliadas, a Ouro Negro foi a única a apresentar reação de resistência a todos os isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*. Estes dados discordam dos resultados comumente encontrados na literatura. Lanza et al. (1997) avaliaram as principais cultivares de feijoeiro comum recomendadas para o Estado de Minas Gerais quanto à resistência

à antracnose. A cultivar Ouro Negro foi resistente a seis das oito raças testadas, sendo apenas suscetível à raça 65 de *C. lindemuthianum*. Alzate-Marin et al. (2004) inocularam, na cultivar Ouro Negro, 19 raças de *C. lindemuthianum*, incluindo um isolado da raça 65, e este se apresentou suscetível.

Já Arruda et al. (2005) avaliaram 30 linhagens de feijão do tipo carioca quanto ao caráter reação à antracnose. Os autores puderam verificar que as linhagens VC-2, VC-3 e Talismã apresentaram comportamento resistente, enquanto as cultivares Ouro Negro e Pérola foram suscetíveis à raça 65 de *C. lindemuthianum*.

Em um estudo realizado por Souza et al. (2005) também pôde ser observada a segregação da reação à raça 65. Neste trabalho, isolados de diferentes raças de *C. lindemuthianum* foram avaliados fenotipicamente e por meio de marcadores moleculares. Cada isolado foi inoculado em 10 plantas da cultivar Talismã. A reação de resistência foi observada em oito (62%) das treze raças testadas. Especificamente para a raça 65, foram observadas reações de resistência e suscetibilidade de acordo com a cultivar inoculada. Em média, as cultivares Talismã e G2333 foram resistentes aos isolados da raça 65, enquanto a cultivar Rosinha foi suscetível.

A variabilidade genética dentro da raça 65 em âmbito molecular ficou evidente no trabalho conduzido por Silva (2004). A partir da análise de agrupamento obtida com marcadores RAPD para diferentes isolados pertencentes a diferentes raças de *C. lindemuthianum*, os isolados da raça 65 foram agrupados em dois grupos divergentes. É importante salientar que isto ocorreu tanto quando foram considerados os isolados de todo o Brasil, quanto na avaliação dos isolados apenas do Estado de Minas Gerais. Alzate-Marin et al. (2001a) também constataram variabilidade dentro da raça 65 utilizando marcadores de RAPD.

Pelos resultados obtidos no presente trabalho e pelos relatos da literatura, fica comprovada a existência de variabilidade dentro da raça 65. Isto pode ser constatado tanto pelos testes de patogenicidade considerando o sistema de determinação de raças de *C. lindemuthianum*, ou seja, com base na reação do

conjunto de 12 cultivares diferenciadoras recomendadas pelo CIAT (1990), como também em âmbito molecular. É importante enfatizar que a raça 65 é a mais amplamente distribuída no Brasil e a que apresenta maior estabilidade ao longo dos últimos 30 anos. Estes resultados têm implicações diretas nas estratégias a serem utilizadas nos programas de melhoramento visando a obtenção de cultivares com resistência duradoura à antracnose do feijoeiro. Com a existência de variabilidade dentro de raças será difícil obter linhagens com pirâmide de genes de resistência que sejam duradouras. Isto porque, no processo de obtenção destas linhagens, são realizadas inoculações artificiais que normalmente utilizam apenas um isolado por raça de *C. lindemuthianum*, e havendo variação dentro da raça os alelos de resistência incorporados não terão um espectro de resistência que cobrirá toda a variabilidade existente dentro das raças. Desta forma, uma alternativa viável seria a obtenção de multilinhas, a partir de linhagens com diferentes alelos de resistência, que possivelmente permitiriam uma resistência mais duradoura à antracnose do feijoeiro.

Fica também evidente que há necessidade da incorporação de novas cultivares diferenciadoras para melhor discriminação da variabilidade detectada dentro das raças de *Colletotrichum lindemuthianum*, principalmente no Brasil.

5 CONCLUSÕES

1. Não foi possível detectar a resistência horizontal no patossistema *C. lindemuthianum*-feijoeiro devido à presença de alelos de resistência vertical que inflacionaram as estimativas da CGR.
2. Constatou-se diferença na agressividade dos isolados da raça 65.
3. O conjunto de cultivares diferenciadoras para determinação de raças de *C. lindemuthianum* foi ineficiente para detectar a diferença apresentada dentro da raça 65; portanto, torna-se necessária a adição novas cultivares diferenciadoras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A. de F.B.; RAMALHO, M.A.P.; MENU, H.M.R. Identificação de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* do Sul e Alto Paranaíba de Minas Gerais. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., 1993, Londrina. **Resumos...** Londrina: IAPAR, Londrina, 1993. p.45.
- ALZATE-MARIN, A.L. et al. Inheritance of anthracnose resistance in common bean differential cultivar AB 136. **Plant disease**, St. Paul, v.81, p.996-998, 1997.
- ALZATE-MARIN, A.L. et al. Análises do DNA de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* e *Phaeoisariopsis griseola* visando identificação de patótipos. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.27, n.2, p.197-203, 2001a.
- ALZATE-MARIN, A.L. et al. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean differential cultivar G2333 and identification of a new molecular marker linked to the Co-4² gene. **Journal of Phytopathology**, v.149, n.5, p.259-264, 2001b.
- ALZATE-MARIN, A. L.; SARTORATO, A. Analysis of the pathogenic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* in Brasil. **Bean Improvement Cooperate**, v.47, p.241-242, Mar. 2004.
- ALZATE-MARIN, A. L. et al. Characterization of the anthracnose resistance gene present in OURO NEGRO (Honduras 35) common bean cultivar. **Euphytica**, v.133, p.163-169, Jan. 2004.
- ARRUDA, M.C.C. **Resistência do feijoeiro comum a antracnose: herança, identificação de marcadores moleculares e introgressão do gene Co-4 no cultivar Rudá**. 1998. 97p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- ARRUDA, M.C.C. et al. Caracterização fenotípica e molecular de linhagens de feijão tipo “carioca” quanto à resistência a patógenos. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., 2005, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: EMBRAPA, 2005. p.153-157.
- AUGUSTIN, E.; COSTA, J. G. C. da. Fontes de resistência a duas raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. no

melhoramento do feijoeiro no Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 6, p. 265-272, 1971.

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

BALARDIN, R.S.; JAROSZ, A.M.; KELLY, J.D. Virulence and molecular diversity in *Colletotrichum lindemuthianum* from South, Central, and North America. **Phytopathology**, St. Paul, v.87, n.12, p.1184-1191, Dec. 1997.

BALARDIN, R.S.; SMITH, J. J.; KELLY, J. Ribosomal DNA polymorphism in *Colletotrichum lindemuthianum*. **Mycological Research**, v.103, n.7, p.841-848, 1999.

BARRUS, M.F. Variation of varieties of bean in their susceptibility to anthracnose (Sacc. and Magn.) B. and C. **Phytopathology**, St. Paul, v.1, p.190-195, 1911.

BARRUS, M.F. Varietal susceptibility of beans to strains of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. And Magn.) B. and C. **Phytopathology**, St. Paul, v.8, p.589-614, 1918.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Princípios e conceitos. **Manual de fitopatologia**. 3^oed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.919.

BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2005. p. 969.

CARBONELL, S.A.M. et al. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de cultivares e linhagens de feijoeiro no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.1, p.60-65, 1999.

CENRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Informe Anual de 1988**: programa de frijol. Cali, 1990. p.128-129. (CIAT - Documento de Trabajo, 72).

CINTRA, J.E.V. Avaliação de linhagens de feijão do grupo carioca à *Colletotrichum lindemuthianum*, *Uromyces appendiculatus* e *Phaeoisariopsis griseola*, sob inoculação artificial. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., 2005, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: EMBRAPA, 2005a. p. 274-277.

CINTRA, J.E.V. et al. Avaliação de linhagens de feijão preto quanto à reação à antracnose, ferrugem e mancha angular, sob inoculação artificial. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., 2005, Goiânia. **Resumos...** Goiânia, EMBRAPA, 2005b. p.324-327.

CHAVES, G. La anthracnosis. In: SHUARTZ, H. F.; GALVEZ, G.E. (Ed.). **Problemas de produccion de fríjol**: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticos de *Phaseolus vulgaris*. Cali: CIATI, 1980. p.37-53.

CORNÉLIO, V.M.O. **Identificação de raças de *Pyricularia grisea* Sacc. no arroz de terras altas em Minas Gerais, incidência e severidade da Brusone e tipos de resistência.** 2001. 82p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FALEIRO, F. G. et al. Mapeamento de genes de resistência do feijoeiro a ferrugem, antracnose e macha angular usando marcadores RAPD. **Fitopatologia Barsileira**, v.28, p.59-66, 2003.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates by use differential cultivars. **Bean Improvement Cooperate**, v.47, p.243-244, Mar. 2004.

GONZÁLEZ, M. Characterization of Mexican isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* by using differential cultivars and molecular markers. **Phytopathology**, St. Paul, v.88, n.4, p.292-299, Apr. 1998.

GUZZO, S.D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix*.** 2004. 236p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura)-Universidade de São Paulo, Piracicaba.

HABGOOD, H. Designation of physiological races of plant pathogens. **Nature**, London, v.277, n.5264, p.1268-1269, 1970.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D.G. Response to plant pathogens. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W. JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants.** Rockvile: ASPP, 2000. p.1102-1156.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; PARKER, J.E. Deciphrring plant-pathogen communication: fresh perspectives for molecular resistance breeding. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.14, n.2, p.177-193, Apr. 2003.

- ISHIKAWA, F. H. et al. Levantamento de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* de regiões produtoras de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., 2005, Goiânia. **Resumos...** Goiânia, EMBRAPA, 2005. p.501-504.
- KELLY, J.D.; YOUNG, R.A. Proposed symbols for anthracnose resistance genes. **Annual Report Bean Improvement Cooperate**, v.39, p.20-24, 1996.
- KIMATI, H., AMORIM, L. BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. & REZENDE, J.A.M. 1997. **Manual de Fitopatologia**, Vol. II - Doenças das Plantas Cultivadas. 3a. Edição. Editora Agronômica Ceres Ltda, São Paulo. 774p.
- LANZA, M.A. et al. Resistência a antracnose em cultivares de feijoeiro comum recomendadas para Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.4, p.560-562, Dec. 1997.
- MACHADO J.C. Padrões de tolerância de patógenos associados a sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.2, p.229-263, 1994.
- MAHUKU, G.S.; RIASCOS, J.J. Virulence and molecular diversity within *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Anden and Mesoamerican bean varieties and regions. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.110, n.3, p.253-263, Mar. 2004.
- MARQUES JÚNIOR, O.G. **Eficiência de experimentos com a cultura do feijão**. 1997. 80p. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento de Plantas)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MELO, L.C.; SANTOS, J.B. dos. Identification of resistant genotypes considering polygenic systems in host-pathogen interaction. **Genetics and Molecular Biology**, v.22, n.4, p.601-608, 1999.
- MENDES-COSTA, M.C.; MENDONÇA, H.A. Morfologia, crescimento e produção de Conídios de *Colletotrichum lindemuthianum* em diferentes meios de cultura. **Ciência e Agrotecnologia**, v.20, n.4, p.475-479, 1996.
- MENEZES, J.R.; DIANESE, J.C. Race characterization of Brazilian isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* and detection of resistance to anthracnose in *Phaseolus vulgaris*. **Phytopathology**, v.78, p.650-655, 1988.

MESQUITA, A.G.G.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BARROS, E.G. de. Identification of races of *Colletotrichum lindemuthianum* with the aid of PCR- Based molecular markers. **Plant disease**, St. Paul, v.82, n.10, p.1084-1087, Oct. 1998.

NELSON, R.R. Genetics of horizontal resistance to plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, v.16, p.359-378, 1978.

NIETSCH, S. et al. RAPD and SCAR markers linked to a gene conferring resistance to angular leaf spot in common bean. **Journal of Phytopathology**, v.148, p.117-121, 2000.

OLIARI, L.; VIEIRA, C.; WILKINSON, R.E. Physiologic races of *Colletotrichum lindemuthianum* in the state of Minas Gerais, Brazil. **Plant Disease Report**, Beltsville, v.57, n.10, p.870-872, Oct. 1973.

OTOYA, M.M.; RESTREPO, S.; PASTOR-CORRALES, M. A. Amplificación al azar del ADN polimórfico para evaluar la diversidad genética de *Colletotrichum lindemuthianum* en Colombia. **Fitopatología Colombiana**, v.19, p.7-14, 1995.

PASTOR-CORRALES, M.A. **La antracnosis del frijol común, *Phaseolus vulgaris* en América Latina**. Cali: CIAT, 1992. p.86-108, (Doc de trabajo, 113).

PASTOR-CORRALES, M. A. et al. Inheritance of anthracnose in common bean accession G2333. **Plant Disease**, St. Paul, v.78, n.10, 959-962, Oct. 1994.

PEREIRA, H.S. **Seleção de linhagens de feijão tipo carioca com pirâmide de alelos de resistência à antracnose e outros fenótipos favoráveis**. 2003. 78p. Dissertação (Mestrado em Genética e melhoramento de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PIO-RIBEIRO, G.; CHAVES, G.M. Estudos sobre a variabilidade de isolados e culturas monospóricas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. **Experientiae**, Viçosa, v.19, n.14, p.59-71, fev. 1975.

RAVA, C.A. et al. Determinación de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* em Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.3, p.388-391, set.1993.

RAVA, C.A.; PURCHIO, A.F.; SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorreram em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, n.2, p.167-172, jun. 1994.

RAVA, A.C.; SARTORATO, A. Antracnose. In: RAVA, A.C.; SARTORATO, A. (Ed.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: EMBRAPA, 1994. p.17-40.

ROCA, M.M.G. **Aspectos citológicos da variabilidade genética em *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld & Schrenck f. sp. Phaseoli (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sac & Man) Scriber)**. 1997. 82p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

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

SARTORATO, A. et al. Bean Reactions to 24 pathotypes of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Bean Improvement Cooperate**, v.47, p.247-248, Mar. 2004.

SICARD, D. et al. Genetic diversity and pathogenic variation of *Colletotrichum lindemuthianum* in the three centers of diversity of its host, *Paseolus nulgaris*. **Phytopathology**, St. Paul, v.87, n.8, p.807-813, Aug. 1997a.

SICARD, D. et al. Genetic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* in wild population of common bean. **Plant Pathology**, v.46, p.355-365, 1997b.

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

SOMAVILLA, L.; PRESTES, A.M. Identificação de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* de algumas regiões produtoras de feijão do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.3, p.416-421, set. 1999.

SOUZA, T.L.P.S. et al. Phenotypic and molecular characterization of cultivar BRSMG-Talismã regarding the principal common bean pathogens. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.5, p.247-252, May 2005.

- SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and Anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. *Colletotrichum*: biology, pathology and control. Wallingford: CAB International/British Society for Plant Pathology, 1992. 388p.
- TALAMINI, V. et al. Identificação de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* de regiões produtoras de feijão-comum em Minas Geraes. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 7.; 2002, Viçosa. **Resumos...** Viçosa, UFV: 2002. p.187-189.
- TALAMINI, V. et al. Identificação de raças patogênicas de *Colletotrichum lindemuthianum* a partir de isolados provenientes de regiões produtoras de feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, v.30, p.371-375, 2004.
- THOMAZELLA, C. et al. Divergência genética entre e dentro de raças de *Colletotrichum lindemuthianum*, determinada por marcadores RAPD. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 7., 2002, Viçosa. **Resumos...** Viçosa, UFV: 2002. p.35-37.
- TU, J.C. Anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) on white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Southern Ontario; spread of the disease from an infection focus. **Plant Disease**, St. Paul, v.65, n.6, p.477-480, June 1981.
- VAILLANCOURT, L.J.; HANAU R.M. Nitrate-Nonutilizing Mutants Used to Study Heterokarysis and Vegetative Compatibility in *Glomerella gram Nicola* (*Colletotrichum gram Nicola*). **Experimental Micrological**, v.18, p.311-319, 1994.
- VANDERPLANK, J.E. **Plant disease: epidemics and control**. New York: Academic, 1963. 349p.
- VANDERPLANK, J.E. **Disease resistance in plants**. New York, Academic, 1968. 206p.
- VECHIATO, M.H.; KOHARA, E.Y.; MENTEN, J.O.M. Transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, v.23, p.265-268, 1997.
- VARZEA, V.M.P.; RODRIGUES JR., C.J.; SILVA, M.C.M.L. Resistência do Cafeeiro à antracnose-dos-frutos-verdes. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. 2002a. p.321-368.
- VARZEA, V.M.P.; RODRIGUES JR., C.J.; LEWIS, B.G. Distinguishing characteristics and vegetative compatibility of *Colletotrichum caraway* in

comparison with other related species from coffee. **Plant Pathology**, Oxford, v.51, n.2, p.202-207, 2002b.

VILARINHOS, A.D. et al. Characterization of races of *Colletotrichum lindemuthianum* by the random amplified polymorphic DNA technique. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, n.2, p.194-198, June 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**, Cambridge, v.95, p.1175-1193, 1969.

WALKER, J.C. **Enfermedades de las hortalizas**. Barcelona: Salvat, 1959. 624p.

WASILWA, W.A. et al. Re-examination of races the cucurbit anthracnose pathogen, *Colletotrichum orbiculare*. **Phytopathology**, St. Paul, v.83, n.11, p.1190-1198, 1993.

YOUNG, R.; KELLY, J.D. RAPD markers linked to three major anthracnose resistance genes in common bean. **Crop Science**, Madison, v.37, n.3, p.940-946, 1997.

ZAUMEYER, W.J.; THOMAS, H.R. **A monographic study of bean diseases and methods for their control**. Washington: USDA, 1957. 225p. (USDA. Bulletin, 869).

ZAUMEYER, W.J.; MEINERS, J. P. Disease resistance in beans. **Annual review of Phytopathology**, v.13, p.313-334, Sept. 1975.

ANEXOS

ANEXOS A

Páginas

Página

TABELA 1A	Estimativas da capacidade específica de interação (resistência vertical) resultante da interação entre cultivares diferenciadoras e diferentes isolados da raça 65 de <i>lindemuthianum</i>	55
TABELA 2A	Estimativas da capacidade específica de interação (resistência vertical) para severidade das cultivares comerciais inoculadas com diferentes isolados da raça 65 de <i>lindemuthianum</i>	57

TABELA 1A Estimativas da capacidade específica de interação (resistência vertical) resultante da interação entre cultivares diferenciadoras e diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*.

D/I	LV 29	LV 57	LV 58	LV 61	CI 837	CI 844
Concentração 10 ³						
Michelite	-	-1,64*	-0,16	0,19	1,04*	0,56*
MDRK	-	0,07	0,19	-0,03	-0,18	-0,05
Perry	-	0,30	0,01	-0,07	-0,20	-0,04
Marrow						
Cornell	-	0,05	-0,01	0,28	-0,26	-0,05
49242						
Widusa	-	-0,31	-0,16	-0,10	0,19	0,38*
Kaboon	-	0,25	-0,05	0,00	-0,13	-0,07
Mexico 222	-	-0,84*	0,19	0,29	0,50*	-0,15
PI 207262	-	1,63*	-0,28	-0,38*	-0,48*	-0,49*
TO	-	0,24	0,03	-0,14	-0,02	-0,07
TU	-	0,06	0,08	0,01	-0,17	0,03
AB 136	-	0,05	0,14	0,03	-0,05	-0,17
G 2333	-	0,14	0,02	-0,05	-0,22	0,12
Concentração 10 ⁴						
Michelite	-	-1,96*	0,50*	0,94*	0,67*	-0,16
MDRK	-	0,58*	-0,21	-0,23	-0,08	-0,06
Perry	-	-0,05	-0,10	-0,11	0,03	0,13
Marrow						
Cornell	-	0,18	-0,10	-0,11	-0,15	0,17
49242						

“TABELA 1A, Cont.”

		-0,03	0,35*	-0,04	-0,23	-0,04
Kaboon	-	0,02	-0,10	-0,06	“...continua...”	
Mexico 222	-	-0,78*	0,43*	0,14	0,37*	-0,15
PI 207262	-	1,25*	-0,49*	-0,20	-0,46*	-0,09
TO	-	0,20	-0,09	-0,10	0,01	-0,02
TU	-	0,33*	-0,17	-0,12	-0,16	0,11
AB 136	-	0,01	-0,08	-0,02	0,02	0,06
G 2333	-	0,13	0,06	-0,09	-0,07	-0,04
Concentração 10 ⁵						
Michelite	-0,64*	0,29*	0,44*	0,40*	-0,25*	-0,24*
MDRK	0,15	0,20	-0,12	-0,07	0,00	-0,17*
Perry	0,36*	0,06	-0,21	-0,25*	0,09	0,27*
Marrow						
Cornell	0,19	-0,01	-0,05	-0,13	0,14	-0,13
49242						
Widusa	-0,11	-0,24*	0,09	0,64*	-0,11	-0,26*
Kaboon	0,15	-0,16	-0,03	-0,08	-0,05	0,17
Mexico 222	-0,66*	0,17	0,14	0,22*	-0,01	0,14
PI 207262	0,25*	-0,14	0,07	-0,23*	-0,03	0,07
TO	0,15	0,00	-0,01	-0,11	0,02	-0,04
TU	0,10	-0,13	-0,18	-0,22	0,20	0,23*
AB 136	0,22	-0,01	-0,05	-0,10	0,00	-0,07
G 2333	0,17	-0,02	-0,1	-0,08	0,01	0,02
Concentração 10 ⁶						
Michelite	-0,03	0,11	0,30*	0,06	-0,35*	-0,10
MDRK	0,07	0,04	-0,11	0,09	-0,04	-0,07
Perry	0,01	-0,11	-0,07	-0,01	0,01	0,17

“TABELA 1A, Cont. “

Cornell 49242	0,00	0,18	-0,01	-0,28*	0,09	0,01
Widusa	-0,01	-0,12	-0,08	0,58*	-	“...continua...”
Kaboon	0,01	0,07	-0,17	0,01	-0,06	0,14
Mexico 222	-0,16	0,11	0,19	-0,05	-0,14	0,05
PI 207262	0,17	-0,11	-0,12	-0,08	-0,21	-0,07
TO	-0,15	-0,09	0,15	0,15	-0,01	-0,05
TU	-0,02	0,04	0,00	-0,23*	0,20	0,01
AB 136	0,03	0,12	-0,01	0,08	-0,02	-0,01
G 2333	0,08	-0,02	-0,01	-0,27*	0,04	0,19

* Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste de t.

TABELA 2A Estimativas da capacidade específica de interação (resistência vertical) resultante da interação entre cultivares comerciais inoculadas com diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* .

C/I	LV 29	LV 57	LV 58	LV 61	CI 837	CI 844
Concentração 10 ²						
Pérola	-0,26*	-0,18*	-0,04	-	0,53*	-0,05
Valente	0,02	0,12	-0,12	-	-0,20*	-0,02
Talismã	0,32*	0,03	0,03	-	0,03	-0,44*
Ouro negro	-0,08	0,07	0,06	-	0,01	-0,06
Rosinha	-0,04	-0,10	-0,18*	-	0,49*	-0,17*
OPNS-	0,17	0,00	-0,04	-	-0,16	0,03

“TABELA 2A, Cont”

			0,06	-	-0,23*	0,19*
Concentração 10 ³						
Pérola	-0,30*	-0,11	-0,25	0,19	-	“...continua...”
Valente	0,02	0,03	0,15	-0,08	-	-0,11
Talismã	0,19	0,01	0,09	-0,17	-	-0,11
Ouro	-0,03	0,01	0,13	0,02	-	-0,13
negro						
Rosinha	-0,39*	0,14	-0,22	0,31*	-	0,15
OPNS-	0,23	0,01	0,07	-0,16	-	-0,14
331						
VC-3	0,28*	-0,08	0,04	-0,10	-	-0,13
Concentração 10 ⁴						
Pérola	-0,84*	0,35	-0,19	0,39*	0,15	0,13
Valente	0,14	-0,12	0,05	0,03	0,47*	-0,58*
Talismã	0,17	-0,23	-0,09	-0,35	0,09	0,41*
Ouro	0,28	-0,06	0,20	-0,03	-0,23	-0,12
negro						
Rosinha	-0,64*	0,44*	0,11	0,56*	-0,01	-0,46*
OPNS-	0,43*	-0,10	0,02	-0,29	-0,22	0,16
331						
VC-3	0,45*	-0,28	-0,06	-0,31	-0,26	0,46*
Concentração 10 ⁵						
Pérola	-0,10	0,40*	-0,33*	0,33*	-0,08	-0,22
Valente	0,10	-0,08	0,08	-0,10	0,30*	-0,31*
Talismã	0,44*	-0,31*	-0,17	-0,36*	-0,03	0,42*
Ouro	-0,16	0,00	0,18	0,09	0,00	-0,11

“TABELA 2A, Cont.”

			0,45*	0,50*	-0,36*	-0,40*
OPNS-331	0,05	-0,09	-0,13	-0,19	0,17	0,20
VC-3	0,23	-0,29*	-0,08	-0,27*	-0,1	“...continua...”
Concentração 10 ⁶						
Pérola	-0,14	0,11	-0,16*	0,45*	-0,12	-0,14
Valente	0,11	-0,06	0,10	-0,08	0,23*	-0,30*
Talismã	0,38*	-0,35*	-0,12	-0,37*	0,06	0,40*
Ouro negro	0,00	0,04	-0,02	0,02	0,13	-0,16*
Rosinha	-0,40*	0,47*	0,38*	0,46*	-0,46*	-0,45*
OPNS-331	-0,18*	-0,08	-0,01	-0,14	0,17*	0,25*
VC-3	0,23*	-0,12	-0,16*	-0,34*	0,00	0,39*

* Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste de t.