

LIGAÇÃO GÊNICA DA RESISTÊNCIA À FERRUGEM E À ANTRACNOSE NA VARIEDADE DE FEIJÃO OURO NEGRO ¹

Fábio Gelape Faleiro²²
Vilmar Antônio Ragagnin²
Ronan Xavier Corrêa²
Wender Santos Vinhadelli²
Maurílio Alves Moreira^{2,3}
Everaldo Gonçalves de Barros^{2,4}

RESUMO

A variedade Ouro Negro tem sido utilizada no Programa de Melhoramento do Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) da UFV/BIOAGRO/EPAMIG como fonte de genes de resistência à ferrugem e à antracnose. Para melhor entendimento da herança e da organização desses genes de resistência, foi analisada a segregação de 231 plantas RC₃F₂ com relação à resistência a essas duas doenças. As plantas RC₃F₂, com aproximadamente 10 dias, foram inoculadas com uma mistura de uredosporos de *Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus* coletados em diferentes municípios de Minas Gerais. Após a avaliação da resistência à ferrugem, as mesmas plantas RC₃F₂ foram inoculadas com a raça 89 de *Colletotrichum lindemuthianum*. A análise dos sintomas evidenciou que tanto a resistência à ferrugem quanto à antracnose são controladas por fatores dominantes únicos. Foi também observado que os genes de resistência à ferrugem e à antracnose presentes em Ouro Negro estão ligados entre si. Para melhor entendimento da organização genômica de tais genes, estão sendo realizados, nos laboratórios do BIOAGRO-UFV, trabalhos mais detalhados envolvendo marcadores moleculares e populações segregantes adequadas.

Palavras-chaves: *Phaseolus vulgaris*, resistência a doenças, *Uromyces appendiculatus*, *Colletotrichum lindemuthianum*.

¹ Aceito para publicação em 12.11.1999. Parte da tese de doutorado do primeiro autor. Auxílio financeiro da CAPES, PADCT/FINEP e FAPEMIG.

² Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária - BIOAGRO/UFV. 36571-000 Viçosa, MG.

³ Departamento de Bioquímica e Biologia Celular - UFV. 36571-000 Viçosa, MG.

⁴ Departamento de Biologia Geral - UFV. 36571-000 Viçosa, MG.

ABSTRACT

GENETIC LINKAGE BETWEEN RESISTANCE TO RUST AND ANTHRACNOSE IN THE COMMON BEAN CV. OURO NEGRO

Cultivar Ouro Negro is being presently used in the Bean Breeding Program of UFV/BIOAGRO/EPAMIG as a source for resistance genes to rust and anthracnose. To better understand the inheritance of resistance and the organization of the resistance genes in the cultivar Ouro Negro, 231 BC₃F₂ plants derived from a cross between 'Ouro Negro' and 'Rudá' were analyzed. Plants BC₃F₂ were initially inoculated with a mixture of *Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus* uredinospores collected in different regions of the state of Minas Gerais, Brazil. After evaluation for rust symptoms, the same plants were inoculated with *Colletotrichum lindemuthianum* race 89. Analysis of disease symptoms revealed that inheritance of rust and anthracnose resistance in cultivar Ouro Negro are monogenic and dominant. The results also indicated that the resistance loci for these two diseases are in the same linkage group. To better understand the genomic organization of the resistance genes, more detailed studies are being conducted in the laboratories at BIOAGRO-UFV involving molecular markers and recombinant inbred lines.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, disease resistance, *Uromyces appendiculatus*, *Colletotrichum lindemuthianum*.

INTRODUÇÃO

Apesar da importância da cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) para o Brasil, o rendimento médio nacional é baixo. Uma das causas dessa situação é o grande número de doenças às quais a cultura está sujeita (25). A ferrugem e a antracnose, causadas pelos fungos *Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus* e *Colletotrichum lindemuthianum*, respectivamente, estão entre as mais importantes doenças do feijoeiro, podendo causar perdas de até 100% se as condições ambientais forem favoráveis ao desenvolvimento do patógeno e se cultivares suscetíveis forem utilizados (25).

Nas recomendações para o controle dessas doenças incluem-se práticas culturais, como a rotação de culturas e a eliminação dos restos contaminados de cultura, que visam diminuir o inóculo inicial, assim como o uso de fungicidas e de cultivares resistentes que diminuam a taxa de progresso da doença (23).

A utilização de cultivares resistentes tem recebido atenção dos pesquisadores, por ser um método eficiente, seguro, barato e acessível aos produtores. A primeira etapa do desenvolvimento de cultivares resistentes é a detecção de genótipos que sirvam como fontes de resistência.

A variedade Ouro Negro apresenta resistência a diferentes raças de ferrugem (7,8) e antracnose (13) em condições de casa de vegetação e de

campo (26). Além da resistência a doenças, outros aspectos como alta produtividade e boas qualidades culinárias justificam o uso dessa variedade em programas de melhoramento. No programa de melhoramento do feijoeiro da UFV/BIOAGRO/EPAMIG, o Ouro Negro tem sido utilizado como fonte de genes de resistência a doenças que estão sendo incorporados à variedade Rudá, por retrocruzamentos.

Nos diferentes ciclos de retrocruzamentos envolvendo os genitores Ouro Negro e Rudá, observou-se que a maioria das plantas RC_2F_1 e RC_3F_1 resistentes à ferrugem também eram resistentes à antracnose, indicando poderem os fatores envolvidos na resistência a essas duas doenças estar ligados entre si. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estudar a herança da resistência da variedade Ouro Negro à ferrugem e à antracnose, bem como verificar a ocorrência de ligação gênica entre estas características.

MATERIAL E MÉTODOS

A partir de plantas RC_3F_1 heterozigotas quanto à resistência à ferrugem e à antracnose, foram obtidas 231 sementes RC_3F_2 , as quais foram semeadas em vasos de 2,5 L, com três plantas por vaso. As folhas primárias, com aproximadamente 2/3 do seu desenvolvimento completo 10 dias após a semeadura, foram inoculadas com uma mistura de uredosporos coletados em diferentes regiões de Minas Gerais. Os uredosporos, na concentração de $2,0 \times 10^4$ esporos/mL, foram suspensos em água destilada contendo 0,05% de Tween 20 e aspergidos em ambas as superfícies foliares, com o auxílio de um atomizador De Vilbiss nº 15, acionado por um compressor elétrico, evitando-se atingir o ponto de escorrimento. Após inoculação e rápida secagem ao ar, as plantas foram transferidas para câmara de nevoeiro ($20 \pm 1^\circ\text{C}$ e $>95\%$ de umidade relativa), onde permaneceram por 48 horas, sob fotoperíodo de 12 horas. Em seguida, foram novamente transferidas para a casa de vegetação ($20 \pm 5^\circ\text{C}$), onde permaneceram até serem avaliadas. Apenas as plantas sem pústulas ou que apresentaram pequenas pústulas ($< 0,3$ mm de diâmetro) foram consideradas resistentes.

Posteriormente à avaliação dos sintomas da ferrugem, aproximadamente 15 dias após a inoculação, a primeira folha trifoliolada das plantas RC_3F_2 foi inoculada com uma suspensão contendo $1,2 \times 10^6$ conídios/mL da raça 89 de *C. lindemuthianum*, com o auxílio de um pincel. Após a inoculação e rápida secagem ao ar, as plantas foram incubadas por cinco dias na câmara de nevoeiro ($20 \pm 1^\circ\text{C}$ e $>95\%$ de umidade relativa), sob fotoperíodo de 12 horas. Em seguida, foram novamente transferidas

para a casa de vegetação ($20 \pm 5^{\circ}\text{C}$), onde permaneceram até serem avaliadas. A avaliação dos sintomas da antracnose foi feita com base na escala de 1 a 9, descrita por Pastor-Corrales (17). Para os propósitos deste trabalho, apenas as plantas com nota 1 (imunes) foram consideradas resistentes.

Foram realizadas análises de segregação para testar a hipótese de herança monogênica dominante quanto à resistência à ferrugem e à antracnose, bem como para testar a hipótese da segregação independente dos genes de resistência às duas doenças. Para isso, os números observados de plantas resistentes e suscetíveis foram comparados com os teóricos esperados pelo teste do χ^2 . Para determinar a distância genética entre os genes de resistência à ferrugem e à antracnose, foi feita a análise de co-segregação utilizando o programa MAPMAKER.EXP 3.0 (12).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A hipótese da herança monogênica dominante da resistência à ferrugem não foi rejeitada pelo teste do χ^2 a uma probabilidade de 0,68 (Quadro 1). A herança monogênica dominante para cada raça de *U. appendiculatus* tem sido relatada em vários trabalhos (2, 5, 15, 21, 22, 28); entretanto, há exceções. A resistência à ferrugem do feijoeiro pode ser determinada por um único gene recessivo (27). Além disso, no cruzamento entre Olathe e T-39 dois genes complementares conferiram resistência à raça 44 de *U. appendiculatus* (9), enquanto que dois genes independentes foram envolvidos na resistência às raças 44 e 52 no cruzamento entre Olathe e Aurora (9). Interações epistáticas entre genes de resistência também têm sido relatadas (20). Recentemente, Faleiro (6), estudando a herança da resistência da variedade Ouro Negro à raça 4 de *U. appendiculatus*, mostrou que um gene "maior", possivelmente associado a genes "menores", seria responsável pela resistência.

A hipótese da herança monogênica dominante quanto à resistência à antracnose também não foi rejeitada pelo teste do χ^2 a uma probabilidade de 0,92 (Quadro 1). A ação de um único gene dominante tem sido relatada na literatura (1, 3, 14); entretanto, a exemplo do que ocorre com a ferrugem, a herança da resistência à antracnose parece não ser tão simples. Pastor-Corrales e Erazo (18) demonstraram que dois genes dominantes são responsáveis pela resistência do cultivar G 2333 à raça 571 de *C. lindemuthianum*. Além disso, a presença de mais de um gene em interações complexas, incluindo epistasia, complementaridade, fatores duplicados e complementares e alelos múltiplos, tem sido observada (1, 4, 16, 19, 24).

Estudos preliminares analisando a resposta de resistência da variedade Ouro Negro a diferentes raças fisiológicas de *U. appendiculatus* e

C. lindemuthianum mostram que tal variedade apresenta genes diferentes dos até então identificados (10, 11).

O teste da hipótese da segregação independente dos genes de resistência à ferrugem e à antracnose presentes na variedade Ouro Negro também é apresentado no Quadro 1. Os dados demonstram que existe uma probabilidade muito baixa (0,015) de os desvios da razão fenotípica esperada (9:3:3:1) serem devidos ao acaso, indicando assim que os genes de resistência à ferrugem e à antracnose presentes no Ouro Negro não segregam independentemente, ou seja, eles estão localizados no mesmo grupo de ligação. A distância genética entre esses genes é de 12,3 cM, com base na frequência de recombinação estimada pelo programa MAPMAKER.EXP 3.0 (12).

Considerando que esta variedade é resistente a várias raças de *U. appendiculatus* (8) e de *C. lindemuthianum* (13), pode-se deduzir, à luz da teoria gene-a-gene, que provavelmente existem no Ouro Negro blocos de genes de resistência à ferrugem e à antracnose.

QUADRO 1 - Análises de segregação da resistência à ferrugem e da resistência à antracnose consideradas separada e simultaneamente.				
Hipóteses	Razão fenotípica teórica esperada	Razão fenotípica observada	χ^2	Probabilidade
Resistência monogênica dominante para a ferrugem	3R _f :1S _f	176R _f :55S _f	0,17	0,68
Resistência monogênica dominante para a antracnose	3R _a :1S _a	174R _a :57S _a	0,01	0,92
Segregação independente dos genes de resistência às duas doenças	9R _f R _a :3R _f S _a : 3S _f R _a :1S _f S _a	163R _f R _a :11R _f S _a : 13S _f R _a :44S _f S _a	114,2 7	0,015
R _f - Plantas resistentes à ferrugem; S _f - Plantas suscetíveis à ferrugem; R _a - Plantas resistentes à antracnose; S _a - Plantas suscetíveis à antracnose.				

Para melhor entendimento da organização genômica de tais genes de resistência, trabalhos mais detalhados estão sendo realizados nos laboratórios do BIOAGRO, utilizando-se populações segregantes adequadas como, por exemplo, as RIL's (*Recombinant Inbred Lines*), que estão sendo

inoculadas com diferentes raças de cada patógeno. Além disso, marcadores moleculares RAPD e AFLP estão sendo utilizados para a construção de um mapa de ligação para melhor determinar as posições relativas dos dois potenciais blocos gênicos. O conhecimento detalhado da organização dos genes de resistência pode abrir novas perspectivas para o entendimento da evolução dos genes R e o desenvolvimento de estratégias eficientes no melhoramento do feijoeiro-comum visando resistência a doenças.

CONCLUSÕES

a) A resistência do feijão Ouro Negro tanto a raças de *Uromyces appendiculatus* como à raça 89 de *Colletotrichum lindemuthianum* é monogênica dominante.

b) Existe uma probabilidade muito baixa de os desvios da razão fenotípica esperada (9:3:3:1) serem devidos ao acaso, indicando assim que os genes de resistência à ferrugem e à antracnose presentes no Ouro Negro não segregam independentemente. Com base na frequência de recombinação, a distância genética entre estes genes é de 12,3 cM.

c) Como a variedade Ouro Negro é resistente a várias raças de *U. appendiculatus* e de *C. lindemuthianum*, pode-se deduzir, à luz da teoria gene-a-gene, que provavelmente existem nesta variedade blocos de genes de resistência à ferrugem e à antracnose.

REFERÊNCIAS

1. ALZATE-MARIN, A. *Resistência à antracnose do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.): diversidade genética de raças de Colletotrichum lindemuthianum, herança da resistência e identificação de marcadores moleculares*. Viçosa, UFV, 1996. 65p. (Tese de Doutorado).
2. AUGUSTIN, E.; COYNE, D.P. & SCHUSTER, M.L. Inheritance of resistance in *Phaseolus vulgaris* to *Uromyces phaseoli typica* Brazilian rust race B11 and of plant habit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97: 526-9, 1972.
3. BANNEROT, H.; DEIEUX, M. & FOUILLOUX, G. Mise en evidence d'un second de resistance totale a l'antracnose chez le haricot. *Ann. Amelior. Plant* 21: 83-5, 1971.
4. CÁRDENAS, F.; ADAMS, M.W. & ANDERSEN, A. The genetic system for reaction of field beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to infection by three physiologic races of *Colletotrichum lindemuthianum*. *Euphytica* 13: 178-86, 1964.
5. CARVALHO, L.P.; VIEIRA, C. & CHAVES, G.M. Hereditariedade da resistência a cinco raças de *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth. em *Phaseolus vulgaris* L. *Fitopatol. Bras.* 3: 181-5, 1978.
6. FALEIRO, F.G. *Identificação de raças, diversidade genética de Uromyces appendiculatus var. appendiculatus e herança da resistência no feijoeiro*. Viçosa, UFV, 1997. 65p. (Tese de Mestrado).

7. FALEIRO, F.G.; PAULA JR., T.J.; BARROS, E.G.; FREITAS, M.A.S. & MOREIRA, M.A. Resistência de cultivares de feijoeiro comum a *Uromyces appendiculatus* da Zona da Mata de Minas Gerais. *Fitopatol. Bras.* 21: 123-5, 1996.
8. FALEIRO, F.G.; VINHADELLI, W.S.; RAGAGNIN, V.A.; PAULA JR., T.J.; MOREIRA, E.G. & BARROS, E.G. Resistência de variedades de feijoeiro-comum a quatro raças de *Uromyces appendiculatus*. *Revista Ceres* 46: 19-27, 1999.
9. GRAFTON, K.F.; WEISER, G.C.; LITTLEFIELD, L.J. & STAVELY, J.R. Inheritance of resistance to two races of leaf rust in dry edible bean. *Crop Sci.* 25: 537-9, 1985.
10. KELLY, J.D. & YOUNG, R.A. Proposed symbols for anthracnose resistance genes. *Ann. Rep. Bean Improv. Coop.* 39:20-24, 1996.
11. KELLY, J.D.; STAVELY, J.R. & MIKLAS, P.N. Proposed symbols for rust resistance genes. *Ann. Rep. Bean Improv. Coop.* 39:25-31, 1996.
12. LANDER, E.; GREEN, P.; ABRAHAMSON, J.; BARLON, A.; DALEY, M.; LINCOLN, S. & NEWBURG, L. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkages maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1: 174-181, 1987.
13. LANZA, M.A.; PAULA JR., T.J.; VINHADELLI, W.S.; MORANDI, M.A.B.; BARROS, E.G. & MOREIRA, M.A. Resistência à antracnose em cultivares de feijoeiro-comum recomendadas para Minas Gerais. *Fitopatol. Bras.* 22: 560-2, 1997.
14. MASTENBROEK, C. A breeding programme for resistance in dry shell haricot beans based on a new gene. *Euphytica* 9: 177-85, 1960.
15. MEINERS, J.P. Genetics of disease resistance in edible legumes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 19: 189-209, 1981.
16. MUHALET, C.S.; ADAMS, M.W.; SAETTLER, A.W. & GHADERI, G. Genetic system for the reaction of field beans to beta, gamma and delta races of *Colletotrichum lindemuthianum*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106: 601-4, 1981.
17. PASTOR-CORRALES, M.A. Recomendaciones y acuerdos del primer taller de antracnosis en América Latina. In: Pastor-Corrales, M.A. (ed.). *La antracnosis del frijol común, Phaseolus vulgaris*, en América Latina. Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 1992. p.240-50. (Doc. de Trabajo nº 113).
18. PASTOR-CORRALES, M. & ERAZO, O. Inheritance of anthracnose resistance in common bean accession G2333. *Plant Disease* 78: 959-62, 1994.
19. PELOSO, M.J.; CARDOSO, A.A.; VIEIRA, C.; SARAIVA, L.S. & ZIMMERMANN, M.J.O. Genetic system for the reaction of *Phaseolus vulgaris* to the BA-2 (alpha) race of *Colletotrichum lindemuthianum*. *Rev. Bras. Genet.* 12: 313-8, 1989.
20. SAYLER, R.J.; EWING, J.D. & MCCLEAN, P.E. Monogenic and epistatic resistance to bean rust infection in common bean. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 47: 173-84, 1995.
21. STAVELY, J.R. Genetic relationships of resistance in two broadly rust resistant beans. *Phytopathology* 74: 834, 1984.
22. STAVELY, J.R. Genetics of resistance to *Uromyces phaseoli* in a *Phaseolus vulgaris* line resistant to most races of the pathogen. *Phytopathology* 74: 339-44, 1984.
23. STAVELY, J.R. & PASTOR-CORRALES, M.A. Roya. In: Pastor-Corrales, M.A. & Schwartz, H.F. (eds.). *Problemas de producción del frijol en los tropicos*. Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 1994. p.185-225.
24. VIDIGAL, C.G. *Herança da resistência às raças Alfa, Delta e Capa de Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. et Magn.) Scrib. no feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.)*. Viçosa, UFV, 1994. 52p. (Tese de Doutorado).
25. VIEIRA, C. *Doenças e pragas do feijoeiro*. Viçosa, Imprensa Universitária, 1983. 231p.

26. VIEIRA, C.; ARAÚJO, G.A.A. & CRUZ, C.D. Comportamento de cultivares de feijão no plantio de outono/inverno. In: Projeto Feijão - Relatório 88/92. Viçosa, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), 1992. p. 71-6.
27. ZAITER, H.Z.; COYNE, D.P. & STEADMAN, J.R. Inheritance of resistance to a rust isolate in beans. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 32: 126-7, 1989.
28. ZAUMEYER, W.J. & HARTER, L.L. Inheritance of resistance to six physiologic races of bean rust. *J. Agric. Res.* 63: 599-621, 1941.