

# **Herança da Resistência à Antracnose na Cultivar de Feijoeiro Comum Cornell 49-242**

**Ana Lilia A. Marin<sup>1</sup>, Márcia Regina Costa<sup>1</sup>, Henrique Menarim<sup>1</sup>, Maurilio A. Moreira<sup>2</sup> & Everaldo G. Barros<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária - BIOAGRO, e-mail: analazatem@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, e-mail: moreira@ufv.br, <sup>3</sup>Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, e-mail: ebarros@ufv.br. CEP 36571-000, Viçosa, MG, fax (031) 3899-2864

(Aceito para publicação em 09/04/2003)

Autor para correspondência: Ana Lilia Alzate-Marin

ALZATE-MARIN, A.L., COSTA, M.R., MENARIM, H., MOREIRA, M.A. & BARROS, E.G. Herança da resistência à antracnose na cultivar de feijoeiro comum Cornell 49-242. Fitopatologia Brasileira 28:302-306. 2003.

## **RESUMO**

A cultivar de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) Cornell 49-242, possuidora do gene de resistência *Co-2* (*Are*), é uma das mais antigas fontes de resistência à antracnose, causada por *Colletotrichum lindemuthianum*. Visando a utilização desta fonte no programa de piramidação de genes em cultivares do tipo “carioca” do BIOAGRO/UFV, este trabalho teve como objetivos: (1) definir o padrão de herança da resistência da cultivar de feijoeiro Cornell 49-242 em cruzamentos com cultivares suscetíveis às raças 81 (Rudá) e 65 (Rudá e Ouro Negro) de *C. lindemuthianum* e (2) avaliar o marcador RAPD OPQ04<sub>1440C</sub> ligado ao gene *Co-2* em

populações  $F_2$  do cruzamento Rudá vs. Cornell 49-242. Os resultados indicaram que três genes dominantes, sendo dois de caráter complementar, controlam a resistência ao patótipo 81 de *C. lindemuthianum*, enquanto que um gene dominante e um recessivo controlam a resistência ao patótipo 65. O marcador OPQ04<sub>1440C</sub>, previamente identificado como ligado ao gene *Co-2*, pode ser usado, na prática, nesta população, para selecionar linhagens  $F_{2,3}$  contendo o gene *Co-2*.

**Palavras-chave adicionais:** *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaseolus vulgaris*, marcadores moleculares, genes da resistência.

## **ABSTRACT**

### **Inheritance of Resistance to Anthracnose in the Common Bean Cultivar Cornell 49-242**

The cultivar Cornell 49-242 of common bean (*Phaseolus vulgaris*) harbors the *Co-2* gene (*Are*) one of the oldest sources of resistance to anthracnose, caused by *Colletotrichum lindemuthianum*. Aiming to use this gene in the breeding program being conducted at the BIOAGRO/UFV, by pyramiding resistance genes in “carioca-type” cultivars, this work had the following objectives: (1) to determine the inheritance pattern of resistance of cultivar Cornell 49-242 in crosses with cultivars Rudá (susceptible to *C.*

*lindemuthianum* races 81 and 65) and Ouro Negro (susceptible to race 65) and (2) to evaluate the RAPD marker OPQ04<sub>1440C</sub> linked to the *Co-2* gene in  $F_2$  populations derived from the cross Rudá vs. Cornell 49-242. The results indicated the involvement of three independent dominant genes, two of which behave as complementary factors that control resistance to pathotype 81, and one dominant and one recessive genes which control resistance to pathotype 65. The marker OPQ04<sub>1440C</sub> previously identified as linked to *Co-2* gene can be used to select  $F_{2,3}$  lines in these populations for the presence or absence of the *Co-2* gene.

Organismos fitopatogênicos são grandes responsáveis por perdas significativas nas lavouras de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), chegando muitas vezes a inviabilizar a cultura em determinadas regiões. O fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib., agente causal da antracnose do feijoeiro comum, encontra-se entre os principais patógenos desta cultura. Este patógeno apresenta grande diversidade e muitos patótipos já foram identificados no Brasil e no mundo. As perdas causadas pela antracnose podem chegar a 100%, principalmente quando são empregadas sementes infetadas de cultivares suscetíveis, podendo ser maiores quanto mais precoce for o aparecimento da doença na lavoura. Além de diminuir o rendimento da cultura, a antracnose deprecia a qualidade do produto por ocasionar manchas no grão, tornando-o impróprio para o consumo. No Brasil, a antracnose é prevalente nos principais

estados produtores como Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Pernambuco, sendo importante ainda nos estados do Espírito Santo, Alagoas, Sergipe e Paraíba (Rava *et al.*, 1994).

No passado, a cultivar Cornell 49-242, fonte do gene de resistência à antracnose do feijoeiro *Are* ou *Co-2* (Basett, 1996), foi extensivamente utilizada e hoje faz parte das genealogias de um grande número de cultivares e linhagens provenientes do CIAT (Alzate-Marin *et al.*, 2001). Na caracterização com 35 patótipos identificados no Brasil entre os anos de 1994 e 2000, a cultivar Cornell 49-242 apresentou resistência aos patótipos 1, 7, 23, 55, 64, 65, 67, 69, 71, 81, 83, 86, 87, 97, 101, 102, 117, 119, 320, 339, 343, 453 (Rava *et al.*, 1994; Andrade *et al.*, 1999) e 31 (Thomazella *et al.*, 2000) e suscetibilidade aos patótipos 8, 72, 73, 75, 79, 89, 95, 121, 137, 217, 249 e 585 (Rava *et al.*, 1994;

Andrade *et al.*, 1999). Andrade *et al.* (1999) demonstraram que os patótipos 65, 72, 73, 81 e 89 foram os mais freqüentes no Brasil, sendo que os patótipos 65, 73 e 81 tiveram a maior distribuição nos Estados analisados. Assim, em termos gerais, a cultivar Cornell 49-242 tem um amplo espectro de resistência, apresentando incompatibilidade com 22 dos 35 patótipos identificados nesses trabalhos, incluídos os patótipos 65 e 81. Estes dados mostram a importância desta cultivar como fonte de resistência à antracnose do feijoeiro no Brasil, tanto em programas de melhoramento convencionais quanto naqueles que visem a piramideação de genes de resistência de espectro complementar, com o auxílio de marcadores moleculares.

Os marcadores moleculares do tipo RAPD ("Random amplified polymorphic DNA") OPH20<sub>450C</sub>, OPQ4<sub>1440C</sub> e B355-<sub>1000C</sub>, ligados ao gene *Co-2* de isolinhas altamente endogâmicas derivadas da cultivar Cornell 49-242, foram previamente identificados (Adam-Blondon *et al.*, 1994; Young & Kelly, 1996). Estes marcadores podem ser úteis em programas de melhoramento que utilizem este gene como fonte de resistência à antracnose.

No programa de melhoramento do feijoeiro do BIOAGRO/UFV o gene *Co-2* (*Are*) é um dos genes que serão piramidados no background genético Rudá, feijão de tipo comercial "carioca". Assim, este trabalho teve como objetivos: 1) determinar o padrão de herança da resistência da cultivar Cornell 49-242 em cruzamentos com as cultivares Rudá e Ouro Negro, e 2) avaliar o marcador RAPD OPQ04<sub>1440C</sub> ligado ao gene *Co-2* da cultivar Cornell 49-242, em populações segregantes do cruzamento Rudá vs. Cornell 49-242.

Os patótipos 65 e 81 de *C. lindemuthianum*, usados neste trabalho estão incluídos no grupo de 25 patótipos identificados no Brasil (Rava *et al.*, 1994). As colônias monospóricas originais foram fornecidas pelos Drs. Carlos A. Rava e Aloísio Sartorato (Embrapa Arroz e Feijão, Goiânia, GO, Brasil) e mantidas na micoteca do BIOAGRO/UFV. O inóculo de cada patótipo foi produzido em tubos de ensaio contendo vagens esterilizadas e parcialmente imersas em meio ágar-água, as quais, após serem inoculadas com os patótipos de *C. lindemuthianum* desejados, foram incubadas por dez dias sob temperatura de 23 °C.

O material genético utilizado como fonte de resistência aos patótipos 65 e 81 de *C. lindemuthianum* foi a cultivar Cornell 49-242, cedida pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, Colômbia). A cultivar suscetível ao patótipo 81 de *C. lindemuthianum* usada nos cruzamentos foi a cultivar Rudá, a qual foi desenvolvida pelo CIAT, a partir do cruzamento entre as cultivares Carioca e Rio Tibagi, sendo introduzida no Brasil como linhagem A 285, pela Embrapa - Arroz e Feijão (Goiânia, GO). As cultivares suscetíveis ao patótipo 65 de *C. lindemuthianum* usadas nos cruzamentos com Cornell 49-242 foram as cultivares Rudá e Ouro Negro. Ouro Negro é uma cultivar de semente preta introduzida de Honduras, conhecida também como Honduras 35, que apresenta resistência a todos os patótipos de *C. lindemuthianum* identificados no Brasil com exceção do patótipo 65 (Arruda *et al.*, 2001). A cultivar Cornell 49-242 foi usada como genitor

masculino nos cruzamentos. Os cruzamentos e as populações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub> (derivados do cruzamento Rudá vs. Cornell 49-242) e F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> (derivados do cruzamento Ouro Negro vs. Cornell 49-242) foram conduzidos em casa de vegetação.

Três experimentos foram realizados para avaliar a herança da resistência aos patótipos 81 e 65 de *C. lindemuthianum*. No primeiro, 72 sementes F<sub>2</sub> (Rudá vs. Cornell 49-242), e 20 sementes de cada genitor foram semeadas em casa de vegetação. Antes da inoculação foi coletada uma folha primária de todas as plantas, as quais foram conservadas a -80 °C para posterior extração de DNA e avaliação de marcadores moleculares. Quinze dias após a semeadura, as plantas foram inoculadas com uma suspensão de inóculo contendo 1,2 x 10<sup>6</sup> esporos/ml do patótipo 81, nas faces abaxial e adaxial de uma das folhas primárias de cada uma das plantas, com o auxílio de um aparelho de Vilbis No. 15. As plantas foram incubadas por sete dias em câmara de nevoeiro, a qual foi mantida entre 20 e 22 °C e 100% de umidade relativa. Após este período, cada planta foi avaliada visualmente para os sintomas da doença usando uma escala de 1 a 9, na qual 1 (um) foi atribuído a plantas sem sintomas visíveis e 9 (nove) a plantas severamente doentes ou mortas. As plantas com graus de 1 a 3 foram consideradas resistentes, e as que apresentaram graus de 4 a 9 foram classificadas como suscetíveis (Rava *et al.*, 1993). No segundo experimento, foram semeadas em casa de vegetação, 79 sementes F<sub>2</sub> (Rudá vs. Cornell 49-242). A autofecundação das plantas correspondentes gerou 79 famílias F<sub>2:3</sub>. Doze sementes de cada uma destas famílias F<sub>2:3</sub>, e 95 e 56 sementes dos genitores Rudá e Cornell 49-242, respectivamente, foram semeadas, em casa de vegetação. Quinze dias após a semeadura, as 1.099 plantas resultantes foram inoculadas com uma suspensão de inóculo contendo 1,2 x 10<sup>6</sup> esporos/ml do patótipo 81. Os demais procedimentos de incubação, avaliação e classificação foram similares aos do primeiro experimento. No terceiro experimento, foram plantadas em casa de vegetação, 12 sementes de cada genitor e 50 sementes F<sub>2</sub> (Rudá vs. Cornell 49-242). Separadamente, foram plantadas 20 sementes de cada genitor e 95 sementes F<sub>2</sub> do cruzamento Ouro Negro vs. Cornell 49-242. As plantas destas duas populações foram inoculadas com o patótipo 65 de *C. lindemuthianum*. Os demais procedimentos de incubação, avaliação e classificação foram similares aos do primeiro experimento.

Amostras de DNA foram extraídas dos genitores e de cada indivíduo da população F<sub>2</sub> derivada do cruzamento Rudá vs. Cornell 49-242, de acordo com a metodologia descrita por Doyle & Doyle (1990). As reações de amplificação foram efetuadas em termociclador Perkin-Elmer, modelo 9600, de acordo com Williams *et al.* (1990). Os produtos de amplificação foram separados em gel de agarose 1,2% contendo 10 mg/ml de brometo de etídio, imerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0). As bandas de DNA foram visualizadas sob luz ultravioleta e fotodigitalizadas com o sistema de fotodocumentação Eagle Eye II (Stratagene).

O teste de Qui-quadrado foi usado para definir a herança da resistência a antracnose do feijoeiro da cultivar Cornell 49-242, em populações  $F_2$  e famílias  $F_3$ . A freqüência de recombinação entre o marcador OPQ4<sub>1440C</sub> e o gene de resistência foi calculada usando 72 indivíduos da população  $F_2$  originados do cruzamento entre Rudá e Cornell 49-242, inoculados com o patótipo 81 de *C. lindemuthianum*. A distância foi estimada pelo programa MAP-MAKER III, com um lod score mínimo de 3,0 (Lander *et al.*, 1987).

A razão de 57:7 (R:S) encontrada nas plantas  $F_2$  e nas famílias  $F_3$  derivadas do cruzamento Rudá vs. Cornell 49-242 indica que três genes dominantes independentes, sendo dois complementares, estão envolvidos na resistência ao patótipo 81 de *C. lindemuthianum* (Tabela 1). Assim, Cornell 49-242 possui dois genes que conferem resistência ao patótipo 81 de *C. lindemuthianum*, o primeiro não apresenta relação de epistasia. Tanto o segundo gene de Cornell 49-242 quanto um gene presente na cultivar Rudá conferem resistência só quando ambos estão presentes. O alelo recessivo de um destes genes é epistático sobre o alelo dominante do outro gene, gerando uma reação de suscetibilidade. A razão de 1:3 (R:S) observada na segregação das plantas  $F_2$  (Rudá vs. Cornell 49-242) e de 3:1 (Ouro Negro vs. Cornell 49-242), inoculadas com o patótipo 65 (Tabela 2), mostra que um gene recessivo e um dominante estão envolvidos na resistência da cultivar Cornell 49-242 a este patótipo.

A cultivar Cornell 49-242 é uma das mais antigas fontes de resistência à antracnose do feijoeiro comum, sendo o gene (ou loco complexo) *Co-2* inicialmente chamado de *Are* identificado por Mastenbroek em 1960 (Bassett, 1996). Diversas referências mostram tanto a simplicidade como a complexidade na genética da resistência envolvendo esta fonte. Trabalhos de Muhalet *et al.* (1981) e Peloso (1987) mostraram que nos cruzamentos com Cornell 49-242, a relação de segregação de 3:1 é a mais freqüente, mas segregações de 57:7, 9:7 e 7:9 foram também observadas em populações derivadas dos cruzamentos entre Cornell 49-242 e as cultivares Kaboon, Costa Rica e Michelite, inoculadas com os patótipos gama, BA -10 delta, e BA-5, respectivamente. Segregações que mostraram dominância e recessividade podem ser explicadas pela ação de multigenes que compõem o loco complexo *Co-2* (Geffroy *et al.*, 1998). Assim, diferentes genes que compõem esse loco poderiam ser detectados quando diferentes cruzamentos e diferentes patótipos são estudados.

O marcador OPQ04<sub>1440C</sub>, identificado como ligado ao gene *Co-2* na isolinha Andina K86002 a  $2,0 \pm 1,4$  cM e na isolinha mesoamericana A4512 a  $5,5 \pm 2,3$  cM (Young & Kelly, 1996), ambas descendentes de Cornell 49-242, foi testado em amostras de DNA de 64 plantas  $F_2$  resistentes e oito suscetíveis (Rudá vs. Cornell 49-242) ao patótipo 81 de *C. lindemuthianum*. Como resultado foi observada uma distância de 33,4 cM entre o gene de resistência e o marcador (Tabela 1, Figura 1). A grande

**TABELA 1** - Herança da resistência da cultivar de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) Cornell 49-242 ao patótipo 81 de *Colletotrichum lindemuthianum*, no cruzamento com a cultivar Rudá

Pedigree	Geração	Nº de Plantas		Relação Esperada	$\chi^2$	P	cM <sup>a</sup>
		Resistente	Suscetível				
Rudá	P <sub>1</sub>		20	-	-	-	-
Cornell 49-242	P <sub>2</sub>	20		-	-	-	-
Rudá x Cornell 49-242	F <sub>2</sub>	64	8	57:7	0,0022	96,23	
OPQ04 <sub>1440C</sub> <sup>b</sup>	F <sub>2</sub>	54(+) <sup>c</sup> , 10(-) <sup>d,e</sup>	5(-), 3(+) <sup>f</sup>	3:1	1,77	31,73	33,4 ± 1,53 <sup>a</sup>
Rudá	P <sub>1</sub>		95	-	-	-	-
Cornell 49-242	P <sub>2</sub>	56		-	-	-	-
Rudá x Cornell 49-242	F <sub>2,3</sub>	70 famílias	9 famílias	57:7	0,02	89,69	-

<sup>a</sup>Distâncias genéticas em centiMorgans (cM) e desvio padrão

<sup>b</sup>Banda de 1440 pares de bases ligada em acoplamento (C)

<sup>c</sup>Presença da banda do marcador OPQ04<sub>1440C</sub>

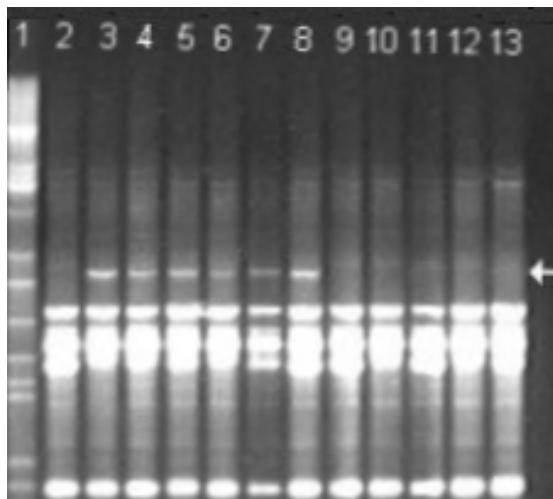
<sup>d</sup>Ausência da banda do marcador OPQ04<sub>1440C</sub>

<sup>e</sup>Plantas resistentes sem banda (-) têm o segundo gene da cultivar Cornell 49-242 detectado neste trabalho ou são recombinantes

<sup>f</sup>Plantas suscetíveis com banda correspondem a plantas recombinantes

**TABELA 2** - Herança da resistência da cultivar de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) Cornell 49-242 ao patótipo 65 de *Colletotrichum lindemuthianum*, nos cruzamentos com as cultivares Rudá e Ouro Negro

Pedigree	Geração	Nº de Plantas		Relação Esperada	$\chi^2$	P
		Resistente	Suscetível			
Rudá			12			
Cornell 49-242		12				
Rudá x Cornell 49-242		9	41	1:3	1,30	25,99
Ouro Negro	P <sub>1</sub>	-	20	-	-	-
Cornell 49-242	P <sub>2</sub>	20	-	-	-	-
Ouro Negro x Cornell 49-242	F <sub>2</sub>	69	26	3:1	0,28	59,39



**FIG. 1** - Análise eletroforética dos produtos de amplificação do DNA de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) mostrando o marcador OPQ04<sub>1440C</sub>. As canaletas correspondem a: (1) DNA de fago lambda clivado com as enzimas *EcoRI*, *BamHI* e *HindIII* (marcador de tamanho), (2) Rudá, (3) Cornell 49-242, (4-8) plantas F<sub>2</sub> resistentes e (9-13) plantas F<sub>2</sub> suscetíveis ao patótipo 81 de *Colletotrichum lindemuthianum* provenientes do cruzamento Rudá vs. Cornell 49-242. A seta indica a banda de 1.440 pares de bases do primer OPQ04 ligada em acoplamento (C) ao loco complexo *Co-2* da cultivar Cornell 49-242.

distância entre o marcador e o gene é devida ao fato da população estar segregando para três genes, dois derivados da cultivar Cornell 49-242, como já mencionado, ou seja, esta população F<sub>2</sub> não pode ser usada para fins de mapeamento genético, uma vez que a população ideal para este fim deve segregar para um só gene (3:1). Assim, a utilidade prática do marcador OPQ04<sub>1440C</sub> nesta população está no seu uso para a separação dos genes nas famílias F<sub>2,3</sub>. As plantas F<sub>2</sub> resistentes que apresentam a banda OPQ04<sub>1440C</sub> possuiriam o gene *Co-2* e aquelas plantas resistentes que não apresentam a banda, possuiriam os outros genes de resistência provenientes de Rudá e Cornell 49-242 detectados no estudo de herança da resistência ao patótipo 81.

Quando se usa a cultivar Cornell 49-242 como fonte de resistência à antracnose, diferentes genes dominantes ou recessivos podem ser observados de acordo com o cruzamento ou patótipo utilizado. Isso é devido à complexidade do loco *Co-2*, além da interação de outros genes independentes também presentes na cultivar Cornell 49-242. Esta situação dificulta a identificação dos genes presentes nas cultivares melhoradas que tenham usado esta fonte como genitor. O uso de marcadores moleculares previamente identificados como ligados a *Co-2*, pode ser importante na seleção de linhagens possuindo tal loco. Uma ferramenta que ajudaria a confirmar se estes genes foram efetivamente incorporados em novas linhagens, seria a comparação dos espectros de resistência das cultivares derivadas com relação ao espectro de resistência da cultivar Cornell 49-242, que é resistente a 22 patótipos de *C. lindemuthianum*.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pelo CNPq. A primeira autora foi financiada pela FAPEMIG e IICA. Márcia R. Costa e Henrique Menarim tiveram bolsa de IC da FAPEMIG e CNPq.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ADAM-BLONDON, A., SÉVIGNAC, M., BANNEROT, H. & DRON, M. SCAR, RAPD and RFLP markers linked to *ARE*, a simple gene conferring resistance to *C. lindemuthianum*, the causal agent of antracnose in french bean. *Theoretical and Applied Genetics* 88:865-870. 1994.
- ALZATE-MARIN, A.L., COSTA, M. R., SARTORATO, A., RAVA, C., BARROS E.G. & MOREIRA, M.A. Use of markers as a tool to investigate the presence of disease resistance genes in common bean cultivars. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 1:125-133. 2001.
- ANDRADE, E.M., COSTA, J.G.C. & RAVA, C.A. Variabilidade patogênica de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de algumas regiões brasileiras. In: Embrapa Arroz e Feijão (Ed.). Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão-RENAFE Anais -.Salvador. Embrapa Arroz e Feijão, Documento 99. 1999. pp.242-244.
- ARRUDA, K.M., ALZATE-MARIN, A.L., BARROS, E.G. & MOREIRA, M.A. Caracterização dos cultivares de feijoeiro Ouro Negro e Seleção 1308 com raças de *Colletotrichum lindemuthianum*. *Fitopatologia Brasileira* 26:381. 2001. (Resumo)
- BASSETT, M.J. List of genes - *Phaseolus vulgaris*. Annual Report Bean Improvement Cooperative 39:1-9. 1996.
- DOYLE, J. J. & DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15. 1990.
- GEFFROY, V., CREUSOT, F., FALQUET, J., SEVIGNAC, M., ADAM-BLONDON, A. F., BANNEROT, H., GEPTS, P. & DRON, M. A family of LRR sequences in the vicinity of the *Co-2* locus for anthracnose resistance in *Phaseolus vulgaris* and its potential use in marker assisted selection. *Theoretical and Applied Genetics* 96:494-502. 1998.
- LANDER, E.S., GREEN, P., ABRAHAMSOM J., BARLOW, A., DALY, M.J., LINCOLN, S.E. & NEWBURG, L. Mapmaker: An interactive computer package for constructing genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1:174-181. 1987.
- MUHALET, C., ADAMS, M., SAETTLER, A. & GHADERI, A. Genetic system for the reaction of field beans to Beta, Gamma, and Delta races of *Colletotrichum lindemuthianum*. *Journal American Society Horticultural Science* 106:601-604.1981.
- PELOSO, M.J. Del. Genética da reação do feijoeiro (*C. lindemuthianum*) a três raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* L. (Sacc. et Magn) Scrib. (Tese Doutorado). Genética e Melhoramento - Universidade Federal de Viçosa. 1987.
- RAVA, C.A., MOLINA, J., KAUFFMANN, M. & BRIONES, I. Determinación de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Nicaragua. *Fitopatología Brasileira* 18:388-391. 1993.
- RAVA, C.A., PURCHIO, A.F. & SARTORATO, A. Caracterização de Patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorreram em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. *Fitopatologia*

Brasileira 19:167-172. 1994.

THOMAZELLA C., GONÇALVES-VIDIGAL, M.C., VIDA, J. B., VIDIGAL FILHO, P.S. & RIMOLDI, F. Identification of *Colletotrichum lindemuthianum* races in *Phaseolus vulgaris* L. Annual Report Bean Improvement Cooperative 43:82-83. 2000. WILLIAMS, J., KUBELIK, A., LIVAK, K., RAFALSKI, A. &

TINGEY, S. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18:6531-6535. 1990.

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

---

01109