

Araştırma Makalesi

Tescilli Fasulye Çeşitlerinin Pas (*Uromyces appendiculatus*) Etmenine Karşı Dayanıklılık Durumlarının SCAR Markörleri ile Belirlenmesi

Mehmet Zahit YEKEN¹, Göksel ÖZER², Ali ÇELİK^{2*}, Vahdettin ÇİFTÇİ¹

¹Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, BOLU

²Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, BOLU

*Sorumlu yazar: alichelik@ibu.edu.tr

Geliş Tarihi: 19.02.2019

Düzeltilme Geliş Tarihi: 31.05.2019

Kabul Tarihi: 26.06.2019

Özet

Fasulye pas hastalığı tüm dünyada fasulye üretiminde sorun oluşturan önemli fungal hastalıklardan birisidir. Fasulye pası ile en etkili ve çevre açısından en zararsız mücadele şekli dayanıklı çeşit ıslahı ve kullanımınıdır. Son yıllarda geliştirilen moleküler markörler sayesinde hastalıklara karşı dayanıklılık önceden belirlenebilmekte ve ıslah programları bu veriler ışığında planlanabilmektedir. Bu çalışmada, Türkiye’de yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan 43 tescilli fasulye çeşidinin pas hastalığına dayanıklılık durumları SCAR markörleri ile incelenmiştir. Dayanıklılıkla ilgili 4 farklı markör (SA14, SI19, SBC6, AE19) yardımıyla yapılan PCR çalışmaları bazı çeşitlerin pas hastalığına karşı dayanıklılık sağlayan genlere sahip olduklarını ortaya çıkarmıştır. Elde edilen tarama sonuçlarının mevcut çeşitlerin dayanıklılık durumlarını ortaya koymasının yanı sıra, pas ile ilgili yapılacak moleküler destekli dayanıklılık ıslah çalışmalarının temelinin oluşturacağı ön görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Pas, *Uromyces appendiculatus*, dayanıklılık, markör destekli seleksiyon.

Determination of the Resistance to the Bean Rust (*Uromyces appendiculatus*) in Registered Bean Varieties by Using SCAR Markers

Abstract

Bean rust disease is one of the most important fungal diseases of limiting the yields of common bean all over the world. The most effective and the most harmless methods against the bean rust pathogen are breeding and use of the resistant varieties. Resistance to diseases can be previously determined in breeding programs with the critical data obtained from molecular markers developed in recent years. In this study, resistance against bean rust was investigated by SCAR markers in 43 registered bean varieties, which is widely cultivated in Turkey. As a result, PCR studies performed with 4 different markers (SA14, SI19, SBC6, AE19) which characterize the genes related to resistance revealed that some varieties have the genes linked to the resistance. In addition to revealing the current status of the registered varieties, the results of the study are expected to support new breeding programs.

Key words: Bean rust, *Uromyces appendiculatus*, resistance, marker-assisted selection.

Giriş

Uromyces appendiculatus (Pers.) Unger. fungusunun neden olduğu pas hastalığı fasulye üretimini sınırlandıran en önemli fungal hastalıklar arasında yer almaktadır. Uygun konukçunun varlığı ve

şartların patojen lehine seyrettiği dönemlerde hastalık önemli kayıplara yol açan epidemilere neden olabilmektedir. *U. appendiculatus*, pasların beş dönemi içeren ve ara konukçusu olmayan bir hayat döngüsüne sahip iken bitki üzerinde genellikle hastalık

etmeninin üredosporlar ve teliosporları göze çarpmaktadır. Pas etmeni üretim alanında bitki artıkları üzerinde istirahat aşaması (kışlama) görevi görmekte olan teliosporlar ile kışı geçirmektedir (Beije ve ark. 1984). Ancak, etmen kışın sert olmadığı bölgelerde üredospor olarak da yaşam çemberini tamamlayabilmektedir. Çok düşük düzeyde böceklerle veya insan faktörü ile yayılabilmekle birlikte, enfeksiyon bitkiden bitkiye çoğunlukla üredosporlar tarafından yayılmaktadır. Etmenin uzun mesafelere taşınması büyük ölçüde rüzgarla dağılan üredosporlardan kaynaklanmaktadır. Üredosporlar, yüksek bağıl nem ve yaprak yüzeyinde bulunan en az 6-8 saat ıslaklık koşullarında 17 °C ve 23 °C arasındaki sıcaklıklarda çimlenmekte olup, hastalık oluşumu gecelerin nemli, günlerin kuru ve ılık olduğu bölgelerde maksimuma ulaşmaktadır (Imhoff ve ark. 1982; Boudreau ve Mundt 1992). Hastalığın gelişimi, inokulum konsantrasyonunun yanı sıra fotosentetik aktivite ve topraktaki bitki besin elementlerinin varlığı gibi konukçu faktörleri ile yakından ilgilidir (Agrisios 1997).

Hastalığın dünyanın çeşitli bölgelerinde (Çin, USA, Avrupa, Etiyopya, Kenya, Güney Afrika, Tanzanya) epidemi yaptığı rapor edilmiştir (Souza ve ark. 2008). Brezilya'nın güneyinde sıklıkla epidemi yapmakta ve bölgede ciddi verim kayıplarına yol açabilmektedir (Souza ve ark. 2005). Ülkemizde kuru ve taze fasulye çeşitlerinde %18-100'e varan oranlarda verim kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Altıkardeşler ve Arslan 2007).

Fasulye pası ile en etkili ve çevre açısından en zararsız mücadele şekli dayanıklı çeşit ıslahı ve kullanımınıdır. Özellikle epidemi tehlikesi yüksek olan bazı coğrafyalarda dayanıklı çeşit kullanımının önemi daha da ön plana çıkmaktadır (Mmbaga ve ark. 1996). Bununla birlikte, pas etmeninin yüksek patojenik ve genetik çeşitliliği, mutlak dayanıklı ve tolerant çeşitlerin ıslahını zorlaştırmaktadır. Bu zorluk, bir yılda birden fazla fasulye yetiştirme periyodunun yaşandığı tropik bölgelerde uygun sıcaklık ve yeterli nemin de etkisiyle artış gösterebilmektedir (Acevedo ve ark. 2013). Fasulye genomunda, pas etmeninin farklı patotiplerine karşı dayanıklılıkla ilgili birçok gen tanımlanmıştır. Bu genler arasında *Ur-3*, *Ur-4*, *Ur-5*, *Ur-6*, *Ur-7*, *Ur-9 / Ur-12*, *Ur-11*, *Ur-13*, *Ur-Ouro Negro* ve *Ur-Resisto* yer almaktadır (Liebenberg ve ark. 2006). Bazı fasulye çeşitlerinde dayanıklılıkla ilgili farklı lokusların da varlığı anlaşılacakla birlikte tam olarak karakterize edilememiştir (Liebenberg ve ark. 2006). Fasulye pas etmeninin patotiplerine veya fizyolojik ırklara karşı birçok dayanıklılık kaynağı mevcut olmakla birlikte, bu kaynakların hiçbirisi tüm

ırklara karşı dayanıklılık sağlamadığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Stavelly ve ark. 1994a; Stavelly ve ark. 1994b; Stedman ve ark. 2002; Paster Corrales 2003; Park ve ark. 2004).

Altıkardeşler ve Arslan (2007), Bursa ilinden 2004 yılında topladıkları pas izolatlarını kontrollü koşullarda bazı fasulye çeşitlerine inokule ederek, çeşitlerin reaksiyonlarını simptomatolojik olarak kaydetmişler ve çeşitleri bağışık, yüksek ve orta derece dayanıklı ve duyarlı olarak sınıflandırıp, sadece Alman Ayşe çeşidinin dayanıklı diğer çeşitlerin duyarlı olduğu belirlemişlerdir. Markör destekli seleksiyon yardımı ile dayanıklılık genlerinin tespiti çalışmaları patojen inokulasyonuna gerek kalmaksızın bitkilerde söz konusu genlerin varlığının belirlenebilmesine imkân sağladığı için günümüzde yoğun olarak kullanım alanı bulan bir yöntemdir. Bu çalışmada Türkiye'de yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan 43 tescilli fasulye çeşidinin pas hastalığına dayanıklılık durumları "sekansı karakterize edilmiş çoğaltılmış bölgeler" (Sequence Characterized Amplified Regions = SCAR) markörleri ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçların ilerde fasulyede yapılacak olan dayanıklılık ıslahı çalışmalarına destek olacağı düşünülmektedir.

Materyal ve Yöntem

Araştırmada 43 tescilli fasulye çeşidi ile Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA)'dan temin edilen 4 referans fasulye genotipi materyal olarak kullanılmıştır (Çizelge 1). Tüm fasulye genotipleri 23 °C sıcaklık ve 14/10 saatlik ışık periyodu içeren kontrollü bitki yetiştirme odalarında yetiştirilmiştir. Bu amaçla %1'lik NaClO solüsyonunda 1 dakika süreyle yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutulan tohumlar toprak, kum, gübre karışımı içeren (1:1:1 v/v) 16 cm çapındaki saksılara ekilmiştir. DNA izolasyonu için 10 günlük fidelerden alınan yaprak dokuları kullanılmış olup, izolasyon GeneJET Plant Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA'lar bir DS-11 spektrofotometre (Denovix, USA) yardımıyla 10 ng/μL konsantrasyonda ayarlanarak -20 °C' de saklanmıştır. Her bir fasulye genotipi fasulye pası ile ilişkili olduğu bildirilen genlerle ilişkili moleküler markörler kullanılarak taranmıştır (Çizelge 2).

PCR amplifikasyonları 0.2 mM dNTPs, 0.3 μM primer, 1.5 mM MgCl₂, 1 x PCR buffer, 10-20 ng DNA, 1 U *Taq* DNA polimeraz (EP0402: Thermo Scientific, USA) içeren 25 μl' lik hacimlerde bir T100 thermal cycler (Bio-Rad, USA) içerisinde gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon koşulları ilgili literatürlerde belirtilenlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 2). Elde edilen PCR ürünleri %1.4'lük agaroz jelde 100

V'da 90 dk süreyle koşturulmuş ve bir G: Box F3 Jel görüntüleme sisteminde (Syngene, UK) görüntülenmiştir. Beklenen PCR ürünlerinin büyüklükleri 100 bp DNA ladder kullanılarak tespit edilmiştir.

Araştırmada, genotiplerin SA14 ve SI19 markörlerinden elde edilen jel görüntüleri "0=Yok

1=Var" şeklinde skorlanmıştır. Elde edilen tüm değerler JMP 14.1.0 istatistik programında (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) kümeleme (Cluster) analizine tabi tutulmuş ve renk haritası oluşturulmuştur.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan tescilli fasulye çeşitleri

No	Çeşit adı	Tipi*	No	Çeşit adı	Tipi	No	Çeşit adı	Tipi
1	Zülbiye	KF	16	Batallı	KF	31	Cihan	KF
2	Remi	TF	17	Göksun	KF	32	Bulduk	KF
3	Özdemir	KF	18	Mecidiye	KF	33	40 Günlük	TF
4	Kantar-05	KF	19	4F-89 Fransız	TF	34	Bourgondia	TF
5	Sazova 1949	TF	20	Bona	TF	35	Karabacak	TF
6	Gina	TF	21	Romano 26	TF	36	Akın	KF
7	Karacaşehir 90	KF	22	Klas	TF	37	Akman 98	KF
8	Alman Ayşe-4	TF	23	Göynük 98	KF	38	Terzibaba	KF
9	Zirve	KF	24	Güngör	KF	39	Önceler 98	KF
10	Işıklı	TF	25	Elkoca-05	KF	40	Berrak	KF
11	Askız	TF	26	Sembol	TF	41	Yakutiye 98	KF
12	Mina	TF	27	Aras 98	KF	42	Akdağ	KF
13	Sarı kız	TF	28	Nina	TF	43	Arslan	KF
14	Helda	TF	29	Sururbey	KF			
15	Albeni	TF	30	Sülün	TF			

*KF Kuru Fasulye, TF Taze Fasulye.

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan SCAR markörleri

Primer adı	Gen bölgesi	PCR Koşulları	Referans
SA14	Ur-4	94 °C 5 dk; 94 °C 60 sn, 55 °C 60 sn, 72 °C 90 sn 35 döngü ve 72 °C 5 dk	Miklas ve ark., 2002, Meine ve ark. 2004.
SI19	Ur-5	94 °C de 3 dk, 94 °C 1 dk, 50 °C 1.5 dk, 72 °C 1.5 dk, 35 döngü 72 C 7 dk	Souza ve ark. 2007.
SBC6	Ur-6	95 °C 2 dk; 94 °C 30 sn, 59 °C 60 sn, 72 °C 2 dk 30 döngü ve 72 °C 5 dk	Miklas ve ark. 2002, Park ve ark. 2004.
AE19	Ur-11	94 °C 5 dk; 94 °C 15 sn, 58 °C 60 sn, 72 °C 90 sn 35 döngü ve 72 °C 5 dk	Miklas ve ark. 2002, Alzate-Marin ve ark. 2003, Queiroz ve ark. 2004.

Çizelge 3. Çalışmada kullanılan USDA'dan elde edilen ayırıcı set genotipleri

Genotip	Gen Havuzu*
Perry Marrow	A
Cornell 49242	MA
TO	MA
Ouro Negro	MA

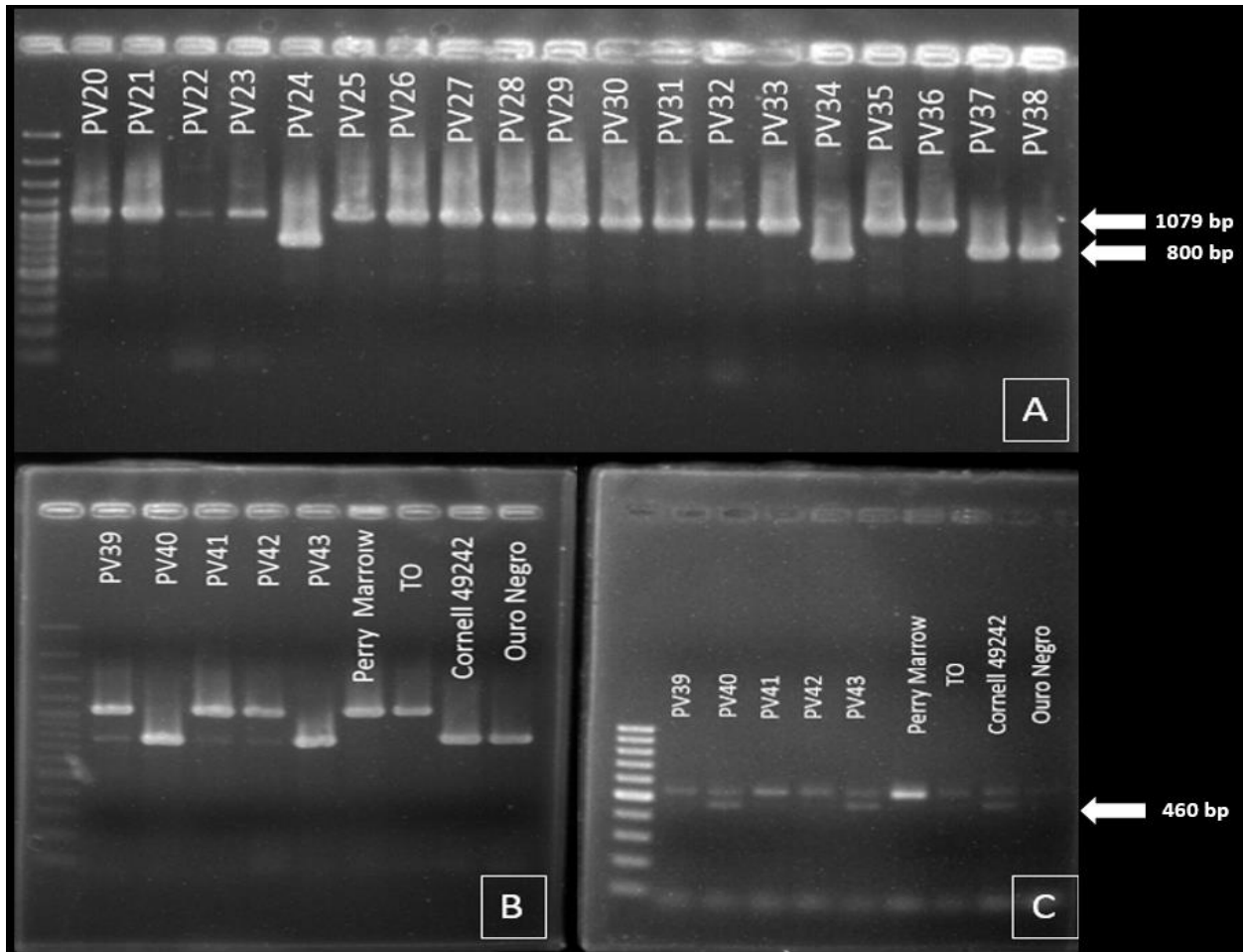
*MA= Orta Amerikan gen havuzu; A= Andean gen havuzu.

Bulgular ve Tartışma

Uromyces appendiculatus'un neden olduğu pas hastalığına karşı fasulye genotiplerinde dayanıklılık sağlayan genlerin moleküler markörler yardımıyla belirlenebilmesi için yapılan çalışmada 43 fasulye çeşidi ve 4 yurt dışı kaynaklı genotipten DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve bu bitkilerde dayanıklılık genlerin varlığı 4 farklı SCAR markörü ile incelenmiştir. Yapılan PCR çalışmaları sonucunda SBC6 ve AE19 primerlerinden herhangi amplifike ürün elde edilememiş iken SA14 (1079/800 bp) ve SI19 (460 bp)

primerlerinden elde edilen jel görüntüleri skorlanmıştır (1:Var, 0:Yok). Skorumla sonucunda elde edilen değerler kümeleme analizine tabi tutulmuş ve renk haritası belirlenmiştir. Renk haritasında dayanıklılık geni içeren genotipler kırmızı, içermeyenler mavi renk ile kodlanmıştır (Şekil 2). Yapılan kümeleme analizi sonucunda genotiplerin dayanıklılık genleri bakımından iki ana gruba (Grup A ve Grup B) ayrıldığı görülmektedir. A grubu içerisindeki 27 çeşit ile Perry Marrow ve TO genotiplerinin *Ur-4* genlerini taşıdığı ve bu gruptaki genotiplerin *Ur-5* genine ise sahip olmadığı belirlenmiştir. Çalışma, beklenen bant büyüklüğü yönüyle Miene ve ark. (2004) ile benzer sonuçlar

göstermiştir. Miene ve ark. (2004) 'e göre 1079 bp çiftinde bant profiline sahip genotiplerin *Ur-4* genini bünyelerinde bulundurduğu değerlendirilirken yaklaşık 800 bp amplifikasyon elde edilen genotiplerin *Ur-4* geninden yoksun olduğu kabul edilmiştir (Şekil 1). Altıkardaşlar ve Arslan (2007) tarafından dayanıklı olarak rapor edilmiş olan Alman Ayşe çeşidi, gerçekleştirilen bu çalışmada *Ur-4* genini içermediğinden dolayı hastalığa hassas olarak karakterize edilmiştir. Bu durum markör destekli seleksiyon çalışmalarında kullanılan SCAR markörlerinin dayanıklılıkla ilgili lokuslara belirli oranda bağlantılı olması ile açıklanabilir.



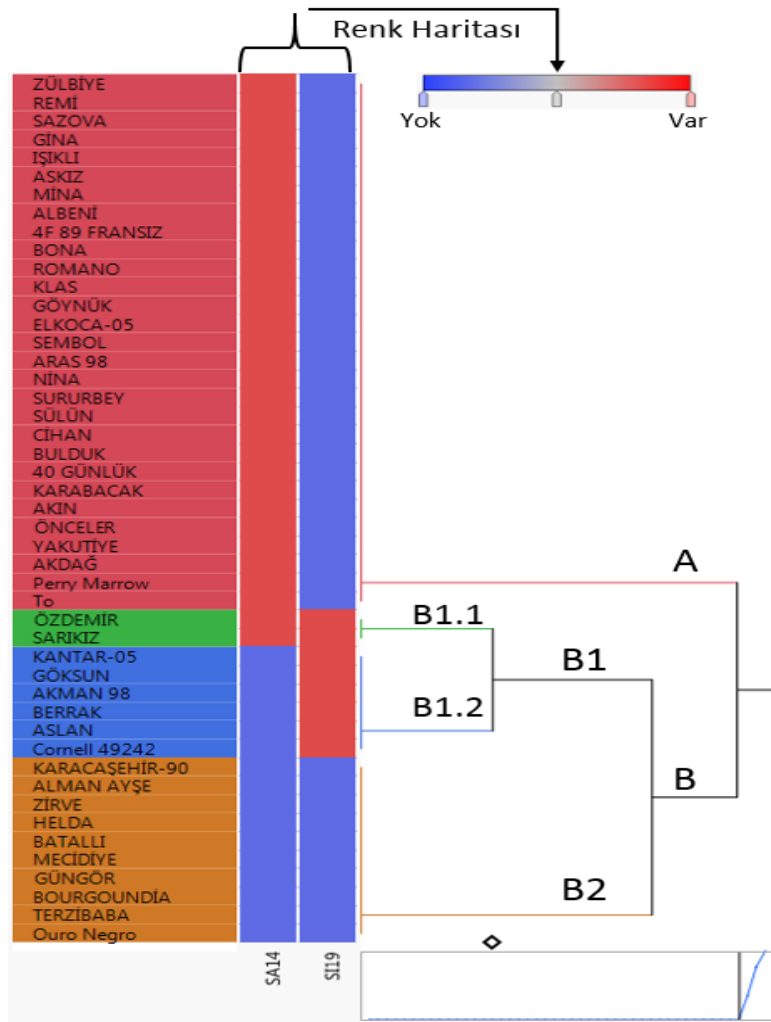
Şekil 1. SA14 (1079/800 bp) markörü ile elde edilen jel görüntüsü (Şekil 1A,1B), SI19 (460 bp) markörü ile elde edilen jel görüntüsü (Şekil 1C).

Markörler yardımıyla yapılan genotipik karakterizasyonlar, çeşitlerin hastalığa dayanıklılık derecelerinin klasik patojenisite çalışmaları ile kuvvetlendirilecektir (Miklas 2002). Grup B incelendiğinde kendi içerisinde B1 ve B2 olarak iki alt

gruba ayrıldığı görülmektedir (Şekil 2). B1 alt grubu kendi içerisinde B1.1 ve B1.2 olarak iki alt grubu ayrıldığı ve renk haritasında da görüldüğü üzere B1.1'de yer alan Özdemir ve Sarıkız çeşitlerinin *Ur-4* ve *Ur-5* dayanıklılık genlerini içerdiği belirlenmiştir. B1.2

alt grubunun içerisinde yer alan Kantar-05, Göksun, Akman-98, Berrak, Aslan ve Cornell 49242'nin ise sadece *Ur-5* genini bulundurmasından dolayı aynı grupta kümelendiği saptanmıştır. Kümeleme analizi sonucunda Karacaşehir-90, Alman Ayşe, Zirve, Helda, Batallı, Mecidiye, Güngör, Bourgoundia, Terzibaba ve Ouro Negro genotiplerinin *Ur-4* ve *Ur-5* dayanıklılık genlerine sahip olmadığı saptanmıştır. Çalışmada kullanılan SI19 markörü *Ur-5* lokusu için elde edilen ampikon büyüklüğü yönüyle Souza ve ark. (2007) ile benzer sonuçlar sergilemiştir. Miklas (2002), *Ur-4* ve *Ur-5* genlerinin *Ur-11* içerisinde yer alan bir lokus üzerinde konumlandığını bildirmiştir (Miklas 2002). Dayanıklılıkla ilgili olduğu bilinen *Ur-11* geninin karakterizasyonu üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Beaver ve Macchiavelli 2002; Pastor Corrales 2002; Pastor-Corrales ve Stavely 2002).

Yapılan moleküler tarama sonucunda *Ur-4* + *Ur-5* geninin varlığı sadece Sarıkız ve Özdemir çeşitlerinde tespit edilmiştir. Söz konusu iki genin varlığı bakımından Sarıkız ve Özdemir çeşitlerinin pas hastalığına diğer çeşitlere nazaran daha dayanıklı olması beklenmekte ise de bu durumun patojen site çalışmaları ile doğrulanması ve fenotipik olarak da karakterize edilmesi gerekmektedir. Ayrıca *Ur-5* geni içeren ancak *Ur-4* geninden yoksun olan Kantar-05, Göksun, Akman 98, Berrak ve Arslan çeşitlerinin de hastalığa karşı reaksiyonlarının değerlendirilmesi bu genlerin fonksiyonlarının anlaşılması bakımından önemlidir. Kümeleme analizi ile elde edilen sonuçlar, genotiplerin dayanıklılık genlerini içermeleri yönünden anlamlı bir şekilde gruplandığını, dolayısıyla ileride yapılacak ıslah çalışmalarında bu gruplardan başarıyla faydalanılabileceğini göstermektedir.



Şekil 2. Genotiplerin SA14 ve SI19 markörlerine göre kümeleme analizi ve renk haritası.

Sonuç ve Öneriler

SCAR markörleri ile yapılan tarama neticesinde 43 tescilli çeşit arasından önemli bir kısmının pas hastalığına dayanıklılık ile ilişkili olan *Ur-4* ve *Ur-5* genlerine sahip oldukları belirlenmiştir. Fasulye pası hastalığının ülkemizde uygun koşullar altında epidemi yaptığı bilinmektedir. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de hastalıkla mücadelede dayanıklı veya tolerant çeşitlerin kullanımı önerilmektedir. Çalışma sonucunda Sarıkız ve Özdemir çeşidinin dayanıklılıkla ilişkili her iki geni de bünyesinde bulundurması sebebiyle hastalığa dayanıklı olması ön görülmektedir. Sonuç olarak, markörler kullanılarak dayanıklılık genlerinin varlığı noktasında karakterize edilen çeşitlerin klasik patojenite sonucu elde edilecek fenotipik gözlemler ile dayanıklılık durumlarının doğrulanması önerilmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından BAP – 2016.10.07.1091 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Kaynaklar

Acevedo, M., Steadman, J.R., Rosas, J.C. 2013. *Uromyces appendiculatus* in Honduras: pathogen diversity and host resistance screening. *Plant disease*, 97(5): 652-661.

Agrios G.N. 1997. *Plant Pathology*, 4th ed. Academic Press, Inc, San Diego, California, pp. 633.

Altıkardeşler, A., Arslan, Ü. 2007. Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeşitlerinin Pas Hastalığı (*Uromyces appendiculatus* (Pers.: Pers.) Unger)'na Karşı Reaksiyonları ve Bazı Fungisitlerin Etkisi. *Journal of Agricultural Faculty*, 21(1): 1-8.

Alzate-Marin, A.L., Costa M.R., Arruda, K.M., Barros, E.G., Moreira, M.A. 2003. Characterization of the anthracnose resistance gene present in Ouro Negro (Honduras 35) common bean cultivar. *Euphytica*, 133: 165-169.

Beaver, J.S., Macchiavelli, R. 2002. Utility of the multiple-seed procedure of single-seed descent for bean improvement. *Annual Report-Bean Improvement Cooperative*, 45: 34-35.

Beije, C.M., Kanyagia, S.T., Muriuki, S.J.N., Otieno, E.A., Self, A.A., Whittle, A.M. 1984. *Horticultural Protection Handbook*. National Horticulture Research Station, Ministry of Agriculture and Livestock Development, Thika, Kenya, pp. 32.

Boudreau, M.A., Mundt, C.C. 1992. Mechanisms of alteration in bean rust epidemiology due to intercropping with maize. *Phytopathology*, 82: 1051-1060.

Imhoff, M.W., Leonard, K.J., Main, C.E. 1982. Analysis of disease progress curves, gradients and incidence-severity relationships for field and phytotron bean rust epidemics. *Phytopathology*, 72: 72-80.

Liebenberg, M.M., Mienie, C.M.S., Pretorius, Z.A. 2006. The Occurrence of rust resistance gene *Ur-13* in common bean cultivars and lines. *Euphytica*, 150: 365-386.

Meine, C.M.S., Naidoo, R., Liebenberg, M.M. 2004. Conversion of the RAPD marker for *Ur-4* to a co-dominant SCAR marker SA141079/800. *Annual Report-Bean Improvement Cooperative*, 47: 261-262.

Miklas, P.N. 2002. Marker-assisted selection for disease resistance in common bean. *Annual Report-Bean Improvement Cooperative*, 45: 1-3.

Miklas, P.N., Pastor-Corrales, M.A., Jung, G., Coyne, D.P., Kelly J.D., McClean P.E., Gepts, P. 2002. Comprehensive linkage map of bean rust resistance genes. *Annual Report-Bean Improvement Cooperative*, 45: 125-129.

Mmbaga, M.T., Steadman, J.R., Stavely, J.R. 1996. The use of host resistance in disease management of rust in common bean. *Integrated Pest Management Reviews*, 1: 191-200.

Park, S.O., Coyne, D.P., Steadman, J.R., Crosby, K.M., Brick, M.A. 2004. RAPD and SCAR markers linked to the *Ur-6* Andean gene controlling specific rust resistance in common bean. *Crop Science*, 44: 1799-1807.

Pastor-Corrales, M.A. 2002. Apparent vulnerability of certain of rust-resistance gene combinations in common bean for the management of *Uromyces appendiculatus*. *Annual Report-Bean Improvement Cooperative*, 45: 42-43.

Pastor-Corrales, M.A. 2003. Sources, genes for resistance and pedigrees of 52 rust and mosaic resistant dry bean germplasm lines released by the USDA Beltsville bean project in collaboration with Michigan, Nebraska and North Dakota agricultural experiment stations. *Annual Report-Bean Improvement Cooperative*, 46: 235-241.

Pastor-Corrales, M.A., Stavely, J.R. 2002. Using specific races of the common bean rust pathogen to detect resistance genes in

- Phaseolus vulgaris. Annual Report-Bean Improvement Cooperative, 45: 78-79.
- Queiroz, V.T., Sousa, C.S., Costa, M.R., Sanglad, D.A., Arruda, K.M.A., Souza, T.L.P.O., Ragagnin, V.A., Barros, E.G., Moreira, M.A. 2004. Development of SCAR markers linked to common bean anthracnose resistance genes Co-4 and Co-6. Annual Report-Bean Improvement Cooperative, 47: 249-250.
- Souza, T.L.P.O., Alzate-Marin, A.L., Moreira, M.A., Barros, E.G.D. 2005. Análise comparativa da variabilidade patogênica de *Uromyces appendiculatus* em algumas regiões brasileiras. Fitopatologia Brasileira, 30: 143-149.
- Souza, T.L.P.O., Alzate-Marin, A.L., Dessaune, S.N., Nunes, E.S., de Queiroz, V.T., Moreira, M.A., de Barros, E.G. 2007. Inheritance study and validation of SCAR molecular marker for rust resistance in common bean. Crop Breeding and Applied Technology, 7(1): 11-15.
- Souza, T.L.P.O., Alzate-Marin, A.L., Faleiro, F.G., Barros, E.G. 2008. Pathosystem common bean-*Uromyces appendiculatus*: host resistance, pathogen specialization, and breeding for rust resistance. Pest Technology, 2(2): 56-69.
- Stavelly, J.R., Kelly, J.D., Grafton, K.F. 1994a. BelMidak-rustresistant navy dry bean germplasm lines. HortScience 29: 709-711.
- Stavelly, J.R., Kelly, J.D., Grafton, K.F., Steinke, J., Steadman J.R., Coyne, D.P., Lindgren, D.T., Silbernagel, M.J. 1994b. Recent rust resistant bean germplasm releases. Annual Report-Bean Improvement Cooperative, 37: 247- 248.
- Steadman, J.R., Pastor-Corrales, M.A., Beaver, J.S. 2002. An overview of the 3rd bean rust and 2nd bean common bacterial blight international workshops. Annual Report-Bean Improvement Cooperative, 45: 120-124.