



LARISSA CARVALHO COSTA

**CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DO
FEIJOEIRO A DIFERENTES ISOLADOS DA
RAÇA 65 DE *Colletotrichum lindemuthianum***

LAVRAS – MG

2015

LARISSA CARVALHO COSTA

**CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DO FEIJOEIRO A
DIFERENTES ISOLADOS DA RAÇA 65 DE *Colletotrichum*
*lindemuthianum***

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

Orientadora

Dra. Elaine Aparecida de Souza

LAVRAS - MG

2015

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Costa, Larissa Carvalho.

Controle genético da resistência do feijoeiro a diferentes
isolados da raça 65 de *Colletotrichum lindemuthianum* / Larissa
Carvalho Costa. – Lavras : UFLA, 2015.

73 p.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal
de Lavras, 2015.

Orientador(a): Elaine Aparecida de Souza.

Bibliografia.

1. *Colletotrichum lindemuthianum*. 2. Variabilidade dentro
da raça 65. 3. Melhoramento vegetal. 4. *Phaseolus vulgaris*. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

LARISSA CARVALHO COSTA

**CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DO FEIJOEIRO A
DIFERENTES ISOLADOS DA RAÇA 65 DE *Colletotrichum
lindemuthianum***

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

APROVADA em 27 de fevereiro de 2015.

Dra. Maria Celeste Gonçalves Vidigal	UEM
Dr. Magno Antonio Patto Ramalho	UFLA
Dr. João Bosco dos Santos	UFLA

Dra. Elaine Aparecida de Souza
Orientadora

LAVRAS – MG

2015

À Deus, por sempre guiar os meus passos, por ser a luz do meu caminho e pela Sua presença divina no mais íntimo do meu ser...

OFEREÇO

À minha mãe, Maria da Penha, que mesmo estando do outro lado do caminho, será para sempre a força que me impulsiona a seguir sempre em frente e a nunca desanimar...

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida e por todas as pessoas maravilhosas que Ele colocou em meu caminho. Pela Sua compaixão, Seu amor e Sua bondade infinita que sempre me sustentam nos momentos mais difíceis.

À minha mãe, Maria da Penha, pelo maior exemplo de força, fé e alegria e por ter deixado as melhores recordações em meu coração. À você, minha eterna gratidão e amor!

Ao meu querido pai, Valdir Antônio, pela confiança em mim depositada durante toda a minha vida, pelo cuidado e amor sem igual e por ser um exemplo de bondade, ética, humildade e honestidade.

Aos meus irmãos, Ivan e Karina, pela paciência, amizade e amor. Por acreditarem em mim, por sempre estarem do meu lado e por cada sorriso que eles me proporcionam todos os dias.

Ao Rafael, por ser a melhor pessoa que Deus poderia ter colocado em minha vida. Obrigada pelo cuidado, amor e carinho nos momentos em que eu mais precisei e por toda a ajuda, que foi essencial para a realização desse trabalho.

À todos os meus familiares e amigos pelo apoio, compreensão e carinho.

À professora e orientadora Dr^a. Elaine Aparecida de Souza pela confiança, incentivo e pelos ensinamentos transmitidos desde a minha graduação.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, César Brasil, João Bosco, João Candido, José Airton, Elaine e Magno Ramalho pelos conhecimentos transmitidos e pelo exemplo de profissionalismo e dedicação.

Aos colegas de pós-graduação, especialmente os meus queridos amigos, Jéssica Figueiredo, Lucas Fidelis, Juliana Andrade, Indalécio Cunha, Márcia

Leite e Carlos Henrique, pela amizade sincera e pelas longas manhãs, tardes e noites de estudo. Vocês fizeram com que essa trajetória fosse muito mais alegre e bem vivida.

Aos companheiros do Laboratório de Resistência de Plantas à doenças, Quelen, Mariana Junqueira, Rafael, Suellen, Samira, Paulinho, Lucas, Margot, Paula, Mariana Andrade, Luanna e Alex por toda ajuda durante a execução dos trabalhos, pela amizade, conselhos e pela harmoniosa convivência.

Aos laboratoristas Lamartine e Miller, pela ajuda, dedicação, capricho e disposição sempre que necessário.

As Secretárias do programa, Lílian, Rafaela e Zélia e as funcionárias, Dona Iron e Dú, pelo auxílio prestado em vários momentos.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de cursar o mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização de mais essa conquista em minha vida, o meu muito obrigada!

"Se o dinheiro for a sua esperança de independência, você jamais a terá.
A única segurança verdadeira consiste numa reserva de sabedoria, de
experiência e de competência." (Henry Ford)

RESUMO

A raça 65 do fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, agente etiológico da antracnose do feijoeiro, é uma raça amplamente distribuída no país, possuindo grande importância para os programas de melhoramento do feijoeiro que visam resistência à antracnose. Vários alelos de resistência de diferentes genes já foram identificados conferindo resistência à esta raça. No entanto, a variabilidade que tem sido detectada dentro de raça, tem dificultado a obtenção de cultivares com resistência durável, pois estas cultivares podem apresentar reações diferentes para cada isolado da raça 65. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo, estudar o controle genético da resistência de linhagens de feijoeiro à diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*. Para isso, foram utilizados seis isolados diferentes, previamente caracterizados como pertencentes à raça 65 por meio do conjunto internacional de cultivares diferenciadoras da antracnose do feijoeiro e nove cultivares comerciais, adaptadas às condições brasileiras de cultivo e que apresentam capacidade potencial para discriminar a variabilidade dentro desta raça. Para a obtenção de informações referentes ao controle genético da resistência das nove cultivares comerciais aos seis isolados da raça 65, estas foram cruzadas duas a duas em todas as combinações possíveis, obtendo-se 36 híbridos. As segregações observadas nas gerações F₂ de todos os cruzamentos revelaram a presença de 12 genes, sendo que, a resistência à cada isolado é condicionada por genes duplicados em que o alelo dominante confere resistência. Esses resultados indicam que a especificidade entre genes de resistência do hospedeiro e genes de avirulência do patógeno, vai além de raças, ela também se encontra, dentro de isolados de uma mesma raça. Futuros trabalhos poderão ser realizados com o objetivo de verificar se os genes identificados nessas cultivares são diferentes daqueles já descritos na literatura.

Palavras-chave: *Colletotrichum lindemuthianum*. Variabilidade dentro da raça 65. *Phaseolus vulgaris*. Melhoramento vegetal.

ABSTRACT

The race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum*, etiologic agent of anthracnose in common bean, is widely distributed in the country, presenting great importance in bean breeding programs aiming at anthracnose resistance. Many resistance alleles from different genes have been identified promoting resistance to this race. However, the variability detected within the race has made it difficult to obtain cultivars with durable resistance, given that these cultivars may present different reactions to each strain of the race 65. Therefore, this work aimed at studying the genetic control of common bean's lines for resistance to different strains of the race 65 of *C. lindemuthianum*. For this purpose, we used six different strains, previously characterized as belonging to the race 65 through the international set of differential cultivars of anthracnose, and nine commercial cultivars, adapted to Brazilian cultivating conditions and that present the potential capacity to discriminate the variability within this race. For obtaining information regarding the genetic control of resistance related to nine commercial cultivars to the six strains of the race 65, these cultivars were crossed two by two in all possible combinations, resulting in 36 hybrids. The segregations observed in the F₂ generations from all crossings revealed the presence of 12 genes, being that duplicated genes, in which the dominant allele promotes resistance, conditioned the resistance of each strain. These results indicate that the specificity between resistance genes of the host and pathogen virulence genes is not limited to races, it is also found within strains of the same race. Therefore, further research may be conducted in order to verify if the genes identified in these cultivars are different from those described in literature.

Keywords: *Colletotrichum lindemuthianum*. Variability within the race 65. *Phaseolus vulgaris*. Plant Breeding.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Cultivares diferenciadoras internacionais utilizadas para a caracterização de raças de <i>C. lindemuthianum</i> pelo sistema binário.....	21
Tabela 2	Fontes de resistência à antracnose e seus respectivos alelos de resistência	27
Tabela 3	Cultivares utilizadas por Ishikawa, Ramalho e Souza (2011) para discriminar a variabilidade dentro de isolados da raça 65 de <i>C. lindemuthianum</i>	31
Tabela 4	Isolados pertencentes à raça 65 de <i>C. lindemuthianum</i> utilizados neste trabalho	32
Tabela 5	Escala descritiva de notas para a avaliação da severidade da antracnose em plântulas de feijoeiro (SCHOONHOVEN; PASTOR-CORRALES, 1987).....	36
Tabela 6	Padrão de reação das doze cultivares comerciais de feijoeiro a cada isolado da raça 65 de <i>C. lindemuthianum</i> avaliado	38
Tabela 7	Reação das cultivares, da geração F ₁ , e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F ₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado CI 1740 (65.136).....	40
Tabela 8	Reação das cultivares, da geração F ₁ , e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F ₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado CI 1610 (65.168).....	42

Tabela 9	Reação das cultivares, da geração F ₁ , e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F ₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado LV 134 (65.135).....	44
Tabela 10	Reação das cultivares, da geração F ₁ , e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F ₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado CI 1614 (65.201).....	46
Tabela 11	Reação das cultivares, da geração F ₁ , e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F ₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado CI 1532 (65.152).....	48
Tabela 12	Reação das cultivares, da geração F ₁ , e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F ₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado LV 238 (65.218).....	50
Tabela 13	Genótipos e fenótipos das nove cultivares para os genes de resistência a cada isolado da raça 65 de <i>C. lindemuthianum</i>	52

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1	Cultura do feijoeiro.....	16
2.2	Antracnose do feijoeiro.....	17
2.3	Variabilidade patogênica de <i>C. lindemuthianum</i>	20
2.4	Variabilidade dentro da raça 65 de <i>C. lindemuthianum</i>	22
2.5	Resistência do feijoeiro à antracnose.....	24
2.5.1	Controle genético da resistência do feijoeiro à antracnose.....	26
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1	Local.....	30
3.2	Multiplicação das sementes das cultivares comerciais de feijoeiro.....	30
3.3	Isolados utilizados para avaliação da variabilidade patogênica dentro da raça 65 de <i>C. lindemuthianum</i>	31
3.4	Cultivares utilizadas para o estudo de herança e teste de alelismo.....	32
3.5	Obtenção das gerações F ₁ e F ₂	32
3.6	Avaliação das gerações F ₁ e F ₂ de cada cruzamento.....	33
3.6.1	Semeadura.....	33
3.6.2	Preparo das suspensões de conídios de <i>C. lindemuthianum</i> e inoculação.....	35
3.6.3	Avaliação das plantas das gerações F ₁ e F ₂	35
3.7	Análises estatísticas.....	36
4	RESULTADOS.....	37
4.1	Avaliação da variabilidade patogênica dentro de isolados da raça 65 de <i>C. lindemuthianum</i>	37
4.2	Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado CI 1740 da raça 65.136 de <i>C. lindemuthianum</i>	39
4.3	Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado CI 1610 da raça 65.168 de <i>C. lindemuthianum</i>	41
4.4	Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado LV 134 da raça 65.135 de <i>C. lindemuthianum</i>	43
4.5	Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado CI 1614 da raça 65.201 de <i>C. lindemuthianum</i>	45
4.6	Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado CI 1532 da raça 65.152 de <i>C. lindemuthianum</i>	47
4.7	Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado LV 238 da raça 65.218 de <i>C. lindemuthianum</i>	49
4.8	Genótipo das cultivares avaliadas e número de genes relacionados à resistência aos seis isolados.....	51
5	DISCUSSÃO.....	53

6	CONCLUSÃO	59
	REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma espécie amplamente cultivada, sobretudo nos países em desenvolvimento. No Brasil, além de ser um dos componentes básicos da dieta da população, a cultura tem grande importância socioeconômica, contribuindo para a geração de emprego e renda. No entanto, a ocorrência de fitopatógenos tem causado expressivos danos à cultura e consequente redução na produtividade. A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, é uma das principais doenças do feijoeiro, podendo causar perdas de até 100% se não for controlada adequadamente (MIKLAS et al., 2006; PAULA JÚNIOR; WENDLAND, 2012).

O controle da antracnose pode ser feito por meio de medidas culturais, químicas e genéticas, conduzidas de forma integrada e com caráter preventivo. Dentre essas medidas, a utilização de cultivares resistentes têm sido a forma mais eficaz e econômica de controle da antracnose (SARTORATO; RAVA, 1994). Contudo, a grande variabilidade patogênica do fungo, evidenciada pela grande quantidade de raças patogênicas já encontradas, têm dificultado o controle da doença por meio de cultivares com resistência durável (ISHIKAWA et al., 2005; PINTO et al., 2012; SARTORATO; RAVA, 1994).

Atualmente, mais de 100 raças fisiológicas já foram encontradas em todo o mundo, sendo que, no Brasil, as raças 65, 73, 81 e 89 tem sido as mais frequentes (PEREIRA et al., 2010; PINTO et al., 2012; SILVA; SOUZA; ISHIKAWA, 2007). Na literatura já foram relatados vários alelos de resistência à *C. lindemuthianum* oriundos de diferentes genes (*Co-1*, *Co-2*, *Co-3*, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6*, *Co-7/Co-3*, *co-8*, *Co-9/Co-3*³, *Co-10/Co-3*⁴, *Co-11*, *Co-12*, *Co-13*, *Co-14*, *Co-15*, *Co-16*, *Co-17Co-u*, *Co-v*, *Co-w*, *Co-x*, *Co-y* e *Co-z*) conferindo resistência à várias raças. Alelismo múltiplo também têm sido identificado nos locos *Co-1*, *Co-3*, *Co-4* e *Co-5* (CASTRO et al., 2014; COELHO et al., 2013;

GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2012; SINGH; SCHWARTZ, 2010). Entretanto, diante da grande variabilidade genética do fungo, torna-se essencial o monitoramento constante deste patógeno a fim de se obter novas fontes de resistência.

Outro complicador na obtenção de cultivares com resistência durável à antracnose é a variabilidade que tem sido detectada dentro de raças de *C. lindemuthianum* (CARBONELL et al., 1999; DAVIDE; SOUZA, 2009; ISHIKAWA; SOUZA; DAVIDE, 2008; SANTOS et al., 2008), indicando que o conjunto atual de cultivares diferenciadoras não têm discriminado as diferenças dentro das raças predominantes do Brasil. Para tentar contornar este problema, Ishikawa, Ramalho e Souza (2011), propuseram um conjunto de cultivares diferenciadoras capaz de discriminar a variabilidade dentro da raça 65. Esta raça tem sido relatada como estável e amplamente distribuída, possuindo grande importância para os programas de melhoramento genético do feijoeiro visando resistência à antracnose. Além da raça 65, esse conjunto de cultivares diferenciadoras também tem permitido identificar a variabilidade dentro da raça 81 de *C. lindemuthianum* (ISHIKAWA et al., 2012a). Vale ressaltar que essas cultivares, além de serem adaptadas às condições brasileiras de cultivo, são comercialmente disponíveis, o que facilita a sua utilização.

No entanto, não há informações sobre os genes presentes nessas cultivares e que conferem resistência à diferentes isolados da raça 65. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi estudar o controle genético da resistência do feijoeiro à diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*, utilizando as cultivares diferenciadoras da raça 65 propostas por Ishikawa, Ramalho e Souza (2011). Essas informações poderão auxiliar os melhoristas na escolha de estratégias adequadas em um programa de melhoramento visando resistência à antracnose, contribuindo assim, para o aumento da estabilidade e durabilidade da resistência das linhagens melhoradas do feijoeiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do feijoeiro

O feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos principais componentes da dieta da população brasileira. Os grãos são excelentes fontes de proteínas e minerais, além de serem ricos em carboidratos, ferro e possuírem elevados teores do aminoácido essencial lisina (PAULA JÚNIOR; ZAMBOLIM, 2006). Além do papel fundamental na alimentação, a cultura do feijoeiro apresenta grande importância socioeconômica, evidenciada pelo grande contingente de pequenos produtores envolvidos na sua produção, embora existam produtores de outras classes, cujo sistema de produção adotado, envolve alto nível tecnológico.

O Brasil é, atualmente, o segundo maior produtor mundial de feijão, com uma produção de 3,44 milhões de toneladas em uma área de 3,35 milhões de hectares no período de 2013/14 (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2015). O cultivo dessa leguminosa no país é concentrado em três épocas: A primeira safra, também chamada de “safra das águas”, a segunda safra ou “safra da seca” e a terceira safra, denominada “safra de outono-inverno”. Nesta última, sobretudo na região central do país, devido ao uso da irrigação e da adoção de tecnologias apropriadas, é que se tem obtido os maiores índices de produtividade (WANDER, 2014).

Inúmeros são os fatores que limitam o seu potencial produtivo, dentre os quais, destacam-se os problemas fitossanitários, que provocam expressivas perdas na cadeia produtiva do feijão (BARBOSA; GONZAGA, 2012). Deve-se salientar que as doenças fúngicas constituem um dos principais fatores bióticos que afetam a produtividade de grãos do feijoeiro no país. Dessa forma, um dos objetivos de um programa de melhoramento é a obtenção de cultivares

resistentes à essas doenças, a fim de se reduzir as perdas de produção e minimizar a utilização de defensivos agrícolas (MIKLAS et al., 2006).

2.2 Antracnose do feijoeiro

A antracnose do feijoeiro, cujo agente etiológico é o fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara, é uma das principais doenças da cultura, sendo amplamente difundida em todos os continentes onde o feijoeiro é cultivado (MELOTTO; BALARDIN; KELLY, 2000). Os danos causados pela doença depreciam a qualidade dos grãos e das vagens e as perdas podem chegar a 100% quando são utilizadas sementes infectadas e cultivares suscetíveis sob condições ambientais favoráveis ao patógeno (PAULA JÚNIOR; ZAMBOLIM, 2006; SINGH; SCHWARTZ, 2010).

Embora seja uma doença de caráter cosmopolita, apresenta maiores índices de ocorrência em regiões tropicais e subtropicais, com temperaturas amenas, entre 13 e 27°C, associadas à alta umidade relativa do ar (KIMATI et al., 1997; SCHWARTZ; PASTOR-CORRALES, 1989). Segundo Crispín, Sifuentes e Avila (1976), temperaturas superiores a 30°C ou inferiores a 13°C, limitam tanto a infecção como o desenvolvimento do fungo. No Brasil, a doença ocorre na maioria dos estados produtores, sobretudo em Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (VIEIRA, 2005).

A disseminação do patógeno ocorre a longas distâncias, por meio de sementes contaminadas, ou a curtas distâncias, por meio de respingos de chuva, insetos, animais, pela ação do homem e por implementos agrícolas que entram em contato com as plantas infectadas (BARBOSA; GONZAGA, 2012; VIEIRA; VIEIRA; RAMOS, 1993). Além disso, o fungo pode sobreviver de uma safra a outra como micélio dormente no interior do tegumento das sementes ou em

restos culturais (PAULA JÚNIOR; ZAMBOLIM, 2006; SARTORATO; RAVA, 1994).

A doença pode manifestar-se em qualquer órgão da parte aérea da planta, dependendo da intensidade da doença. Lesões marrom-escuras ou negras surgem nos cotilédones, em decorrência da transmissão da doença pelas sementes. As lesões no pecíolo e no caule são normalmente ovaladas, deprimidas e escuras. Nas folhas, os sintomas mais característicos iniciam na face abaxial, como escurecimento ao longo das nervuras. Em ataques mais severos, as lesões estendem-se ao limbo foliar, resultando em necrose de parte do tecido vegetal (CHAVES, 1980; SCHWARTZ; PASTOR-CORRALES, 2005). Nas vagens, as lesões são circulares, deprimidas, de coloração marrom, com os bordos escuros e salientes, delimitados por um anel pardo-avermelhado. Sob condições favoráveis observa-se esporulação rosada no centro das lesões (KIMATI et al., 1997; SARTORATO; RAVA, 1994). A antracnose pode ocorrer em qualquer estágio fenológico da planta, no entanto, quanto mais precoce for o aparecimento da doença na lavoura, maiores serão as perdas na produção.

O processo infeccioso inicia-se a partir da germinação dos conídios, que ocorre após um período de 6 a 9 horas sob condições favoráveis. O tubo germinativo sofre, então, uma complexa diferenciação em sua extremidade livre, formando um apressório, o qual se adere à superfície vegetal, sendo essencial para a penetração, que ocorre mecanicamente pela cutícula e epiderme do hospedeiro (O'CONNELL; BAILEY; RICHMOND, 1985; PERFECT et al., 1999; WHARTON; JULIAN; O'CONNELL, 2001) Após a penetração, o patógeno apresenta duas fases de infecção: uma fase inicial, biotrófica e uma fase secundária, necrotrófica. Na fase biotrófica, as hifas crescem intracelularmente e o patógeno se estabelece no hospedeiro. Na fase necrotrófica, hifas secundárias de diâmetro variável são formadas e se ramificam

intra e extracelularmente, rompendo rapidamente as células do vegetal. É nessa última fase que são observados os sintomas macroscópicos da doença descritos anteriormente. Esta forma de infecção caracteriza o fungo *C. lindemuthianum* como patógeno hemibiotrófico (PERFECT; GREEN; O'CONNELL, 2001; WHARTON; JULIAN; O'CONNELL, 2001).

Estudos de análise temporal de ocorrência de doenças têm demonstrado que a antracnose ocorre com maior intensidade no plantio das águas, isso porque o alto índice pluviométrico inerente a esse período forma um microclima favorável para o desenvolvimento do patógeno (LOBO JÚNIOR, 2014; PINTO et al., 2001).

O controle da antracnose pode ser realizado a partir da adoção de uma série de práticas culturais, a exemplo da rotação de culturas com plantas não hospedeiras, uso de sementes certificadas e livres do patógeno, eliminação dos restos culturais e utilização adequada de densidade de semeadura. A utilização de produtos químicos também pode propiciar um bom controle da doença, todavia, o uso frequente de fungicidas contribui para elevar o custo de produção, além de ser nocivos à saúde humana e ao meio ambiente (SARTORATO; RAVA; RIOS, 1996). Assim, a utilização de cultivares resistentes às principais raças que ocorrem na região tem sido o método mais eficiente e econômico de controle da doença.

Gepts (1988) e Pastor-Corrales (1996) relataram a existência de uma co-evolução entre a origem geográfica do *C. lindemuthianum* e a de seu hospedeiro. Esse fato sugere que a transferência de alelos de resistência entre conjuntos gênicos, andinos e mesoamericanos, também pode proporcionar resistência mais durável à antracnose (BALARDIN; KELLY, 1998; CHIORATO et al., 2006; MIKLAS et al., 2006).

2.3 Variabilidade patogênica de *C. lindemuthianum*

Embora o uso de cultivares resistentes, seja eficiente, o fungo possui uma ampla variabilidade patogênica, o que dificulta o emprego da resistência genética ao patógeno. Tal variabilidade pode ser devida à ocorrência de mutações, as quais modulam a variação genética de forma aleatória e a diversos outros mecanismos, como a recombinação sexual, parassexualidade, elementos transponíveis, anastomose entre hifas (GUTTMAN; MCHARDY; SCHULZE-LEFERT, 2014; SARTORATO; RAVA, 1994) e também, tubos de anastomose entre conídios (*Conidial Anastomosis Tubes* – CATs) (ISHIKAWA et al., 2012b; ROCA et al., 2005).

Os primeiros estudos a respeito dessa variabilidade foram realizados por Barrus (1911, 1918), que identificou duas raças distintas do patógeno ao observar que cultivares de feijão comportavam-se de formas diferentes quando inoculadas com isolados de *C. lindemuthianum* obtidos de diferentes regiões produtoras. Essas raças foram denominadas Alfa e Beta. Posteriormente, várias outras raças foram identificadas em todo o mundo, as quais foram inicialmente classificadas em grupos de raças denominados Alfa, Beta, Gama, Delta, Mexicano I, Mexicano II, Brasileiro I, Brasileiro II (CARBONELL et al., 1999). Kimati (1966), utilizando isolados coletados no estado de São Paulo, realizou o primeiro trabalho de identificação de raças no Brasil. Neste trabalho foram identificadas duas raças, as quais pertenciam aos grupos Alfa Mexicano II e Delta. Contudo, a metodologia utilizada nesses trabalhos, nem sempre foram as mesmas, variando tanto no conjunto de cultivares diferenciadoras utilizado, quanto na nomenclatura para designação das raças.

Com o objetivo de padronizar a nomenclatura das raças e facilitar o intercâmbio de informações entre pesquisadores de diferentes regiões do mundo, foi aprovado na Primeira Reunião Latino Americana da Antracnose do Feijoeiro,

realizada no CIAT (Cali, Colômbia), um conjunto de 12 cultivares diferenciadoras proposto por Pastor-Corrales (1991) para classificar as raças de *C. lindemuthianum* utilizando o sistema binário apresentado por Habgood (1970). Esse sistema consiste na inoculação do patógeno em um conjunto de cultivares diferenciadoras em uma ordem pré-estabelecida. À cada cultivar atribui-se um valor binário e por meio do somatório dos valores binários das cultivares que apresentarem reação de susceptibilidade ao isolado inoculado, é determinada a raça, de forma que o nome da raça é um número. Na Tabela 1 constam as 12 cultivares diferenciadoras internacionais propostas por Pastor-Corrales (1991) para a caracterização das raças de *C. lindemuthianum*. Destas, quatro são de origem andina e oito são de origem mesoamericana. Atualmente, mais de 100 raças já foram identificadas em todo o mundo por meio desse sistema (FERREIRA et al., 2008; MAHUKU; RIASCOS, 2004; PINTO et al., 2012; SILVA; SOUZA; ISHIKAWA, 2007).

Tabela 1 Cultivares diferenciadoras internacionais utilizadas para a caracterização de raças de *C. lindemuthianum* pelo sistema binário

Cultivares Diferenciadoras	Alelos de Resistência	Valor Binário	Origem das cultivares
1. Michelite	Co-11	2 ⁰	Mesoamericana
2. MDRK ¹	Co-1	2 ¹	Andina
3. Perry Marrow	Co-1 ³	2 ²	Andina
4. Cornell 49-242	Co-2	2 ³	Mesoamericana
5. Widusa	Co-1 ⁵	2 ⁴	Andina
6. Kaboon	Co-1 ²	2 ⁵	Andina
7. México 222	Co-3	2 ⁶	Mesoamericana
8. PI 207.262	Co-4 ³ , Co-9/Co-3 ³	2 ⁷	Mesoamericana
9. TO	Co-4	2 ⁸	Mesoamericana
10. TU	Co-5	2 ⁹	Mesoamericana
11. AB 136	Co-6, Co-8	2 ¹⁰	Mesoamericana
12. G2333	Co-4 ² , Co-5 ² Co-7/Co-3	2 ¹¹	Mesoamericana

¹MDRK - Michigan Dark Red Kidney

*Nas cultivares, PI 207.262, AB 136 e G2333 os valores binários são relativos aos alelos, Co-3³, Co-6 e Co-4² respectivamente.

Diante dessa grande variabilidade, é importante realizar o monitoramento constante das raças patogênicas prevalentes em cada região produtora, bem como, a avaliação de acessos de germoplasma de feijoeiro às principais raças encontradas no país e dessa forma, auxiliar os programas de melhoramento que visam obter cultivares resistentes à antracnose (BARCELOS et al., 2013; PAULA JÚNIOR; WENDLAND, 2012; SARTORATO; RAVA, 1994). Balardin, Jarosz e Kelly (1997) observaram que algumas raças do patógeno são restritas a alguns países, enquanto outras raças podem ser encontradas em praticamente todas as regiões geográficas.

No Brasil, há um predomínio de raças mais simples, enquanto que em outros países, como México e EUA, por exemplo, são encontradas raças mais complexas, como 264, 320, 1608, 1545. Isso pode ser devido ao uso de germoplasma diferente e às distintas práticas agrícolas e manejo de cada região (GONZÁLEZ et al., 1998).

Silva, Souza e Ishikawa (2007) realizaram um estudo de levantamento de raças no Estado de Minas Gerais e verificaram que as raças 65, 73 e 81, foram as mais frequentes, com destaque para a raça 65, com maior índice de ocorrência há mais de três décadas (CARBONELL et al., 1999; ISHIKAWA et al., 2005; PINTO et al., 2012; SARTORATO; RAVA, 1994).

2.4 Variabilidade dentro da raça 65 de *C. lindemuthianum*

A raça 65 de *C. lindemuthianum* têm sido relatada como uma raça estável e amplamente distribuída, possuindo grande importância para os programas de melhoramento genético do feijoeiro visando resistência à antracnose. No entanto, tem-se observado uma grande variação quanto à patogenicidade quando diferentes isolados pertencentes à raça 65 são inoculados em outras cultivares, evidenciando variabilidade dentro de raça. Davide e Souza

(2009) inoculando seis isolados da raça 65 em sete cultivares comerciais de feijão, observaram que houve diferença significativa na virulência dos isolados utilizados. Alzate-Marin et al. (2007) verificaram que a cultivar BAT 93 apresentou-se resistente à raça 65. Porém, em trabalhos anteriores, Gonçalves-Vidigal e Kelly (2006) utilizando outro isolado classificado como raça 65, observaram que esta mesma cultivar foi suscetível ao isolado utilizado. Esses resultados indicam que existem raças que não podem ser detectadas pelo conjunto internacional de cultivares diferenciadoras atual, ou seja, este é ineficiente para detectar as diferenças dentro de raça.

Diante da grande variabilidade que tem sido observada dentro da raça 65 de *C. lindemuthianum*, Ishikawa, Ramalho e Souza (2011) propuseram um novo conjunto de cultivares diferenciadoras, capaz de discriminar a variabilidade existente dentro desta raça. Essas cultivares poderiam ser utilizadas como complementares ao conjunto internacional de cultivares diferenciadoras proposto por Pastor-Corrales (1991) e assim, proporcionar uma melhor caracterização da raça 65 de *C. lindemuthianum*. Nesse trabalho foram utilizadas 12 cultivares de feijoeiro comercialmente disponíveis e adaptadas às condições brasileiras de cultivo e 12 isolados de *C. lindemuthianum* previamente testados no conjunto de Pastor Corrales (1991) e caracterizados como pertencentes à raça 65.

Após a inoculação das 12 cultivares comerciais com cada um dos 12 isolados de *C. lindemuthianum*, verificou-se que estes apresentaram diferentes espectros de virulência nas cultivares avaliadas e estas, por sua vez, também apresentaram diferentes padrões de reação aos isolados utilizados. Dessa forma, as cultivares sugeridas e seus respectivos valores binários foram: Estilo (2^0), Majestoso (2^1), Supremo (2^2), União (2^3), Valente (2^4), Ouro Vermelho (2^5), Madrepérola (2^6) e Talismã (2^7). Os 12 isolados utilizados foram então, reclassificados de acordo com esse novo conjunto de diferenciadoras. Por

exemplo, o isolado LV117 foi classificado como raça 65.9 pois causou reação de susceptibilidade nas cultivares Estilo e União ($2^0 + 2^3 = 9$) e o isolado LV120 foi classificado como raça 65.15, pois causou reação de susceptibilidade nas cultivares Estilo, Majestoso, Supremo e União ($2^0 + 2^1 + 2^2 + 2^3 = 15$). Vale ressaltar que todas essas cultivares são comercialmente disponíveis, o que facilita a sua utilização. Posteriormente, Ishikawa et al. (2012) realizaram outro estudo com essas 12 cultivares e verificaram que estas também poderiam discriminar a variabilidade dentro da raça 81 de *C. lindemuthianum*. A adoção desse sistema complementar poderá discriminar melhor a variabilidade existente dentro de raças regionalmente importantes, permitindo que o pesquisador escolha aqueles isolados mais virulentos durante a avaliação na busca por resistência durável (ISHIKAWA; RAMALHO; SOUZA, 2011).

Evidências em nível molecular da variabilidade dentro de isolados da raça 65 também têm sido relatadas na literatura. Ishikawa, Souza e Davide (2008) utilizando 13 isolados da raça 65, verificaram por meio de marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) grande variabilidade dentro de isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*. Porém, como esses marcadores não estão ligados a genes de virulência, essa divergência molecular não pode ser associada a diferenças na patogenicidade.

2.5 Resistência do feijoeiro à antracnose

Para que a doença ocorra, é necessário a perfeita interação entre o patógeno, o hospedeiro e o ambiente. A teoria gene-a-gene proposta por Flor (1956, 1971) demonstrou a relação existente entre os sistemas gênicos do hospedeiro e do patógeno, em que, para cada alelo que condiciona resistência no hospedeiro, existe um alelo complementar no patógeno que condiciona a virulência. Molecularmente, tem sido constatado que os alelos de resistência

codificam proteínas de resistência que atuam de duas formas diferentes no hospedeiro. Essas proteínas podem funcionar extracelularmente como sensores, detectando a presença do patógeno e ativando rapidamente os mecanismos de defesa da planta, ou podem ser encontradas no meio intracelular, onde são ativadas pelos produtos de avirulência dos patógenos, os efetores. A interação entre a proteína efetora do patógeno e a proteína de resistência do hospedeiro culmina em uma reação de hipersensibilidade, o que impede a colonização pelo patógeno (DANGL, 2013; STERGIOPOULOS; DE WIT, 2009; ZHANG; LUBBERSTEDT; XU, 2013).

Vanderplank (1963) diferencia a resistência genética de acordo com a sua efetividade contra raças do patógeno, em resistência vertical e horizontal. A resistência vertical é caracterizada pela especificidade às raças do patógeno. Ao passo que, a resistência horizontal, é efetiva contra todas as raças do patógeno, possuindo assim, maior durabilidade. Davide e Souza (2009) avaliaram a resistência genética de cultivares de feijoeiro a diferentes isolados da raça 65 por meio da análise dialélica descrita por Melo e Santos (1999) e detectaram principalmente a resistência vertical no patossistema *C. lindemuthianum*.

A resistência vertical, ou qualitativa, é controlada por um ou poucos genes, sendo os alelos responsáveis pela resistência, geralmente dominantes (ROBINSON, 1971). Em várias oportunidades, o controle genético da antracnose tem sido estudado e vários genes de efeitos independentes já foram identificados, tornando viável o emprego da resistência como medida de controle da doença (GEFFROY et al., 2008; KELLY; YOUNG, 1996).

Kelly e Young (1996), com o intuito de facilitar a identificação dos genes de resistência, apresentaram uma nomenclatura utilizando o símbolo *Co* (*Colletotrichum*) para se referir aos genes de resistência à antracnose. Marcadores moleculares fortemente associados à estes genes também têm sido frequentemente identificados (FERREIRA; CAMPA; KELLY, 2013; SOUSA et

al., 2014). Atualmente, sete genes de resistência à antracnose já foram mapeados e integram o mapa de ligação do feijoeiro. Os locos mapeados são: Loco *Co-1*, *Co-x* e *Co-w* localizados no grupo de ligação Pv01; loco *Co-2*, no Pv11; loco *Co-3*, *Co-9*, *Co-y*, *Co-z* e *Co-10* no Pv04; loco *Co-4*, no Pv08; loco *Co-5*, *Co-6* e *Co-v* no Pv07; loco *Co-13* no Pv03 e loco *Co-u*, no Pv02 (CAMPA et al., 2014). O mapeamento desses genes revelou que alguns destes estão organizados em blocos (clusters), nos quais, genes individuais conferem resistência à uma raça específica (FERREIRA; CAMPA; KELLY, 2013; KELLY; VALLEJO, 2004).

2.5.1 Controle genético da resistência do feijoeiro à antracnose

O primeiro estudo de herança da resistência do feijoeiro à antracnose foi realizado por Burkholder (1918). Esse trabalho consistiu em avaliar a resistência à antracnose das plantas da população F₂ derivada do cruzamento entre a cultivar White Marrow (resistente à raça alpha) e Well's Red Kidney (suscetível à raça alpha). A segregação observada foi de 362 plantas resistentes e 111 suscetíveis, sugerindo controle monogênico com alelo dominante envolvido na resistência. Posteriormente, o referido alelo, hoje denominado *Co-1*, foi identificado na cultivar Michigan Dark Red Kidney por McRostie (1919). A partir de então, vários alelos de resistência de diferentes genes já foram identificados em diferentes cultivares, conferindo resistência à várias raças (Tabela 2). Na maioria dos casos, a resistência é conferida por um alelo dominante, apenas o alelo *co-8*, identificado na cultivar diferenciadora mesoamericana AB 136, para a raça 73, confere resistência recessiva (ALZATE-MARIN et al., 1997). No entanto, em estudos de herança posteriores, onde a cultivar AB 136 foi utilizada como parental, não se teve evidências de resistência recessiva (GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2001; POLETINE et al., 2000).

Outros estudos têm sido realizados com o objetivo de verificar se determinados alelos de resistência de diferentes genes são realmente independentes daqueles anteriormente descritos na literatura. Lima, Santos e Ramalho (2008) relataram que o alelo *Co-7*, identificado na cultivar G2333, e o alelo *Co-3*, identificado na cultivar México 222, são, na verdade, o mesmo alelo. Méndez-Vigo et al. (2005) também relataram que o alelo *Co-9*, identificado por Geffroy et al. (1999), é, na verdade, um alelo do gene *Co-3* e este deveria ser renomeado *Co-3*³. Gonçalves-Vidigal et al. (2013) verificaram por meio de marcadores moleculares, ligação entre os genes *Co-3*, *Co-9* e *Co-10*, sugerindo que este último deveria ser renomeado *Co-3*⁴.

Tabela 2 Fontes de resistência à antracnose e seus respectivos alelos de resistência

Alelos de Resistência	Fonte de resistência	Grupo¹	Referência
<i>Co-1</i>	Michigan Dark Red Kidney	AN	McRostie (1919)
<i>Co-2</i>	Cornell 49-242	MA	Mastenbroek (1960)
<i>Co-3</i>	México 222	MA	Bannerot, Derieux e Fouilloux (1971)
<i>Co-4</i>	TO	MA	Fouilloux (1976)
<i>Co-5</i>	TU, G-2333	MA	Fouilloux (1976)
<i>Co-6</i>	AB 136	MA	Alzate-Marin et al. (1997) Gonçalves-Vidigal et al. (2001)
<i>Co-7</i>	G-2333	MA	Young et al. (1998)
<i>co-8</i>	AB 136	MA	Alzate-Marin et al. (1997)
<i>Co-9/Co-3</i> ³	BAT 93	MA	Geffroy et al. (1999) e Méndez-Vigo et al. (2005)
<i>Co-10/Co-3</i> ⁴	Ouro Negro	MA	Alzate-Marin et al. (2003) Gonçalves-Vidigal et al. (2013)
<i>Co-11</i>	Michelite	MA	Gonçalves-Vidigal et al. (2007)
<i>Co-12</i>	Jalo Vermelho	AN	Gonçalves-Vidigal, Lacanallo e Vidigal Filho (2008)

“Tabela 2, conclusão”

Alelos de Resistência	Fonte de resistência	Grupo¹	Referência
<i>Co</i> -13	Jalo Listras Pretas	AN	Gonçalves-Vidigal et al. (2009)
<i>Co</i> -14	Pitanga	AN	Gonçalves-Vidigal et al. (2012)
<i>Co</i> -15	Corinthiano	AN	Gonçalves et al. (2010)
<i>Co</i> -16	Crioulo 159	MA	Coelho et al. (2013)
<i>Co</i> -17	Paloma	AN	Castro et al. (2014)
<i>Co</i> -u	BAT 93	MA	Geffroy et al. (2008)
<i>Co</i> -v	BAT 93	MA	Geffroy et al. (2008)
<i>Co</i> -w	Jalo EEP 558	AN	Geffroy et al.(2008)
<i>Co</i> -x	Jalo EEP 558	AN	Geffroy et al. (2008)
<i>Co</i> -y	Jalo EEP 558	AN	Geffroy et al.(1999)
<i>Co</i> -z	Jalo EEP 558	AN	Geffroy et al. (1999)

¹ Grupo de origem: AN-Andino; MA-Mesoamericano.

Alelismo múltiplo também já foi constatado nos locos *Co*-1, *Co*-3, *Co*-4 e *Co*-5. O loco *Co*-1 possui uma série alélica formada por mais quatro alelos, sendo eles: *Co*-1², *Co*-1³, *Co*-1⁴ e *Co*-1⁵, presentes respectivamente, nas cultivares Kaboon, Perry Marrow, AND 277 e Widusa (ALZATE-MARIN et al., 2003b; GONÇALVES-VIDIGAL; KELLY, 2006; MELOTTO; BALARDIN; KELLY, 2000). O loco *Co*-3 possui o alelo *Co*-3², identificado na cultivar México 227 (FOUILLOUX, 1979). O loco *Co*-4 apresenta dois alelos, o *Co*-4² encontrado nas linhagens SEL 1308 e G2333 (SILVÉRIO et al., 2002; YOUNG et al., 1998) e o alelo *Co*-4³, presente na cultivar diferenciadora PI 207262 (ALZATE-MARIN et al., 2007). O loco *Co*-5 também apresenta o alelo *Co*-5², identificado nas cultivares G2333 e SEL 1360 (SOUSA et al., 2014; VALLEJO; KELLY, 2009).

As cultivares diferenciadoras propostas por Ishikawa, Ramalho e Souza (2011) apresentaram diferentes padrões de reação quando inoculadas com diferentes isolados classificados como raça 65 de *C. lindemuthianum*. Essas cultivares, provavelmente apresentam diferentes genes de resistência à antracnose, que podem ou não ser independentes daqueles já descritos na literatura. Portanto, informações sobre os alelos presentes nestas cultivares, que conferem resistência à diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*, são importantes. Uma vez que essas cultivares são adaptadas às condições brasileiras de cultivo, apresentam grande potencial em programas de melhoramento que visam resistência à antracnose.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças, em casa de vegetação, câmara de nebulização e em área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), município de Lavras-MG.

3.2 Multiplicação das sementes das cultivares comerciais de feijoeiro

Para se obter maior uniformidade genética, uma planta de cada uma das doze cultivares diferenciadoras da raça 65 de *C. lindemuthianum* (ISHIKAWA; RAMALHO; SOUZA, 2011) (Tabela 3), foi inicialmente selecionada e trilhada individualmente. Estas sementes foram multiplicadas e utilizadas durante toda a condução do experimento.

Tabela 3 Cultivares utilizadas por Ishikawa, Ramalho e Souza (2011) para discriminar a variabilidade dentro de isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*

Cultivares	Mantenedor	Tipo de Grão	Cor da Flor
BRS Estilo	EMBRAPA	Carioca	Branca
Majestoso	EMBRAPA, EPAMIG, UFLA, UFV	Carioca	Branca
Ouro Negro	-	Preto	Violeta
BRSMG União	EMBRAPA, EPAMIG, UFLA, UFV	Jalo	Violeta
BRS Valente	EMBRAPA	Preto	Violeta
Ouro Vermelho	EMBRAPA, UFV	Vermelho	Branca
Madrepérola	EMBRAPA, EPAMIG, UFLA, UFV	Carioca	Branca
Pérola	EMBRAPA	Carioca	Branca
BRS Cometa	EMBRAPA	Carioca	Branca
BRS Esplendor	EMBRAPA	Preto	Violeta
BRSMG Talismã	EMBRAPA, EPAMIG, UFLA, UFV	Carioca	Branca
BRS Supremo	EMBRAPA	Preto	Violeta

3.3 Isolados utilizados para avaliação da variabilidade patogênica dentro da raça 65 de *C. lindemuthianum*

Sete isolados classificados como pertencentes à raça 65 de *C. lindemuthianum* (Tabela 4) foram separadamente inoculados no conjunto internacional de cultivares diferenciadoras proposto por Pastor-Corrales (1991) para confirmar que realmente pertenciam à raça 65. Confirmada a raça, estes isolados foram inoculados no conjunto das doze cultivares comerciais utilizadas por Ishikawa, Ramalho e Souza (2011) (Tabela 3) a fim de verificar a existência de variabilidade patogênica entre os isolados.

De acordo com a variabilidade patogênica apresentada pelos isolados utilizados, seis destes foram selecionados, sendo eles, Cl 1614, Cl 1532, Cl 1610, Cl 1740, LV 134 e LV 238.

Tabela 4 Isolados pertencentes à raça 65 de *C. lindemuthianum* utilizados neste trabalho

Isolados	Procedência	Cultivar	Ano
CI 1532 ¹	Ponta Grossa/PR	VC3 X BRS Pérola	2011
CI 1610 ¹	Anápolis/GO	CNF 0011004	2011
CI 1614 ¹	Aracajú/SE	Crioulo	2011
CI 1740 ¹	Lambari/MG	BRS Pérola	2012
LV 238 ²	Patos de Minas/MG	-	2010
LV145 ²	Lambari/MG	BRS Pérola	2009
LV 134 ²	Lambari/MG	Magnífico	2009

¹Isolados provenientes da micoteca do CNPAF/EMBRAPA. ²Isolados da micoteca do Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças da UFLA

3.4 Cultivares utilizadas para o estudo de herança e teste de alelismo

Após a avaliação das 12 cultivares comerciais (Tabela 3) com os seis isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* (Tabela 4), as cultivares selecionadas para o estudo de herança e teste de alelismo foram: Estilo, Majestoso, Ouro Negro, União, Valente, Ouro Vermelho, Madrepérola, Cometa e Esplendor.

3.5 Obtenção das gerações F₁ e F₂

Com o objetivo de obter informações relativas ao controle genético das nove cultivares para os seis isolados da raça 65 *C. lindemuthianum*, bem como a realização de testes de alelismo em populações segregantes F₂ oriundas de dois genitores resistentes, as cultivares foram cruzadas duas a duas em todas as combinações, obtendo-se 36 híbridos.

As sementes das nove cultivares selecionadas foram semeadas em vasos de polietileno contendo solo previamente adubado. Os mesmos foram mantidos em casa de vegetação. A semeadura foi realizada em quatro épocas, com intervalo de 15 dias, sendo utilizado dois vasos por cultivar e três plantas por

vaso em cada época de plantio. À medida que os grãos atingiam a maturação fisiológica, as vagens contendo as sementes híbridas foram colhidas, identificadas e debulhadas manualmente, sendo as sementes acondicionadas em envelopes de papel e armazenadas em ambiente refrigerado.

As sementes F_1 de cada cruzamento, colhidas nas duas primeiras épocas foram semeadas em condição de campo para a obtenção das populações segregantes F_2 . Utilizou-se em média 12 sementes de cada cruzamento, as quais foram semeadas em covas individuais, com espaçamento de 60 cm entre linhas e 20 cm entre plantas.

A cor das flores das plantas F_1 e a cor dos grãos das sementes F_2 foram utilizados como marcadores morfológicos para identificar autofecundações indesejáveis nos cruzamentos.

Para melhor identificar e eliminar as eventuais autofecundações que poderiam ter ocorrido devido ao grande número de cruzamentos realizados, as sementes de todas as plantas F_1 foram colhidas individualmente.

3.6 Avaliação das gerações F_1 e F_2 de cada cruzamento

Obtidas as gerações F_1 e F_2 , essas foram semeadas, conforme descrito posteriormente no item 3.6.1, inoculadas utilizando o procedimento descrito com detalhes no item 3.6.2 e avaliadas utilizando a escala diagramática proposta por Schoonhoven e Pastor-Corrales (1987), como retratado no item 3.6.3.

3.6.1 Semeadura

Para a avaliação das plantas F_1 de cada cruzamento, quanto à reação a cada um dos seis isolados selecionados, foram utilizadas as sementes colhidas na terceira e quarta épocas de cruzamentos. Para isso foram utilizadas três

repetições (plantas F_1) de cada cruzamento para cada isolado, sendo a parcela constituída por uma planta F_1 . A semeadura foi realizada em bandejas de plástico com células individualizadas, contendo substrato Rohrbacher®. Foi utilizada uma bandeja por isolado, sendo que cada bandeja continha todos os cruzamentos em três repetições devidamente identificados com etiquetas plásticas.

Para a avaliação das populações segregantes F_2 foram utilizadas aproximadamente 55 sementes de cada cruzamento para cada isolado, pois com essa quantidade de sementes tem-se 95% de confiança de encontrar pelo menos um indivíduo com genótipo recessivo (suscetível) considerando a ocorrência de dois genes. Essas sementes foram semeadas em bandejas de plástico de 162 células e os cruzamentos foram devidamente identificados com etiquetas plásticas. Em todas as inoculações utilizou-se como testemunha de suscetibilidade a cultivar Pérola, a qual é suscetível a todos os isolados utilizados. Foram utilizadas 13 bandejas para cada isolado.

Utilizou-se sementes F_2 provenientes de uma única planta F_1 de cada cruzamento para cada isolado a fim de eliminar possíveis autofecundações que poderiam ser detectadas. Por exemplo, para aqueles cruzamentos que envolviam um genitor de grãos tipo preto com um genitor de grãos tipo carioca, as plantas F_2 deveriam obrigatoriamente segregar para a cor do hipocótilo, caso contrário seria um indício de autofecundação. Para aqueles cruzamentos em que o resultado das avaliações não foi conclusivo, repetiu-se as avaliações, utilizando-se sementes provenientes de outra planta do mesmo cruzamento. Em alguns casos, para maior confiabilidade nas proporções observadas, aumentou-se o número de plantas, utilizando-se cerca de 100 sementes.

3.6.2 Preparo das suspensões de conídios de *C. lindemuthianum* e inoculação

Para a esporulação, os seis isolados monospóricos (Tabela 4) foram crescidos em meio M3 e repicados para vagens de feijão comum estéreis, parcialmente imersas em meio ágar-água, dentro de tubos de ensaio, por um período de incubação de 10-15 dias, a 22°C, no escuro.

O inóculo foi posteriormente preparado pela adição de água destilada em cada tubo e raspagem da superfície da vagem com o auxílio de uma alça de platina, para a liberação dos conídios. Essa suspensão de conídios foi filtrada utilizando-se uma camada de gaze para a remoção dos fragmentos miceliais. Procedeu-se então à contagem dos conídios com o auxílio de uma câmara de Neubauer em microscópio de luz, a fim de padronizar a concentração do inóculo para $1,2 \times 10^6$ conídios ml^{-1} .

As suspensões de conídios foram inoculadas após a expansão completa das folhas cotiledonares, pulverizando-se ambas as faces das folhas e os talos com borrifador até o ponto de escorrimento. Após as inoculações, as plantas foram mantidas em casa de vegetação com sistema de nebulização, umidade relativa de 95% e temperatura em torno de 24°C, por um período de 10 dias.

3.6.3 Avaliação das plantas das gerações F₁ e F₂

Dez dias após a inoculação, cada planta foi avaliada visualmente de acordo com a escala descritiva de notas de 1 a 9 proposta por Schoonhoven e Pastor-Corrales (1987) (Tabela 5). As plantas foram classificadas como resistentes (notas de 1 a 3) e suscetíveis (notas de 4 a 9).

Tabela 5 Escala descritiva de notas para a avaliação da severidade da antracnose em plântulas de feijoeiro (SCHOONHOVEN; PASTOR-CORRALES, 1987)

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

3.7 Análises estatísticas

A partir das frequências observadas de indivíduos para as classes fenotípicas, resistente e suscetível na geração F_2 , foram formuladas hipóteses de segregação, as quais foram testadas por meio do teste de Qui-Quadrado (χ^2) com o auxílio do software GENES (CRUZ, 2013). Foi utilizado um nível nominal de significância de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação da variabilidade patogênica dentro de isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*

As inoculações dos sete isolados no conjunto internacional das cultivares diferenciadoras proposto por Pastor-Corrales (1991) confirmaram que todos os isolados testados pertenciam à raça 65 de *C. lindemuthianum*, pois em todas as inoculações, as cultivares suscetíveis foram a Michelitte (2⁰) e a México 222 (2⁶). No entanto, as inoculações desses isolados nas doze cultivares comerciais indicaram que estes diferem no espectro de virulência, à exceção dos isolados LV 145 e LV 238 (Tabela 6). Dessa forma, o isolado LV 145 não foi incluído nesse estudo. Os isolados LV 134 e LV 238 causaram reação de susceptibilidade em sete cultivares, as quais diferem entre si. Os isolados CI 1532 e CI 1614 foram patogênicos à cinco cultivares que também diferem entre si. Os isolados CI 1610 e CI 1740 causaram reação de susceptibilidade em apenas uma e duas cultivares respectivamente.

De acordo com a Tabela 6, fica também evidente que as cultivares diferiram quanto à reação aos seis isolados, à exceção das cultivares Ouro Vermelho e Valente e Ouro Negro, Cometa e Supremo, que apresentaram o mesmo padrão de reação. As cultivares Pérola e Talismã foram suscetíveis à todos os isolados. A cultivar União foi resistente à apenas um dos seis isolados. As cultivares Valente, Estilo, Madrepérola e Majestoso foram suscetíveis à dois isolados, os quais diferiram entre estas cultivares, e as cultivares Esplendor e Ouro Negro foram as que apresentaram maior nível de resistência, pois cada uma delas foi suscetível à apenas um isolado. Contudo, nenhuma das cultivares apresentou resistência a todos os isolados avaliados.

De acordo com o padrão de virulência apresentado pelos isolados, estes foram reclassificados utilizando o sistema binário adaptado de Ishikawa, Ramalho e Souza (2011) (Tabela 6).

Tabela 6 Padrão de reação das doze cultivares comerciais de feijoeiro a cada isolado da raça 65 de *C. lindemuthianum* avaliado

Isolados	Cultivares*								Classificação**
	1,2	3,4,5	6,7	8	9	10	11	12	
CI1532	S	R	S	R	S	R	R	R	65.152
CI1610	R	R	S	R	S	R	R	S	65.168
CI1614	R	R	S	R	S	S	S	R	65.201
CI1740	R	R	S	R	S	R	R	R	65.136
LV238/ LV145	S	R	S	S	S	S	R	R	65.218
LV134	R	S	S	S	R	R	S	R	65.135

*1-Valente; 2-Ouro vermelho; 3-Ouro Negro; 4-Cometa; 5-Supremo; 6-Pérola; 7-Talismã; 8- Majestoso; 9-União; 10-Madrepérola; 11-Estilo; 12-Esplendor.

**Sistema binário utilizado para classificação dos isolados: Estilo (2⁰), Majestoso (2¹), Supremo (2²), União (2³), Valente (2⁴), Esplendor (2⁵), Madrepérola (2⁶), Talismã (2⁷). Adaptado de Ishikawa, Ramalho e Souza (2011).

Uma vez que as cultivares Talismã e Pérola foram sempre suscetíveis, estas não apresentam genes de resistência aos isolados utilizados. Além disso, pôde-se verificar que para cada um dos isolados sempre houve pelo menos uma cultivar suscetível, diferente da Pérola e da Talismã (Tabela 6). Dessa forma, essas duas cultivares não foram incluídas no estudo de herança e testes de alelismo. Algumas cultivares também apresentaram o mesmo padrão de reação, como é o caso das cultivares Supremo, Ouro Negro e Cometa e Valente e Ouro Vermelho. No entanto, estas poderiam diferir no gene de resistência à determinados isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*. Assim, optou-se por retirar além das cultivares Pérola e Talismã, apenas a cultivar Supremo.

4.2 Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado CI 1740 da raça 65.136 de *C. lindemuthianum*

O isolado CI 1740 foi o menos virulento dentre os isolados utilizados. Considerando apenas as nove cultivares selecionadas, apenas a cultivar União foi suscetível a este isolado. Assim, para se obter informações a respeito do controle genético da resistência das demais cultivares a este isolado, deve-se observar o resultado obtido nos cruzamentos da cultivar União com cada uma das demais cultivares resistentes.

A Tabela 7 fornece informações sobre a reação de plantas da geração F_1 e F_2 de cada cruzamento após a inoculação com este isolado. Pode-se observar que a geração F_1 de todos os cruzamentos envolvendo a cultivar União, foi resistente, logo, a resistência é conferida por alelo dominante de um ou mais genes.

Nas gerações F_2 oriundas dos cruzamentos entre as cultivares União e Valente e União e Esplendor, foram encontradas segregações que se ajustaram à proporção de 15R:1S, indicando que essas duas cultivares possuem dois genes com alelos dominantes, conferindo resistência à este isolado, sendo um caso de genes duplicados. Já os cruzamentos envolvendo a cultivar União com as demais cultivares resistentes segregaram na proporção de 3R:1S indicando que em todos esses cruzamentos, os genitores diferem para um gene, sendo o alelo dominante responsável pela resistência ao isolado CI 1740. Não houve segregação para as populações F_2 provenientes do cruzamento de duas cultivares resistentes, indicando que estas possuem os mesmos alelos de resistência ou alelos de resistência diferentes de um mesmo gene.

Tabela 7 Reação das cultivares, da geração F₁, e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado CI 1740 (65.136)

Cruzamentos	Reação	Gerações				χ^2	p-valor
		F ₁	F ₂		Freq. Esperada		
			Freq. Obs.	S			
		R	S				
V × C*	R × R	R	54	0	1:0	-	-
V × U	R × S	R	49	5	15:1	0,83	0,36
V × Est	R × R	R	54	0	1:0	-	-
V × Mp	R × R	R	54	0	1:0	-	-
V × OV	R × R	R	53	0	1:0	-	-
V × ON	R × R	R	53	0	1:0	-	-
V × Mj	R × R	R	47	0	1:0	-	-
V × Esp	R × R	R	54	0	1:0	-	-
C × U	R × S	R	26	14	3:1	2,13	0,14
C × Est	R × R	R	50	0	1:0	-	-
C × Mp	R × R	R	54	0	1:0	-	-
C × OV	R × R	R	52	0	1:0	-	-
C × ON	R × R	R	47	0	1:0	-	-
C × Mj	R × R	R	53	0	1:0	-	-
C × Esp	R × R	R	48	0	1:0	-	-
U × Est	S × R	R	33	15	3:1	1,00	0,32
U × Mp	S × R	R	13	5	3:1	0,07	0,79
U × OV	S × R	R	41	13	3:1	0,02	0,88
U × ON	S × R	R	37	17	3:1	1,21	0,27
U × Mj	S × R	R	43	7	3:1	3,23	0,07
U × Esp	S × R	R	45	2	15:1	0,32	0,57
Est × Mp	R × R	R	52	0	1:0	-	-
Est × OV	R × R	R	52	0	1:0	-	-
Est × ON	R × R	R	54	0	1:0	-	-
Est × Mj	R × R	R	54	0	1:0	-	-
Est × Esp	R × R	R	48	0	1:0	-	-
Mp × OV	R × R	R	52	0	1:0	-	-
Mp × ON	R × R	R	47	0	1:0	-	-
Mp × Mj	R × R	R	51	0	1:0	-	-
Mp × Esp	R × R	R	34	0	1:0	-	-
OV × ON	R × R	R	54	0	1:0	-	-
OV × Mj	R × R	R	54	0	1:0	-	-
OV × Esp	R × R	R	48	0	1:0	-	-
ON × Mj	R × R	R	39	0	1:0	-	-
ON × Esp	R × R	R	47	0	1:0	-	-
Mj × Esp	R × R	R	45	0	1:0	-	-

*V = Valente; C = Cometa; U = União; Est = Estilo; Mp = Madrepérola; OV = Ouro Vermelho; ON = Ouro Negro; Mj = Majestoso; Esp = Esplendor

4.3 Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado CI 1610 da raça 65.168 de *C. lindemuthianum*

O isolado CI 1610 causou reação de susceptibilidade nas cultivares Esplendor e União. Dessa forma, a segregação observada nas gerações F₂ derivadas dos cruzamentos de alguma dessas duas cultivares suscetíveis com as demais, forneceram informações sobre o número de genes que controlam a resistência em cada cultivar à este isolado. Pela Tabela 8 verifica-se que as segregações observadas nas gerações F₂, oriundas dos cruzamentos das cultivares Valente, Madrepérola e Majestoso com cultivares suscetíveis, ajustou-se à proporção de 15R: 1S, revelando a presença de dois genes com alelos dominantes conferindo resistência à este isolado. Já a segregação observada em todos os cruzamentos envolvendo as cultivares, Cometa, Estilo, Ouro Negro e Ouro Vermelho com alguma cultivar suscetível, ajustou-se à proporção de 3R:1S, indicando que estas cultivares diferem em apenas um gene da cultivar suscetível, sendo o alelo dominante responsável pela resistência.

Para as gerações F₂ oriundas do cruzamento de duas cultivares resistentes, não foi observada segregação. Este fato indica que a resistência dessas cultivares ao isolado CI 1610 é conferida por um mesmo alelo de resistência ou por diferentes alelos de um mesmo gene.

Os resultados encontrados na avaliação de plantas da geração F₁ de todos os cruzamentos corroboram com os resultados obtidos na geração F₂.

Tabela 8 Reação das cultivares, da geração F₁, e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado CI 1610 (65.168)

Cruzamentos	Reação	Gerações				χ^2	p-valor
		F ₁	F ₂		Freq. Esp.		
			Freq. Obs.	S			
		R	S				
V × C	R × R	R	50	0	1:0	-	-
V × U	R × S	R	46	4	15:1	0,26	0,61
V × Est	R × R	R	50	0	1:0	-	-
V × Mp	R × R	R	50	0	1:0	-	-
V × OV	R × R	R	50	0	1:0	-	-
V × ON	R × R	R	50	0	1:0	-	-
V × Mj	R × R	R	50	0	1:0	-	-
V × Esp	R × S	R	45	5	15:1	1,20	0,27
C × U	R × S	R	31	14	3:1	0,90	0,34
C × Est	R × R	R	99	0	1:0	-	-
C × Mp	R × R	R	54	0	1:0	-	-
C × OV	R × R	R	53	0	1:0	-	-
C × ON	R × R	R	50	0	1:0	-	-
C × Mj	R × R	R	54	0	1:0	-	-
C × Esp	R × S	R	42	8	3:1	2,16	0,14
U × Est	S × R	R	33	16	3:1	1,53	0,22
U × Mp	S × R	R	39	5	15:1	1,96	0,16
U × OV	S × R	R	37	14	3:1	0,16	0,69
U × ON	S × R	R	37	13	3:1	0,03	0,87
U × Mj	S × R	R	45	6	15:1	2,65	0,10
U × Esp	S × S	S	0	49	0:1	-	-
Est × Mp	R × R	R	50	0	1:0	-	-
Est × OV	R × R	R	50	0	1:0	-	-
Est × ON	R × R	R	49	0	1:0	-	-
Est × Mj	R × R	R	54	0	1:0	-	-
Est × Esp	R × S	R	43	8	3:1	2,36	0,12
Mp × OV	R × R	R	54	0	1:0	-	-
Mp × ON	R × R	R	54	0	1:0	-	-
Mp × Mj	R × R	R	52	0	1:0	-	-
Mp × Esp	R × S	R	90	4	15:1	0,64	0,42
OV × ON	R × R	R	100	0	1:0	-	-
OV × Mj	R × R	R	53	0	1:0	-	-
OV × Esp	R × S	R	81	18	3:1	2,45	0,12
ON × Mj	R × R	R	50	0	1:0	-	-
ON × Esp	R × S	R	40	10	3:1	0,67	0,41
Mj × Esp	R × S	R	47	3	15:1	0,00	0,94

*V = Valente; C = Cometa; U = União; Est = Estilo; Mp = Madrepérola; OV = Ouro Vermelho; ON = Ouro Negro; Mj = Majestoso; Esp = Esplendor

4.4 Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado LV 134 da raça 65.135 de *C. lindemuthianum*

Cinco cultivares foram resistentes à este isolado, sendo elas: Valente, Madrepérola, União, Ouro Vermelho e Esplendor. Observando a Tabela 9, pode-se verificar que o resultado dos cruzamentos entre a cultivar Esplendor com qualquer uma das cultivares suscetíveis ajustou-se proporção de 15R:1S na geração F₂, indicando que esta cultivar possui genes duplicados com alelos dominantes, conferindo resistência à este isolado. Para as demais cultivares resistentes, o estudo de herança indicou que estas diferem em apenas um gene de quaisquer cultivares suscetíveis, pois o teste de Qui-quadrado foi não significativo para a frequência esperada de 3R:1S.

No teste de alelismo envolvendo as populações segregantes F₂, derivadas de duas cultivares resistentes, verificou-se que não houve segregação, permitindo concluir que a resistência de cada cultivar é condicionada por um mesmo alelo de resistência ou por diferentes alelos de resistência de um mesmo gene.

Os resultados encontrados na geração F₁ de todos os cruzamentos também corroboram com os resultados obtidos na geração F₂.

Tabela 9 Reação das cultivares, da geração F₁, e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado LV 134 (65.135)

Cruzamentos	Reação	Gerações				χ^2	p-valor
		F ₁	F ₂		Freq. Esp.		
			Freq. Obs.				
			R	S			
V × C	R × S	R	40	12	3:1	0,10	0,75
V × U	R × R	R	53	0	1:0	-	-
V × Est	R × S	R	67	31	3:1	2,29	0,13
V × Mp	R × R	R	52	0	1:0	-	-
V × OV	R × R	R	50	0	1:0	-	-
V × ON	R × S	R	41	12	3:1	0,16	0,69
V × Mj	R × S	R	44	10	3:1	1,21	0,27
V × Esp	R × R	R	54	0	1:0	-	-
C × U	S × R	R	-	-	-	-	-
C × Est	S × S	S	0	54	0:1	-	-
C × Mp	S × R	R	48	8	3:1	3,43	0,06
C × OV	S × R	R	40	9	3:1	1,15	0,28
C × ON	S × S	S	0	55	0:1	-	-
C × Mj	S × S	S	0	56	0:1	-	-
C × Esp	S × R	R	88	10	15:1	2,61	0,11
U × Est	R × S	R	34	13	3:1	0,18	0,67
U × Mp	R × R	R	-	-	-	-	-
U × OV	R × R	R	55	0	1:0	-	-
U × ON	R × S	R	35	18	3:1	2,27	0,13
U × Mj	R × S	R	47	9	3:1	2,38	0,12
U × Esp	R × R	R	54	0	1:0	-	-
Est × Mp	S × R	R	37	9	3:1	2,38	0,12
Est × OV	S × R	R	44	12	3:1	0,38	0,54
Est × ON	S × S	S	0	52	0:1	-	-
Est × Mj	S × S	S	0	56	0:1	-	-
Est × Esp	S × R	R	48	1	15:1	1,48	0,22
Mp × OV	R × R	R	53	0	1:0	-	-
Mp × ON	R × S	R	43	13	3:1	0,09	0,76
Mp × Mj	R × S	R	48	8	3:1	3,43	0,06
Mp × Esp	R × R	R	52	0	1:0	-	-
OV × ON	R × S	R	39	17	3:1	0,86	0,35
OV × Mj	R × S	R	46	10	3:1	1,52	0,22
OV × Esp	R × R	R	54	0	1:0	-	-
ON × Mj	S × S	S	0	54	0:1	-	-
ON × Esp	S × R	R	50	5	15:1	0,76	0,38
Mj × Esp	S × R	R	53	1	15:1	1,78	0,18

*V = Valente; C = Cometa; U = União; Est = Estilo; Mp = Madrepérola; OV = Ouro Vermelho; ON = Ouro Negro; Mj = Majestoso; Esp = Esplendor

4.5 Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado CI 1614 da raça 65.201 de *C. lindemuthianum*

Seis cultivares foram resistentes a este isolado, sendo elas: Valente, Cometa, Ouro Vermelho, Ouro Negro, Majestoso e Esplendor. O teste de alelismo envolvendo estas cultivares demonstrou que as cultivares Valente, Cometa, Ouro Vermelho e Ouro Negro possuem o mesmo alelo de resistência ao isolado CI 1614 ou alelos diferentes de um mesmo gene, pois não foram observadas segregações em nenhum dos cruzamentos dois a dois envolvendo estas cultivares. Ausência de segregação também foi verificada no cruzamento entre as cultivares Majestoso e Esplendor. No entanto, segregação de 15R:1S foi encontrada nos cruzamentos das cultivares Majestoso e Esplendor com qualquer uma das demais cultivares resistentes, evidenciando que estas possuem genes de resistência diferente do gene presente nas cultivares Valente, Cometa, Ouro Vermelho e Ouro Negro (Tabela 10).

Os cruzamentos de todas as cultivares resistentes com alguma cultivar suscetível ajustaram-se à proporção de 3R:1S, ou seja, as cultivares resistentes diferem em apenas um gene das cultivares suscetíveis, sendo o alelo dominante responsável pela resistência.

Os resultados encontrados na geração F₁ de todos os cruzamentos foram também coincidentes com os obtidos na geração F₂.

Tabela 10 Reação das cultivares, da geração F₁, e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado CI 1614 (65.201)

Cruzamentos	Reação	Gerações				χ^2	p-valor
		F ₁	F ₂		Freq. Esp.		
			Freq. Obs.	S			
		R	S				
V × C	R × R	R	51	0	1:0	-	-
V × U	R × S	R	42	11	3:1	0,51	0,48
V × Est	R × S	R	45	9	3:1	2,00	0,16
V × Mp	R × S	R	45	9	3:1	2,00	0,16
V × OV	R × R	R	51	0	1:0	-	-
V × ON	R × R	R	54	0	1:0	-	-
V × Mj	R × R	R	52	2	15:1	0,60	0,44
V × Esp	R × R	R	46	3	15:1	0,00	0,97
C × U	R × S	R	28	16	3:1	3,03	0,00
C × Est	R × S	R	36	10	3:1	0,26	0,61
C × Mp	R × S	R	42	11	3:1	0,51	0,48
C × OV	R × R	R	54	0	1:0	-	-
C × ON	R × R	R	51	0	1:0	-	-
C × Mj	R × R	R	51	3	15:1	0,04	0,83
C × Esp	R × R	R	48	5	15:1	0,92	0,34
U × Est	S × S	S	0	46	0:1	-	-
U × Mp	S × S	S	0	51	0:1	-	-
U × OV	S × R	R	35	18	3:1	2,27	0,13
U × ON	S × R	R	37	17	3:1	1,21	0,27
U × Mj	S × R	R	40	10	3:1	0,67	0,41
U × Esp	S × R	R	44	10	3:1	1,21	0,27
Est × Mp	S × S	S	0	47	0:1	-	-
Est × OV	S × R	R	36	9	3:1	0,60	0,44
Est × ON	S × R	R	43	10	3:1	1,06	0,30
Est × Mj	S × R	R	43	9	3:1	1,64	0,20
Est × Esp	S × R	R	45	9	3:1	2,00	0,16
Mp × OV	S × R	R	43	9	3:1	1,64	0,20
Mp × ON	S × R	R	39	11	3:1	0,24	0,62
Mp × Mj	S × R	R	43	8	3:1	2,36	0,12
Mp × Esp	S × R	R	42	11	3:1	0,51	0,48
OV × ON	R × R	R	47	0	1:0	-	-
OV × Mj	R × R	R	85	9	15:1	1,77	0,18
OV × Esp	R × R	R	51	3	15:1	0,04	0,83
ON × Mj	R × R	R	47	6	15:1	2,33	0,13
ON × Esp	R × R	R	47	5	15:1	1,00	0,32
Mj × Esp	R × R	R	54	0	1:0	-	-

*V = Valente; C = Cometa; U = União; Est = Estilo; Mp = Madrepérola; OV = Ouro Vermelho; ON = Ouro Negro; Mj = Majestoso; Esp = Esplendor

4.6 Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado CI 1532 da raça 65.152 de *C. lindemuthianum*

O isolado CI 1532 não foi patogênico às cultivares Esplendor, Ouro Negro, Estilo, Cometa, Madrepérola e Majestoso. Em cruzamentos envolvendo as cultivares, Cometa, Estilo, Ouro Negro e Esplendor, não foram encontradas segregações na geração F₂. A geração F₂ do cruzamento entre as cultivares Madrepérola e Majestoso também foi completamente resistente. Porém, quando estas duas últimas cultivares foram cruzadas com as demais cultivares resistentes, a segregação observada ajustou-se a proporção de 15R:1S, indicando que as cultivares Madrepérola e Majestoso possuem um gene de resistência diferente daquele encontrado nas cultivares Cometa, Estilo, Ouro Negro e Esplendor (Tabela 11).

O estudo de herança da resistência dessas cultivares para este isolado, confirmou que estas diferem para apenas um gene das cultivares suscetíveis, pois em todos os cruzamentos de uma cultivar resistente com uma cultivar suscetível, as segregações observadas ajustaram-se à proporção de 3R:1S, indicando que o alelo dominante é o responsável pela resistência.

Novamente, os resultados obtidos na geração F₁ de todos os cruzamentos estão de acordo com o resultado obtido na geração F₂.

Tabela 11 Reação das cultivares, da geração F₁, e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado CI 1532 (65.152)

Cruzamentos	Reação	Gerações				χ^2	p-valor
		F ₁	F ₂		Freq. Esp.		
			Freq. Obs.	S			
			R	S			
V × C	S × R	R	42	12	3:1	0,22	0,64
V × U	S × S	S	0	55	0:1	-	-
V × Est	S × R	R	36	19	3:1	2,67	0,10
V × Mp	S × R	R	31	15	3:1	1,42	0,23
V × OV	S × S	S	0	54	0:1	-	-
V × ON	S × R	R	30	13	3:1	0,00	1,00
V × Mj	S × R	R	37	17	3:1	1,21	0,27
V × Esp	S × R	R	46	8	3:1	2,99	0,08
C × U	R × S	R	33	14	3:1	0,57	0,45
C × Est	R × R	R	54	0	1:0	-	-
C × Mp	R × R	R	49	5	15:1	0,83	0,36
C × OV	R × S	R	36	7	3:1	1,41	0,23
C × ON	R × R	R	53	0	1:0	-	-
C × Mj	R × R	R	48	4	15:1	0,18	0,67
C × Esp	R × R	R	52	0	1:0	-	-
U × Est	S × R	R	39	13	3:1	0,00	1,00
U × Mp	S × R	R	35	15	3:1	0,67	0,41
U × OV	S × S	S	0	53	0:1	-	-
U × ON	S × R	R	35	15	3:1	0,67	0,41
U × Mj	S × R	R	42	12	3:1	0,22	0,64
U × Esp	S × R	R	71	27	3:1	0,34	0,56
Est × Mp	R × R	R	49	5	15:1	0,83	0,36
Est × OV	R × S	R	42	12	3:1	0,22	0,64
Est × ON	R × R	R	54	0	1:0	-	-
Est × Mj	R × R	R	45	5	15:1	1,20	0,27
Est × Esp	R × R	R	52	0	1:0	-	-
Mp × OV	R × S	R	36	13	3:1	0,06	0,80
Mp × ON	R × R	R	49	4	15:1	0,15	0,70
Mp × Mj	R × R	R	54	0	1:0	-	-
Mp × Esp	R × R	R	50	2	15:1	0,51	0,47
OV × ON	S × R	R	36	15	3:1	0,53	0,47
OV × Mj	S × R	R	42	12	3:1	0,22	0,64
OV × Esp	S × R	R	45	9	3:1	2,00	0,16
ON × Mj	R × R	R	81	9	15:1	2,16	0,14
ON × Esp	R × R	R	54	0	1:0	-	-
Mj × Esp	R × R	R	52	2	15:1	0,60	0,44

*V = Valente; C = Cometa; U = União; Est = Estilo; Mp = Madrepérola; OV = Ouro Vermelho; ON = Ouro Negro; Mj = Majestoso; Esp = Esplendor

4.7 Herança da resistência e teste de alelismo para o isolado LV 238 da raça 65.218 de *C. lindemuthianum*

Quatro cultivares foram resistentes à este isolado, sendo elas: Esplendor, Ouro Negro, Estilo e Cometa. As gerações F₂ dos cruzamentos dois a dois envolvendo as cultivares, Cometa, Estilo e Esplendor não apresentaram segregação. No entanto, quando estas cultivares foram cruzadas com a cultivar Ouro Negro, foi encontrada segregação de 15R:1S em todos os casos, indicando que a cultivar Ouro Negro apresenta um gene de resistência ao isolado LV 238 diferente do gene presente nas cultivares Cometa, Estilo e Esplendor (Tabela 12).

O estudo de herança dessas cultivares à este isolado também confirmaram os resultados anteriores, pois as segregações de 3R:1S encontradas em todos os cruzamentos envolvendo uma cultivar resistente e uma cultivar suscetível, demonstra que as cultivares resistentes diferem das cultivares suscetíveis em apenas um gene, em que o alelo dominante confere resistência.

Como também pode ser observado na Tabela 12, os resultados obtidos na geração F₁ de todos os cruzamentos realizados também foram concordantes com os resultados encontrados na geração F₂.

Tabela 12 Reação das cultivares, da geração F₁, e frequência esperada e observada de plantas resistentes (R) e suscetíveis (S) na geração F₂ de cada cruzamento inoculada com o isolado LV 238 (65.218)

Cruzamentos	Reação	Gerações				χ^2	p-valor
		F ₁	F ₂		Freq. Esp.		
			Freq. Obs.				
			R	S			
V × C	S × R	R	41	15	3:1	0,09	0,76
V × U	S × S	S	0	54	0:1	-	-
V × Est	S × R	R	41	13	3:1	0,02	0,88
V × Mp	S × S	S	0	53	0:1	-	-
V × OV	S × S	S	0	54	0:1	-	-
V × ON	S × R	R	43	11	3:1	0,62	0,43
V × Mj	S × S	S	0	53	0:1	-	-
V × Esp	S × R	R	45	8	3:1	2,77	0,10
C × U	R × S	R	36	18	3:1	2,00	0,16
C × Est	R × R	R	54	0	1:0	-	-
C × Mp	R × S	R	40	14	3:1	0,02	0,88
C × OV	R × S	R	45	8	3:1	2,77	0,10
C × ON	R × R	R	45	6	15:1	2,65	0,10
C × Mj	R × S	R	42	12	3:1	0,22	0,64
C × Esp	R × R	R	51	0	1:0	-	-
U × Est	S × R	R	45	11	3:1	0,86	0,35
U × Mp	S × S	S	0	46	0:1	-	-
U × OV	S × S	S	0	44	0:1	-	-
U × ON	S × R	R	35	16	3:1	1,10	0,29
U × Mj	S × S	S	0	49	0:1	-	-
U × Esp	S × R	R	42	10	3:1	0,92	0,34
Est × Mp	R × S	R	45	9	3:1	2,00	0,16
Est × OV	R × S	R	40	14	3:1	0,02	0,88
Est × ON	R × R	R	96	2	15:1	2,96	0,09
Est × Mj	R × S	R	43	9	3:1	1,64	0,20
Est × Esp	R × R	R	54	0	1:0	-	-
Mp × OV	S × S	S	0	52	0:1	-	-
Mp × ON	S × R	R	42	9	3:1	1,47	0,23
Mp × Mj	S × S	S	0	47	0:1	-	-
Mp × Esp	S × R	R	44	10	3:1	1,21	0,27
OV × ON	S × R	R	45	8	3:1	2,77	0,10
OV × Mj	S × S	S	0	54	0:1	-	-
OV × Esp	S × R	R	44	8	3:1	2,56	0,11
ON × Mj	R × S	R	42	11	3:1	0,51	0,48
ON × Esp	R × R	R	53	3	15:1	0,08	0,78
Mj × Esp	S × R	R	51	3	15:1	0,04	0,83

*V = Valente; C = Cometa; U = União; Est = Estilo; Mp = Madrepérola; OV = Ouro Vermelho; ON = Ouro Negro; Mj = Majestoso; Esp = Esplendor

4.8 Genótipo das cultivares avaliadas e número de genes relacionados à resistência aos seis isolados

De acordo com a Tabela 6, verifica-se que genes diferentes devem controlar a resistência aos seis isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*, pois para quaisquer dois isolados X e Y avaliados, houve cultivares resistentes apenas ao isolado X, cultivares resistentes apenas ao isolado Y e cultivares resistentes aos dois isolados. Isso pode também ser confirmado analisando-se os resultados obtidos na geração F₂ de todos os cruzamentos quando inoculados com cada isolado. Além disso, para cada isolado, houve segregações nas gerações F₂ que se ajustaram à proporção de 15R:1S, indicando a ocorrência de genes duplicados conferindo resistência a um isolado específico. Portanto, na resistência aos seis isolados, estão envolvidos um total de 12 genes. A partir dos resultados apresentados nas Tabelas de 7 a 12 foram estabelecidos os possíveis genótipos referentes aos genes de resistência de cada uma das nove cultivares avaliadas (Tabela 13).

Nota-se que as cultivares Valente e Ouro Vermelho, embora apresentaram o mesmo padrão de reação aos seis isolados avaliados, apresentaram genótipos diferentes para resistência ao isolado LV 1740. Já as cultivares Ouro Negro e Cometa, que também apresentaram o mesmo padrão de reação aos seis isolados, possuem genótipos diferentes para os genes que conferem resistência ao isolado LV 238, pois pode-se observar que a segregação obtida na geração F₂ oriunda desse cruzamento, ajustou-se à proporção de 15R:1S (Tabela 12).

Tabela 13 Genótipos e fenótipos das nove cultivares para os genes de resistência a cada isolado da raça 65 de *C. lindemuthianum*

Cultivares	Genes de resistência					
	CI 1740	CI1610	LV 134	CI1614	CI 1532	LV 238
União	$co_A co_A co_B co_B$ (Suscetível) ²	$co_C co_C co_D co_D$ (Suscetível)	$co_E co_E co_F co_F$ (Resistente)	$co_G co_G co_H co_H$ (Suscetível)	$co_I co_I co_J co_J$ (Suscetível)	$co_K co_K co_L co_L$ (Suscetível)
Majestoso	$Co_A Co_A co_B co_B$ (Resistente)	$Co_C Co_C Co_D Co_D$ (Resistente)	$co_E co_E co_F co_F$ (Suscetível)	$Co_G Co_G co_H co_H$ (Resistente)	$Co_I Co_I co_J co_J$ (Resistente)	$co_K co_K co_L co_L$ (Suscetível)
Madrepérola	$Co_A Co_A co_B co_B$ (Resistente)	$Co_C Co_C Co_D Co_D$ (Resistente)	$co_E co_E co_F co_F$ (Resistente)	$co_G co_G co_H co_H$ (Suscetível)	$Co_I Co_I co_J co_J$ (Resistente)	$co_K co_K co_L co_L$ (Suscetível)
Valente	$Co_A Co_A Co_B Co_B$ (Resistente)	$Co_C Co_C Co_D Co_D$ (Resistente)	$co_E co_E co_F co_F$ (Resistente)	$co_G co_G Co_H Co_H$ (Resistente)	$co_I co_I co_J co_J$ (Suscetível)	$co_K co_K co_L co_L$ (Suscetível)
Ouro vermelho	$Co_A Co_A co_B co_B$ (Resistente)	$Co_C Co_C Co_D Co_D$ (Resistente)	$co_E co_E co_F co_F$ (Resistente)	$co_G co_G Co_H Co_H$ (Resistente)	$co_I co_I co_J co_J$ (Suscetível)	$co_K co_K co_L co_L$ (Suscetível)
Estilo	$Co_A Co_A co_B co_B$ (Resistente)	$co_C co_C co_D co_D$ (Resistente)	$co_E co_E co_F co_F$ (Suscetível)	$co_G co_G co_H co_H$ (Suscetível)	$co_I co_I Co_J Co_J$ (Resistente)	$co_K co_K Co_L Co_L$ (Resistente)
Cometa	$Co_A Co_A co_B co_B$ (Resistente)	$co_C co_C co_D co_D$ (Resistente)	$co_E co_E co_F co_F$ (Suscetível)	$Co_G Co_G co_H co_H$ (Resistente)	$co_I co_I Co_J Co_J$ (Resistente)	$co_K co_K Co_L Co_L$ (Resistente)
Ouro Negro	$Co_A Co_A co_B co_B$ (Resistente)	$co_C co_C co_D co_D$ (Resistente)	$co_E co_E co_F co_F$ (Suscetível)	$Co_G Co_G co_H co_H$ (Resistente)	$co_I co_I Co_J Co_J$ (Resistente)	$Co_K Co_K co_L co_L$ (Resistente)
Esplendor	$Co_A Co_A Co_B Co_B$ (Resistente)	$co_C co_C co_D co_D$ (Suscetível)	$Co_E Co_E co_F co_F$ (Resistente)	$Co_G Co_G co_H co_H$ (Resistente)	$co_I co_I Co_J Co_J$ (Resistente)	$co_K co_K Co_L Co_L$ (Resistente)

¹ *Co* simboliza os alelos dominantes e *co* simboliza os alelos recessivos. As letras, A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K e L simbolizam os genes de resistência identificados.

² Fenótipo das cultivares para cada isolado

5 DISCUSSÃO

A obtenção de cultivares resistentes à raça 65 de *C. lindemuthianum* é um dos principais objetivos em programas de melhoramento genético do feijoeiro no Brasil, que visam resistência à antracnose. No entanto, como foi observado no presente trabalho e em estudos anteriores, (DAVIDE; SOUZA, 2009; ISHIKAWA; SOUZA; DAVIDE, 2008) há uma acentuada variabilidade patogênica dentro desta raça, o que dificulta o desenvolvimento de cultivares com resistência durável. Assim, diante dessa variabilidade que tem sido detectada dentro da raça 65 e em outras raças regionalmente importantes, como as raças 73, 81 e 89 (FERREIRA; CAMPA; KELLY, 2013; SANTOS et al., 2008), faz-se necessário a identificação de fontes de resistência que discriminem a variação existente dentro dessas raças, assim como tem sido realizado para a raça 65 e 81 de *C. lindemuthianum* (ISHIKAWA et al., 2012b; ISHIKAWA; RAMALHO; SOUZA, 2011). Essas novas cultivares podem ser utilizadas como complementares ao conjunto internacional de cultivares diferenciadoras e permitir uma melhor caracterização dos isolados pertencentes à estas raças.

De acordo com a Tabela 6, observa-se que oito padrões diferentes de reação foram encontrados entre as 12 cultivares comerciais de feijoeiro quando estas foram inoculadas com diferentes isolados pertencentes à raça 65 de *C. lindemuthianum*. Além disso, como foram encontrados seis diferentes espectros de virulência entre os isolados, era esperado que estas cultivares apresentassem pelo menos seis genes diferentes conferindo resistência aos sete isolados avaliados. Contudo, foi observada a presença de 12 genes, sendo genes duplicados conferindo resistência à um isolado específico. Esses resultados estão de acordo com a teoria gene-a-gene proposta por Flor (1956, 1971) e evidencia a presença da resistência vertical, já relatada na literatura para esse patossistema (DAVIDE; SOUZA, 2009). Campa et al. (2014) também enfatiza

que a interação entre genótipos de *P. vulgaris* e *C. lindemuthianum* é altamente específica. No entanto, foi evidenciado nesta pesquisa que esta especificidade vai além de raças, ela também se encontra dentro de isolados de uma mesma raça, indicando a necessidade de reclassificar e renomear as raças e alelos de resistência.

De acordo com Sacristán e García-Arenal (2008) na interação gene-a-gene, a co-evolução patógeno-hospedeiro levará os patógenos a alterar os seus fatores de avirulência (Avr) para evitar o reconhecimento dependente da proteína de resistência (R), bem como a evolução do hospedeiro a novas especificidades em suas proteínas R para identificar os fatores Avr correspondentes. Existe ampla evidência para o polimorfismo alélico nos locos R e Avr em plantas e patógenos, respectivamente (PARKER; GILBERT, 2004; THRALL; BURDON; YOUNG, 2001). No presente trabalho, foi verificado que a resistência das cultivares avaliadas aos seis isolados da raça 65 é controlada por seis genes duplicados diferentes. É intrigante o fato de existirem tantos genes duplicados envolvidos no controle genético da resistência a esses isolados. Qual seria a vantagem do ponto de vista evolutivo? Uma hipótese é que o hospedeiro tendo um gene(s) duplicado(s), uma das cópias seria como uma reserva que poderia ser modificada e, portanto, poderia reconhecer uma proteína de avirulência diferente. Como o feijão é uma espécie autógama e a taxa de cruzamento é baixa (MARQUES JÚNIOR; RAMALHO, 1995), a recombinação também ocorre em baixa frequência e, assim, a presença de genes de resistência duplicados seria vantajosa.

Há relatos na literatura da ocorrência de blocos de genes de resistência em arroz que se originaram por processos de duplicação em tandem de segmentos cromossômicos e subsequente divergência sob pressão seletiva de patógenos (THE RICE CHROMOSOMES 11 AND 12 SEQUENCING CONSORTIA, 2005). Em trigo, tem sido verificado uma alta frequência de

duplicação gênica em regiões de alta recombinação, onde normalmente estão localizados os genes de resistência, os quais necessitam de evolução rápida (AKHUNOV et al., 2003; BENNETZEN, 2007). Blocos gênicos conferindo resistência as várias raças de *C. lindemuthianum* têm sido identificados em vários grupos de ligação do feijoeiro (CAMPA et al., 2014; FERREIRA; CAMPA; KELLY, 2013). Por outro lado, *C. lindemuthianum* apresenta ampla variabilidade oriunda de mecanismos de recombinação sexual e assexual (BARCELOS et al., 2014; ISHIKAWA et al., 2012a; SOUZA; CAMARGO JÚNIOR; PINTO, 2010). A ocorrência de tubos de anastomoses entre conídios (CATs), um mecanismo de recombinação assexual, é comum em *C. lindemuthianum* e tem sido observada em diferentes isolados da raça 65 (PINTO et al., 2012). Os CATs provavelmente têm também contribuído para a rápida evolução dos fatores Avr nesta espécie. Além disso, a rápida evolução de genes R no hospedeiro e Avr no patógeno têm sido atribuída a presença de elementos transponíveis nos cromossomos de ambas as espécies (DEVOS, 2010).

No caso, do feijoeiro, tem sido relatada a ocorrência de alelos múltiplos para os genes de resistência *Co-1*, *Co-3*, *Co-4* e *Co-5*. Dessa forma, nos cruzamentos em que foram observadas segregações 3R:1S na geração F₂ quando inoculadas com diferentes isolados da raça 65 sugere-se a obtenção de famílias F_{2:3} para avaliar a presença de alelos múltiplos.

Nove diferentes alelos de diferentes genes *Co*'s já foram identificados conferindo resistência à raça 65 de *C. lindemuthianum*, sendo eles, *Co-2*, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6*, *Co-12*, *Co-13*, *Co-14*, *Co-15* e *Co-17* (Tabela 2). Além desses, recentemente, Campa et. al. (2014) identificou um alelo de resistência à esta raça dentro do bloco *Co-1* no grupo de ligação Pv01 na linhagem Xana. Neste mesmo trabalho, também foi identificado, no bloco gênico *Co-2* do grupo de ligação Pv11, outro alelo conferindo resistência à raça 65 nesta mesma cultivar. Portanto, futuros trabalhos deverão ser conduzidos com o objetivo de verificar se

os 12 genes encontrados nesse estudo, cujos alelos dominantes conferem resistência à diferentes isolados da raça 65, são diferentes dos genes já descritos na literatura. Como todos os isolados pertencem à raça 65, implica que todos vencem a resistência do *Co-11* (1) e do *Co-3* (64). Portanto, para melhor caracterizar os 12 alelos de resistência identificados, devem ser realizados cruzamentos das novas fontes de resistência com as doze cultivares diferenciadoras internacionais, especificadamente com a Michelite (1) e a México 222 (64), que são padrões para identificar novos alelos de resistência de *Co-11* e *Co-3*.

As cultivares, Cornell 49-242, TO, G2333, PI 207.262, TU e AB 136 portadoras dos respectivos alelos de resistência, *Co-1*, *Co-2*, *Co-4*, *Co-4*², *Co-4*³, *Co-5* e *Co-6*, que conferem resistência à várias raças de *C. lindemuthianum*, inclusive à 65, foram muito utilizadas em programas de melhoramento do feijoeiro no Brasil, visando a incorporação desses genes em cultivares adaptadas (ALZATE-MARIN et al., 2004; HAGIWARA; SANTOS; CARMO, 2001; MARCONDES; PEREIRA; SANTOS, 2010; PEREIRA; SANTOS, 2004; RAMALHO; SANTOS, 1986). Dessa forma, entre os doze genes de resistência encontrados nas cultivares comerciais de feijoeiro utilizadas nesse estudo, possivelmente, estejam presentes alguns desses alelos anteriormente citados.

A cultivar Ouro Negro, utilizada neste trabalho, possui o gene de resistência *Co-10* identificado por Alzate-Marin et al. (2003a) e renomeado *Co-3*⁴ por Gonçalves-Vidigal et al. (2013). Apesar do amplo espectro de resistência conferido por este gene, este não confere resistência à raça 65 e, em vários trabalhos, a cultivar Ouro Negro tem sido relatada como suscetível à esta raça (ALZATE-MARIN et al., 2003a, 2007; GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2011). No entanto, neste trabalho, cinco genes duplicados envolvidos na resistência à cinco isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* foram identificados nessa cultivar. A cultivar Talismã, por sua vez, considerada resistente à raça 65 e

recomendada para cultivo no estado de Minas Gerais (ABREU et al., 2004), apresentou reação de suscetibilidade à todos os isolados utilizados nesse estudo. A suscetibilidade desta cultivar à certos isolados da raça 65 também tem sido relatada por Davide e Souza (2009) e Souza et al. (2005). Portanto, esses resultados confirmam que a caracterização de uma cultivar como resistente ou suscetível à uma determinada raça de *C. lindemuthianum* pode variar de acordo com o isolado utilizado nas inoculações.

Diante da grande variabilidade patogênica que o fungo apresenta, para melhor caracterização da reação de cultivares à uma determinada raça, a avaliação destas deve ser realizada com mais de um isolado pertencente à referida raça. Além disso, os isolados devem ser coletados na mesma região geográfica para qual a cultivar será recomendada.

Algumas estratégias de melhoramento recomendadas para obtenção de resistência durável à antracnose são a piramidação de genes de resistência à diferentes raças de *C. lindemuthianum* e o uso de multilinhas contendo diferentes genes de resistência (ALZATE-MARIN et al., 1999; BOTELHO et al., 2011; MCDONALD; LINDE, 2002; PEREIRA; SANTOS, 2004). No entanto, como foi verificado neste trabalho, existem diferentes genes controlando a resistência à diferentes isolados de uma mesma raça de *C. lindemuthianum*. Dessa forma, as cultivares com genes de resistência piramidados, podem não apresentar uma vida útil de resistência, tão duradoura. Isso porque no desenvolvimento dessas cultivares, utiliza-se normalmente apenas um isolado de cada raça nas inoculações artificiais. Além disso, os genes de resistência já identificados e utilizados em programas de melhoramento, provavelmente também não conferem resistência à todos os isolados pertencentes à uma mesma raça. Já a utilização de multilinhas derivadas de cultivares com diferentes genes de resistência à diferentes isolados de várias

raças, poderiam propiciar melhores resultados, pois estas podem funcionar como uma armadilha para cada raça.

Considerando a ocorrência de tantos genes conferindo resistência à diferentes raças e à diferentes isolados de uma mesma raça, uma outra estratégia interessante para se acumular uma grande quantidade de genes de resistência em uma dada cultivar seria a criação de um programa de seleção recorrente visando resistência à antracnose, pois a seleção recorrente é um método bastante eficiente para a acumulação de alelos favoráveis provenientes de diferentes cultivares.

Embora nenhuma das cultivares utilizadas nesse trabalho seja resistentes à todos os isolados avaliados, elas possuem diferentes genes de resistência à raça 65 de *C. lindemuthianum*. Dessa forma, estas cultivares podem ser utilizadas em programas de melhoramento que visam obter resistência à raça 65, com a vantagem de serem adaptadas às condições brasileiras de cultivo e já apresentarem fenótipos favoráveis para vários caracteres de interesse agrônômico.

Os resultados obtidos nesse trabalho corroboram com as evidências encontradas em diversos trabalhos a cerca da variabilidade patogênica dentro de isolados de uma mesma raça, confirmando que existem diferentes genes envolvidos no controle genético da resistência do feijoeiro à diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum*.

6 CONCLUSÃO

A resistência de linhagens de feijoeiro à seis diferentes isolados da raça 65 de *C. lindemuthianum* é controlada por 12 genes, sendo que para cada isolado, a resistência é condicionada por genes duplicados em que o alelo dominante confere resistência.

REFERÊNCIAS

ABREU, A. F. B. et al. “BRSMG Talismã”: common bean cultivar with Carioca grain type. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 3, p. 372-374, July 2004.

AKHUNOV, E. D. et al. Synteny perturbations between wheat homoeologous chromosomes caused by locus duplications and deletions correlate with recombination rates. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 100, n. 19, p. 10836-10841, 2003.

ALZATE-MARIN, A. L. et al. Backcross assisted by RAPD markers for the introgression of Co-4 and Co-6 anthracnose resistant genes in common bean cultivars. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 42, p. 15-16, 1999.

ALZATE-MARIN, A. L. et al. Characterization of the anthracnose resistance gene present in Ouro Negro (Honduras 35) common bean cultivar. **Euphytica**, Wageningen, v. 133, n. 2, p. 165-169, Aug. 2003a.

ALZATE-MARIN, A. L. et al. Genetic characterization of anthracnose resistance genes *Co-4*³ and *Co-9* in common bean cultivar tlalnepantla 64 (PI 207262). **Euphytica**, Wageningen, v. 154, n. 1/2, p. 1-8, Mar. 2007.

ALZATE-MARIN, A. L. et al. Identification of the second anthracnose resistant gene present in the common bean cultivar PI 207.262. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 46, p. 177-178, 2003b.

ALZATE-MARIN, A. L. et al. Inheritance of anthracnose resistance in common bean differential cultivar AB 136. **Plant Breeding**, Berlin, v. 81, n. 9, p. 996-998, 1997.

ALZATE-MARIN, A. L. et al. Introgression of *Co-4*² and *Co-5* anthracnose resistance genes into “ Carioca ” Common bean cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 4, p. 446-451, Dec. 2004.

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

BALARDIN, R. S.; KELLY, J. Interaction between *Colletotrichum lindemuthianum* races and gene pool diversity in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 123, n. 6, p. 1038-1047, 1998.

BANNEROT, H.; DERIEUX, M.; FOUILLOUX, G. Mise en évidence d'un second gène de résistance totale à l'antracnose chez le haricot. **Annual Amélior Plantes**, Ithaca, v. 21, p. 83-85, 1971.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. de O. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2012. 247p.

BARCELOS, L. et al. Characterization of *Glomerella* strains recovered from anthracnose lesions on common bean plants in Brazil. **Plos One**, San Francisco, v. 9, n. 3, p. 1-15, 2014.

BARCELOS, Q. L. et al. Investigation of sources of resistance to anthracnose disease in *Phaseolus vulgaris* germplasm collection in Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 56, p. 37-38, 2013.

BARRUS, M. F. Variation of varieties of bean in their susceptibility to anthracnose. **Phytopathology**, Saint 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**, Saint Paul, v. 8, p. 589-614, 1918.

BENNETZEN, J. L. Patterns in grass genome evolution. **Current Opinion in Plant Biology**, Oxford, v. 10, n. 2, p. 176-81, 2007.

BOTELHO, F. B. S. et al. Multiline as a strategy to reduce damage caused by *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 159, n. 3, p. 175-180, 2011.

BURKHOLDER, W. H. The production of an anthracnose-resistant white marrow bean. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 8, p. 353-359, 1918.

CAMPA, A. et al. Genetic analysis of the response to eleven *Colletotrichum lindemuthianum* races in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BMC Plant Biology**, London, v. 14, n. 115, p. 1-12, Apr. 2014.

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, mar. 1999.

CASTRO, S. A. L. et al. Inheritance and allelic relationships of anthracnose resistance in common bean Paloma cultivar. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 57, p. 163-164, 2014.

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

CHIORATO, A. F. et al. Co-evolução entre raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e feijoeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 3, p. 381-388, 2006.

COELHO, R. T. et al. Characterization of the anthracnose resistance gene in the mesoamerican common bean cultivar Crioulo 159. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 56, p. 43-44, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Séries históricas: feijão 1^a, 2^a e 3^a safra**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 5 jan. 2015.

CRISPÍN, M. A.; SIFUENTES, J.; AVILA, J. C. **Enfermedades y plagas del frijol en México**. México: INIA, 1976. 42p. (Folleto de Divulgación, 39).

CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DANGL, J. L. Pivoting the plant immune system. **Science**, New York, v. 341, n. 6147, p. 745-751, Aug. 2013.

DAVIDE, L. M. C.; SOUZA, E. A. de. Pathogenic variability within race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum* and its implications for common bean breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 9, n. 1, p. 23-30, Jan. 2009.

DEVOS, K. M. Grass genome organization and evolution. **Current Opinion in Plant Biology**, Oxford, v. 13, n. 2, p. 139-145, 2010.

FERREIRA, J. J.; CAMPA, A.; KELLY, J. D. Organization of genes conferring resistance to anthracnose in common bean. In: VARSHNEY, R. K.; TUBEROSA, R. (Ed.). **Translational genomics for crop breeding**. Iowa:J. Wiley, 2013. p. 151-176.

FERREIRA, J. J. et al. Reaction of a bean germplasm collection against five races of *Colletotrichum lindemuthianum* identified in northern Spain and implications for breeding. **Plant Disease**, Quebec, v. 92, n. 5, p. 705-708, May 2008.

FLOR, H. H. The complementary genic systems in flax and flax rust. **Advances in Genetics**, New York, v. 8, p. 29-54, 1956.

FLOR, H. H. Current status of the gene-for-gene concept. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 9, p. 275-296, 1971.

FOUILLOUX, G. Bean anthracnose: new genes of resistance. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 19, p. 36-37, 1976.

FOUILLOUX, G. New races of bean anthracnose and consequences on our breeding programs. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON DISEASES OF TROPICAL FOOD CROPS, 3., 1979, Louvain-la-Neuve. **Proceedings...** Louvain-la-Neuve: Université Catholique de Louvain, 1979. p. 221-235.

GEFFROY, V. et al. Identification of an ancestral resistance gene cluster involved in the coevolution process between *Phaseolus vulgaris* and its fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 12, n. 9, p. 774-784, 1999.

GEFFROY, V. et al. Resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in *Phaseolus vulgaris*: a case study for mapping two independent genes. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 116, n. 3, p. 407-415, 2008.

GEPTS, P. A middle american and an andean common bean gene pool. In: _____. **Genetic resources of phaseolus beans**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1988. p. 375-390.

GONÇALVES, A. M. O. et al. Characterization of the anthracnose resistance gene in andean common bean Corinthiano cultivar. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 53, p. 220-221, 2010.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Allelic relationships of anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) resistance in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Michelite and the proposal of a new anthracnose resistance gene, Co-11. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 3, p. 589-593, 2007.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Co-segregation analysis and mapping of the anthracnose *Co-10* and angular leaf spot *Phg-ON* disease-resistance genes in the common bean cultivar Ouro Negro. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 126, n. 9, p. 2245-2255, 2013.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Common bean landrace Jalo Listras Pretas is the source of a new andean anthracnose resistance gene. **Crop Science**, Madison, v. 49, n. 1, p. 133-138, 2009.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Genetic analysis of anthracnose resistance in “Pitanga” dry bean cultivar. **Plant Breeding**, Berlin, v. 131, n. 3, p. 423-429, 2012.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Linkage mapping of the Phg-1 and Co-1⁴ genes for resistance to angular leaf spot and anthracnose in the common bean cultivar AND 277. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 122, n. 5, p. 893-903, 2011.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Resistance of common bean cultivar AB 136 to Races 31 and 69 of *Colletotrichum lindemuthianum*: the Co-6 Locus. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 99-104, 2001.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; KELLY, J. D. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean cultivar Widusa. **Euphytica**, Wageningen, v. 151, n. 3, p. 411-419, 2006.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; LACANALLO, G. F.; VIDIGAL FILHO, P. S. A new gene conferring resistance to anthracnose in Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar “Jalo Vermelho”. **Plant Breeding**, Berlin, v. 127, n. 6, p. 592-596, 2008.

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

GUTTMAN, D.; MCHARDY, A. C.; SCHULZE-LEFERT, P. Microbial genome-enabled insights into plant-microorganism interactions. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 15, n. 12, p. 797-813, 2014.

HABGOOD, R. M. Designation of physiological races of plant pathogens. **Nature**, London, v. 227, p. 1268-1269, 1970.

HAGIWARA, W. E.; SANTOS, J. B.; CARMO, S. L. M. Use of RAPD to aid selection in common bean backcross breeding programs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 4, p. 355-362, 2001.

ISHIKAWA, F. H. et al. Heterokaryon incompatibility is suppressed following conidial anastomosis tube fusion in a fungal plant pathogen. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 2, p. 1-9, 2012a.

ISHIKAWA, F. H. et al. Investigating variability within race 81 of *Colletotrichum lindemuthianum* strains from Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 55, p. 141-142, 2012b.

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. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2005. p. 501-504.

ISHIKAWA, F. H.; RAMALHO, M. A. P.; SOUZA, E. A. Common bean lines as potential differential cultivars for race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 93, n. 2, p. 461-464, 2011.

ISHIKAWA, F. H.; SOUZA, E. A.; DAVIDE, L. M. C. Genetic variability within isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* belonging to race 65 from the state of Minas Gerais, Brazil. **Biologia**, Lahore, v. 63, n. 2, p. 156-161, 2008.

KELLY, J. D.; VALLEJO, V. A. A comprehensive review of the major genes conditioning resistance to anthracnose in common bean. **HortScience**, Alexandria, v. 39, n. 6, p. 1196-1207, Oct. 2004.

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

KIMATI, H. Algumas raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. que ocorrem no Estado de São Paulo. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, v. 23, p. 247-264, 1966.

KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, 690 p.

LIMA, I. A.; SANTOS, J. B.; RAMALHO, M. A. P. Are the common bean *Co-3* and *Co-7* resistant alleles to anthracnose the same? **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 51, p. 188-189, 2008.

LOBO JÚNIOR, M. Fitossanidade. In: RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. de F. B.; GUILHERME, S. R. (Ed.). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região Central-Brasileira: 2015-2017**. Lavras: FUNDECC, 2014. p. 106-163.

MAHUKU, G. S.; RIASCOS, J. J. Virulence and molecular diversity within *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Andean and Mesoamerican bean varieties and regions. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 110, n. 3, p. 253-263, 2004.

MARCONDES, E. H. K.; PEREIRA, H. S.; SANTOS, J. B. Seleção de linhagens de feijoeiro com tipo de grão carioca e com os alelos *Co-4* e *Co-5* de resistência à antracnose. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 975-982, 2010.

MARQUES JÚNIOR, O. G.; RAMALHO, M. A. P. Determinação da taxa de fecundação cruzada do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) nas diferentes épocas de semeadura em Lavras, MG. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 19, n. 3, p. 339-341, 1995.

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

MCDONALD, B. A.; LINDE, C. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. **Euphytica**, Wageningen, v. 124, n. 2, p. 163-180, Mar. 2002.

MCROSTIE, G. P. Inheritance of anthracnose resistance as indicated by a cross between a resistant and a susceptible bean. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 9, p. 141-148, 1919.

MELO, L. C.; SANTOS, J. B. Identification of resistant genotypes considering polygenic systems in host-pathogen interaction. **Genetics and Breeding**, Rome, v. 22, n. 4, p. 601-608, 1999.

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

MÉNDEZ-VIGO, B. et al. Molecular markers and allelic relationships of anthracnose resistance gene cluster B4 in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 141, n. 3, p. 237-245, 2005.

MIKLAS, P. N. et al. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. **Euphytica**, Wageningen, v. 147, n. 1/2, p. 105-131, 2006.

O'CONNELL, R. J.; BAILEY, J. A.; RICHMOND, D. V. Cytology and physiology of infection of *Phaseolus vulgaris* by *Colletotrichum lindemuthianum*. **Physiological Plant Pathology**, New York, v. 27, n. 1, p. 75-98, 1985.

PARKER, I. M.; GILBERT, G. S. The evolutionary ecology of novel plant-pathogen interactions. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, Palo Alto, v. 35, n. 1, p. 675-700, 2004.

PASTOR-CORRALES, M. A. Estandarizacion de variedades diferenciales y de designacion de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 81, n. 6, p. 694, June 1991.

PASTOR-CORRALES, M. A. Tradicional and molecular confirmation of the coevolution of beans and pathogens in Latin America. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 39, p. 46-47, 1996.

PAULA JÚNIOR, T.; WENDLAND, A. **Melhoramento genético do feijoeiro-comum e prevenção de doenças**. Viçosa, MG: EPAMIG Zona da Mata, 2012. 157 p.

PAULA JÚNIOR, T. J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BOREM, A. (Ed.). **Feijão**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. p. 359-414.

PEREIRA, H. S.; SANTOS, J. B. Genetic constitution of anthracnose-resistance in common bean lines. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 4, p. 422-426, 2004.

PEREIRA, R. et al. Occurrence of anthracnose in common bean cultivars collected in the state of Minas Gerais, Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 53, p. 224-225, 2010.

PERFECT, S. E. et al. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. **Fungal Genetics and Biology**, Orlando, v. 27, n. 2/3, p. 186-198, July/Aug. 1999.

PERFECT, S. E.; GREEN, J. R.; O'CONNELL, R. J. Surface characteristics of necrotrophic secondary hyphae produced by the bean anthracnose fungus, *Colletotrichum lindemuthianum*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 8, p. 813-819, 2001.

PINTO, A. C. S. et al. Análise do padrão espacial e do gradiente da antracnose do feijoeiro em duas épocas de cultivo. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 27, n. 4, p. 392-398, out./dez. 2001.

PINTO, J. M. A. et al. Investigating phenotypic variability in *Colletotrichum lindemuthianum* populations. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 102, n. 5, p. 490-497, 2012.

POLETINE, J. P. et al. Inheritance of resistance to races 69 and 453 of *Colletotrichum lindemuthianum* in the common bean. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 43, n. 5, p. 479-485, 2000.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. Novas linhagens de feijoeiro obtidas no programa de melhoramento da ESAL. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 10, n. 3, p. 343-350, 1986.

ROBINSON, R. A. Vertical resistance. **Review of Plant Pathology**, Farnham Royal, v. 50, p. 233-239, 1971.

ROCA, M. G. et al. Cell biology of conidial anastomosis tubes in *Neurospora crassa*. **Eukaryotic Cell**, Lawrence, v. 4, n. 5, p. 911-919, 2005.

SACRISTÁN, S.; GARCÍA-ARENAL, F. The evolution of virulence and pathogenicity in plant pathogen populations. **Molecular Plant Pathology**, London, v. 9, n. 3, p. 369-384, 2008.

SANTOS, J. et al. Virulência das raças 65, 73 E 81 DE *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. e determinação de fontes de resistência em *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 14, n. 3/4, p. 115-124, jul./set. 2008.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A. Antracnose. In: **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: EMBRAPA, 1994. p. 41-68.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; RIOS, G. P. Doenças fúngicas e bacterianas da parte aérea. In: ARAÚJO, R. S. et al. (Ed.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996. p. 669-700.

SCHOONHOVEN, A.; PASTOR-CORRALES, M. A. **Standard system the evaluation of bean germoplasm**. Cali: CIAT, 1987. 54 p.

SCHWARTZ, H. F.; PASTOR-CORRALES, M. A. Anthracnose. In: SCHWARTZ, H. F. et al. (Ed.). **Compendium of bean diseases**. Saint Paul: APS, 2005. p. 25-27.

SCHWARTZ, H. F.; PASTOR-CORRALES, M. A. **Bean production problems in the tropics**. 2nd ed. Cali: CIAT, 1989. 726 p.

SILVA, K. J. D. e; SOUZA, E. A. de; ISHIKAWA, F. H. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from the State of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 155, n. 4, p. 241-247, 2007.

SILVÉRIO, L. et al. Genetic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* race 2047 in G 2333. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 45, p. 74-75, 2002.

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

SOUSA, L. L. et al. Genetic mapping of the resistance allele *Co-5²* to *Colletotrichum lindemuthianum* in the common bean MSU 7-1 line. **Australian Journal of Crop Science**, Melbourne, v. 8, n. 2, p. 317-323, 2014.

SOUZA, E. A.; CAMARGO JÚNIOR, O. A.; PINTO, J. M. A. Sexual recombination in *Colletotrichum lindemuthianum* occurs on a fine scale. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 3, p. 1759-1769, 2010.

SOUZA, T. L. P. O. de et al. Phenotypic and molecular characterization of cultivar BRSMG-Talismã regarding the principal common bean pathogens. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 2, p. 247-252, May 2005.

STERGIOPOULOS, I.; DE WIT, P. J. G. M. Fungal effector proteins. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 47, p. 233-263, 2009.

THE RICE CHROMOSOMES 11 AND 12 SEQUENCING CONSORTIA. The sequence of rice chromosomes 11 and 12, rich in disease resistance genes and recent gene duplications. **BMC Biology**, London, v. 3, n. 20, p. 1-18, 2005.

THRALL, P. H.; BURDON, J. J.; YOUNG, A. Variation in resistance and virulence among demes of a plant host-pathogen metapopulation. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 89, n. 5, p. 736-748, 2001.

VALLEJO, V.; KELLY, J. D. New insights into the anthracnose resistance of common bean landrace G 2333. **The Open Horticulture Journal**, Beijing, v. 2, n. 1, p. 29-33, 2009.

VANDERPLANK, J. E. **Plant diseases: epidemics and control**. New York: Academic, 1963. 349 p.

VIEIRA, C. Melhoramento do feijão. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 301-392.

VIEIRA, R. F.; VIEIRA, C.; RAMOS, J. A. O. **Produção de sementes de feijão**. Viçosa, MG: EPAMIG, 1993. 131 p.

WANDER, A. E. Socioeconomia. In: RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. de F. B.; GUILHERME, S. R. (Ed.). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central-brasileira: 2015-2017**. Lavras: FUNDECC, 2014. p. 15-35.

WHARTON, P. S.; JULIAN, A. M.; O'CONNELL, R. J. Ultrastructure of the infection of sorghum bicolor by *Colletotrichum sublineolum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 91, n. 2, p. 149-158, 2001.

YOUNG, R. A. et al. Marker-assisted dissection of the oligogenic anthracnose resistance in the common bean cultivar "G 2333". **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 96, n. 1, p. 87-94, Jan. 1998.

ZHANG, Y.; LUBBERSTEDT, T.; XU, M. The genetic and molecular basis of plant resistance to pathogens. **Journal of Genetics and Genomics**, New York, v. 40, n. 1, p. 23-35, 2013.