

Оригинальные статьи / Original articles

<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-93-97>
УДК 635.652/.654:632.938.1

Пашкевич А.М., Чайковский А.И.,
Медведь Н.В.

РУП «Институт овощеводства»
аг. Самохваловичи, Минский район,
Минская область, Республика Беларусь
E-mail: faba@belniio.by

Благодарность

Авторы выражают благодарность сектору генетики растений кафедры генетики Белорусского государственного университета, в лице кандидата биол. наук, доцента Анохиной В.С., старшего научного сотрудника Саук И.Б. и научного сотрудника Романчук И.Ю. за проведение молекулярного маркирования образцов фасоли.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Пашкевич А.М., Чайковский А.И., Медведь Н.В. Определение устойчивости фасоли к возбудителю антракноза – *Colletotrichum lindemuthianum* Br. et Cav. *Овощи России*. 2020;(4):93-97.
<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-93-97>

Поступила в редакцию: 01.05.2019

Принята к печати: 09.07.2020

Опубликована: 25.08.2020

Anna M. Pashkevich,
Andrey I. Tchaikovsky, Natalya V. Medved

Samokhvalovich, Minsk region, Republic of Belarus
E-mail: faba@belniio.by

Acknowledgment. The authors express their gratitude to the plant genetics sector of the Department of Genetics of the Belarusian State University, represented by the candidate of biol. sciences, Associate Professor Anokhina V.S., Senior Researcher Sauk I.B. and researcher Romanchuk I.Yu. for carrying out molecular labeling of beans samples.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For citation: Pashkevich A.M., Tchaikovsky A.I., Medved N.V. Determination of bean resistance to anthracnose pathogen – *Colletotrichum lindemuthianum* Br. et Cav. *Vegetable crops of Russia*. 2020;(4):93-97. (In Russ.)
<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-93-97>

Received: 01.05.2020

Accepted for publication: 09.07.2020

Accepted: 25.08.2020

Определение устойчивости фасоли к возбудителю антракноза – *Colletotrichum* *lindemuthianum* Br. et Cav.

**РЕЗЮМЕ**

Актуальность. В настоящее время в ассортимент овощных культур прочно вошла фасоль овощная, белок которой усваивается человеческим организмом до 87% и выше. Основным фактором, ограничивающим выращивание фасоли в условиях Беларуси, является отсутствие сортов данной культуры, устойчивых к микологическим заболеваниям, в первую очередь, к антракнозу.

Материалы и методы. В исследования были включены 34 образца фасоли овощной мутантного и гибридного происхождения, полученные в секторе бобовых овощных культур РУП «Институт овощеводства НАН Беларуси». Для получения мутагенного эффекта использовали индуцированный мутагенез в виде действия радиоактивного изотопа ⁶⁰Co и неодимового лазера. Гибридные комбинации получали путем внутривидовой гибридизации мутантных образцов. Для молекулярного тестирования генома ДНК выделяли из листьев растений до цветения, ее очистку проводили по методике фирмы Fermentas, набором Genomic DNA Purification Kit. Концентрацию полученного раствора ДНК определяли спектрофотометрическим методом на приборе CARY 50 SCAN. Для проведения ПЦР использовали амплификатор Thermo Hybaid Rx2. Температуру отжига праймеров определяли с помощью программы «олигокалькулятор». В качестве маркера выступил праймер CV2014, устойчивые генотипы к *Colletotrichum lindemuthianum* Br. et Cav были на уровне бэндов размером около 450 п.н. Фитопатологическая оценка поражаемости растений основывалась на визуальных и инструментальных способах учёта реакции растений, и интенсивности поражения, в условиях естественного инфекционного фона в фазу технической спелости.

Результаты. Выделены семь образцов фасоли, имеющие генетическую устойчивость к антракнозу и проявившие ее в условиях естественного инфекционного фона.

Ключевые слова: фасоль, антракноз, инфекционный фон, мутант, гибрид, молекулярно-генетическое маркирование, гены устойчивости, восприимчивость, иммунологическая характеристика.

Determination of bean resistance to anthracnose pathogen – *Colletotrichum* *lindemuthianum* Br. et Cav.

ABSTRACT

Relevance. Currently, the range of vegetable crops has firmly entered the bean, the protein of which is absorbed by the human body by 87% or higher. The main factor limiting the cultivation of beans in Belarus is the lack of varieties of this crop that are resistant to mycological diseases, primarily Anthracnose.

Materials and methods. The study included 34 samples of vegetable beans of mutant and hybrid origin obtained in the sector of legumes of vegetable crops of RUP "Institute of vegetable growing of the National Academy of Sciences of Belarus". To obtain a mutagenic effect, induced mutagenesis was used in the form of the action of a radioactive isotope ⁶⁰Co and a neodymium laser. Hybrid combinations were obtained by intraspecific hybridization of mutant samples. For molecular genome testing, DNA was isolated from plant leaves before flowering, and its purification was performed by Fermentas using a Genomic DNA Purification Kit. The concentration of the resulting DNA solution was determined by a spectrophotometric method on a CARY 50 SCAN. A Thermo Hybaid RX2 amplifier was used for PCR. The annealing temperature of the primer was determined using the program "oligocalculator". The CV 2014 primer was used as a marker. resistant genotypes to *Colletotrichum lindemuthianum* Br. et Cav were at the band level of about 450 BP. Phytopathological assessment of plant infectivity was carried out on the basis of visual and instrumental methods, taking into account the reaction of plants and the intensity of the lesion, in the conditions of a natural infectious background in the phase of technical ripeness.

Results. Seven samples of beans were identified that have genetic resistance to Anthracnose and show it in the conditions of a natural infectious background.

Keywords: bean, Anthracnose, infectious background, mutant, hybrid, molecular genetic labeling, resistance genes, susceptibility, immunological characteristics

Введение

В связи с растущим спросом на продовольственные и кормовые ресурсы, а также с необходимостью диверсификации современного растениеводства в последние годы большое внимание уделяется бобовым культурам [1], в частности, фасоли.

Фасоль – ценная высокобелковая культура, имеющая многостороннее использование в пищевой промышленности. Наиболее важной в пищевом отношении составной частью как лопаток, так и семян фасоли, являются белки, которые участвуют в важнейших функциях организма и не могут быть заменены другими пищевыми веществами. По количеству содержащихся белков фасоль приближается к мясу и превосходит рыбу. Усвояемость белка фасоли в зависимости от кулинарной обработки доходит до 87% и выше. В состав белков фасоли входят аминокислоты, которые могут полностью покрывать потребность в них организма [2]. Также установлено, что 1 га, засеянный фасолью, производит 123 кг белка по сравнению с 3-4 кг белка от мясного скота на одинаковом количестве земли [3].

Основной фактор, препятствующий выращиванию фасоли на зерно в условиях Беларуси – отсутствие сортов, приспособленных для выращивания в наших почвенно-климатических условиях. Антракноз сильно развивается во влажную погоду, поэтому обильные росы и продолжительные дожди особенно благоприятны для развития болезни. Сроки созревания большинства районированных сортов фасоли в нашей стране приходится на сентябрь, что является ограничивающим фактором выращивания фасоли. Поэтому актуальным направлением исследований является выявление образцов фасоли, имеющих устойчивость к антракнозу на генетическом уровне и проявляющих ее в условиях естественного инфекционного фона – в полевых условиях.

Неблагоприятные биотические факторы, которые выражаются в виде болезней возделываемых зерновых бобовых культур, могут приводить к потерям урожаев от 25 до 75%, и даже до 100% [4]. Антракноз фасоли встречается всюду и может поражать растения в любом возрасте, наиболее опасен в период всходов и в период образования молодых бобов. Семена, зараженные антракнозом, высевные в холодную дождливую весну, или не всходят (загнивают), или дают ослабленные, пораженные всходы. На семядолях антракноз проявляется в виде коричневато-красных пятен с более светлым центром. В центре пятна вскоре появляются красноватые подушечки, состоящие из конидиеносцев с удлинёнными одноклеточными конидиями и одиночных щетинок. С каплями росы или дождя споры с семядолей смываются на подсемядольное колено, прорастают, и в результате заражения на стебле появляются темно-бурые полосы; корень может подгнивать, вследствие чего всходы гибнут. От этих первичных очагов споры гриба распространяются по всему посеву, главным образом с брызгами дождя, с ветром, насекомыми.

У листьев поражаются преимущественно жилки с нижней поверхности, от чего они коричневеют, прилегающая ткань желтеет, затем высыхает, по длине жилок лист становится продырявленным. Черешки листьев и стебли поражаются в виде темных полос; на бобах вначале проявляются мелкие ржаво-красные пятна, постепенно увеличивающиеся в размерах, иногда пятна сливаются по нескольку вместе; пораженная ткань углубляется в створку боба, принимая вид округлых язв, а в центре язвочек вскоре появляются мяско-красные слизистые скопления спор грибка. При сильном поражении грибница паразита проникает в семена, на которых образуются такие же пятна, как и на бобах, но у темноокрашенных семян признаки поражения малозаметны; сильно пораженные семена имеют низкую всхожесть [5].

Целью наших исследований являлась комплексная оценка растений мутантных и гибридных популяций фасоли и выде-

ление ценных источников по устойчивости к основному грибному заболеванию – антракнозу.

Материалы и методы исследований

Объектом исследования являлся мутантный материал фасоли овощной шестого поколения в количестве 17 образцов и гибридный материал четвертого поколения в том же количестве; всего 34 образца. На опытных делянках высевали по 50 семян каждого образца, в трехкратной повторности. Площадь делянки, задействованной для выращивания одного образца, составляла 4,5 м². Общая площадь опытных делянок, включая защитные посева, – 160 м². С учетом всхожести и выживаемости, количество изучаемых растений на момент сбора анализируемого материала составляло от 112 до 150 шт., в зависимости от образца.

Образцы фасоли высевали на опытном поле овощного севооборота в аг. Самохваловичи Минского района в 2018 году. Почва участка овощного севооборота дерново-подзолистая легкосуглинистая с такими агрохимическими показателями пахотного (0-25 см) слоя, как: гумус – 2,2-2,4%, рН_{KCl} – 6,3-6,7, подвижные формы калия и фосфора соответственно 186-252,5 и 217-321 мг/кг воздушно-сухой почвы.

Изначально для получения мутагенного эффекта использовали индуцированный мутагенез: кобальт-60 (мощность 0,36 Гр/сек, доза 194 Гр) и неодимовый лазер (в режиме модулированной дробности в течение часа; параметры выходных оптических импульсов: длительность импульсов – 15 нс, частота следования – 15 Гц, пиковая мощность – 3х10⁵ Вт, длина волны – 532 нм). Гибридные комбинации получали путем внутривидовой гибридизации мутантных образцов.

Для молекулярного тестирования генома ДНК выделяли из листьев растений до цветения. Листья высушивали в термостате при температуре 37°C примерно двое суток. Навеску листового материала 0,2 г растирали в ступке с добавлением небольшого количества Al₂O₃. Выделение и очистку ДНК исследуемых образцов проводили по методике фирмы Fermentas, набором Genomic DNA Purification Kit, разработанным этой же фирмой. Концентрацию полученного раствора ДНК определяли методом спектрофотометрии на приборе CARY 50 SCAN (Varian, Австралия). Для проведения ПЦР использовали амплификатор Thermo Hybaid Rx2 (Великобритания). Условия амплификации были следующими: 1) 94°C – 5 мин; 94°C – 45 сек, X°C – 30 сек, 72°C – 1 мин; 2) 94°C – 30 сек, X°C – 30 сек, 72°C – 1 мин; 3) 72°C – 5 мин.

Температуру отжига праймеров определяли с помощью программы «олигокалькулятор» (<http://bio.bsu.by/molbiol/oligocalc.html>). проводили согласно методике [6]. Продукты ПЦР разделяли методом электро-

Таблица 1. Шкала оценки образцов фасоли грибными болезнями
Table 1. Scale for evaluating bean samples with fungal diseases

Поражение	Оценка по 5-балльной шкале		Иммунологическая характеристика
	балл	%	
Отсутствует	0	0	УУ
Очень слабое	1	1-10	УУ
Слабое	2	11-25	У
Среднее	3	26-50	С
Сильное	4	51-75	В
Очень сильное	5	75-100	ВВ

УУ – высокоустойчивый, У – устойчивый, С – средневосприимчивый, В – восприимчивый, ВВ – сильновосприимчивый.

Таблица 2. Результаты оценки образцов фасоли на пораженность антракнозом фасоли (*Colletotrichum Lindemuthianum* Br. et Cav)
Table 2. The results of evaluating beans samples for anthracnose infestation in beans (*Colletotrichum Lindemuthianum* Br. Et Cav)

№	Наименование образца	Степень пораженности, балл	Иммунологическая характеристика	№	Наименование образца	Степень пораженности, балл	Иммунологическая характеристика
Мутантные образцы				Гибридные образцы			
1	Паланочка, контроль	3	С	18	Паланочка (⁶⁰ Co), контроль	2	У
2	M5-31-2-2-1 (⁶⁰ Co)	2	У	19	h13-13-6-3-10	1	УУ
3	M5-31-3-1-3 (⁶⁰ Co)	1	УУ	20	Секунда (⁶⁰ Co), контроль	2	У
4	M5-32-7-1-5 (⁶⁰ Co)	3	С	21	h16-13-14-18-21	2	У
5	M5-32-8-19-7 (⁶⁰ Co)	2	У	22	h18-13-20-5-25	3	С
6	M5-32-10-5-10 (⁶⁰ Co)	3	С	23	Секунда (лаз.), контроль	4	В
7	M5-32-11-9-11 (⁶⁰ Co)	3	С	24	h22-13-27-1-30	3	С
8	M5-32-12-5-12 (60CO)	1	УУ	25	h22-13-36-5-38	1	УУ
9	Триумф сахарный, контроль	4	В	26	h22-13-38-3-40	2	У
10	M11-28-17-6-17 (⁶⁰ Co)	4	В	27	h22-13-38-8-41	1	УУ
11	M11-28-18-7-18 (⁶⁰ Co)	2	У	28	h22-13-39-3-42	3	С
12	M11-28-19-1-19 (⁶⁰ Co)	2	У	29	h22-13-40-4-44	2	У
13	M11-28-20-40-20 (⁶⁰ Co)	3	С	30	h22-13-43-2-48	2	У
14	M11-28-24-1-23 (⁶⁰ Co)	2	У	31	h22-13-44-5-49	1	УУ
15	M11-28-25-4-25 (⁶⁰ Co)	2	У	32	h22-13-46-3-50	1	У
16	M11-28-29-6-29 (⁶⁰ Co)	3	С	33	h15-13-52-9-56	3	С
17	M11-28-29-44-30 (⁶⁰ Co)	3	С	34	Триумф сахарный (лаз.), контроль	4	В

фореза в 1,5% агарозном геле с буфером TAE в присутствии бромистого этидия; визуализацию проводили на UV-транс-иллюминаторе. На форез наносились одинаковым объемом ПЦР-продукты (10 мкл). В качестве маркера длины фрагментов использовали DNA Ladder, Mix MassRuler™; в качестве праймера устойчивости к антракнозу – CV542014 [7].

Фитопатологическая оценка поражаемости растений основывалась на визуальных и инструментальных способах учёта реакции растений (качественные шкалы) и интенсивности поражения (количественные шкалы). Оценку на пораженность антракнозом фасоли (*Colletotrichum lindemuthianum* Br. et Cav) мутантных и гибридных образцов в условиях естественного инфекционного фона проводили в фазу технической спелости.

Изучение большого числа растений коллекционных образцов фасоли разного происхождения ранее, показало, что степень поражения в комфортных условиях и развитие болезни среди образцов наблюдается с нормальным распределением, т.е. большинство растений поражается в средней степени. Согласно методическим указаниям по изучению коллекции зерновых бобовых культур, шкала оценки поражения фасоли грибными болезнями определяется по таблице 1.

Результаты и их обсуждение

С учетом того, что благоприятным фактором для развития данного заболевания на посевах фасоли является повышенная влажность (за счет дождей и обильных рос), а также значительное количество осадков, выпавших в летние месяцы активной вегетации растений (в июле выпало 150 мм осадков при норме 89 мм (отклонение 169%), в августе – 83 мм при норме 68 мм (отклонение 122%)), развитие антракноза происходило активными темпами, что позволило выделить высокоустойчивые образцы (с баллом поражения 1) – M5-31-3-1-3 (⁶⁰Co), M5-32-12-5-12 (⁶⁰Co), h13-13-6-3-10, h22-13-36-5-38, h22-13-38-8-41, h22-13-44-5-49, h22-13-46-3-50.

Антракнозом в слабой степени (2 балла) были поражены мутантные образцы фасоли M5-31-2-2-1 (⁶⁰Co), M5-32-8-19-7 (⁶⁰Co), M5-32-12-5-12 (⁶⁰Co), которые составили 23,5% от общего количества исследуемых образцов. Среди гибридных образцов фасоли очень слабо и слабо данным микологическим заболеванием были поражены 11 образцов (32,3%), средняя степень поражения (3 балла) была зафиксирована у 11 образцов фасоли, сильная (4 балла) – у 4 образцов (11,2%). Также была обнаружена тенденция более сильного

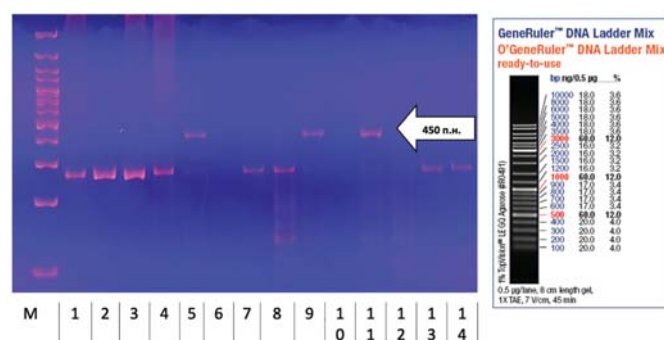


Рис. 1. Результаты амплификации фрагментов ДНК образцов мутантного и гибридного происхождения фасоли овощной с праймером CV2014, где: М – маркер молекулярного веса, 1 – M5-32-12-5-12 (⁶⁰Co), 2 – Триумф сахарный (контроль), 3 – M11-28-17-6-17 (⁶⁰Co), 4 – M11-28-7-18 (⁶⁰Co), 5 – h13-13-6-3-10, 6 – h15-13-52-9-56, 7 – Секунда (лаз., контроль), 8 – h22-13-46-3-50, 9 – h22-13-44-5-49, 10 – h22-13-43-2-48, 11 – h22-13-40-4-44, 12 – h22-13-39-3-42, 13 – h22-13-38-3-40, 14 – h22-13-36-5-38
Fig. 1. Results of amplification of DNA fragments from samples of mutant and hybrid origin of vegetable beans with primer CV2014.

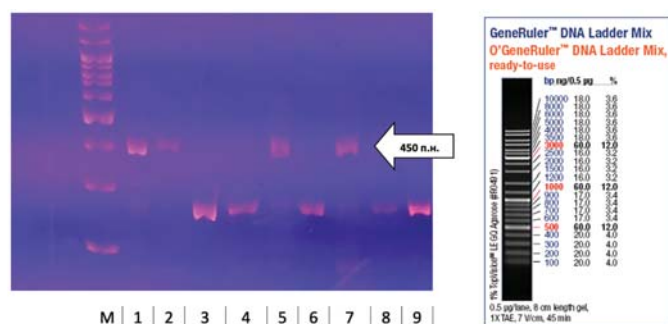


Рис. 2. Результаты типирования мутантных образцов фасоли овощной с праймером CV2014, где: М – маркер молекулярного веса, 1 – М5-31-2-2-2 (⁶⁰Co), 2 – М5-31-3-1-3 (⁶⁰Co), 3 – М5-32-7-1-5 (⁶⁰Co), 4 – М5-32-8-19-7 (⁶⁰Co), 5 – М5-32-10-5-10 (⁶⁰Co), 6 – М5-32-11-9-11 (⁶⁰Co), 7 – М11-28-19-1-19 (⁶⁰Co), 8 – М11-28-20-40-20 (⁶⁰Co), 9 – Паланочка (контроль)
Fig. 2. Results of typing of mutant samples of vegetable beans with primer CV2014

поражения антракнозом исходных родительских форм, которые выступали в роли контроля (табл.2).

В качестве маркера выступил праймер CV2014, устойчивые генотипы были на уровне бэндов размером около 450 п.н. В результате лабораторного анализа аллели устойчивости к антракнозу обнаружены у мутантных форм М5-31-2-2-1

(⁶⁰Co), М5-31-3-1-3 (⁶⁰Co), М5-32-10-5-10 (⁶⁰Co), М11-28-1-1-19 (⁶⁰Co). Среди гибридных форм устойчивые генотипы обнаружены у h13-13-6-3-10, h18-13-20-5-25, h22-13-40-4-44, h22-13-44-5-49 (рис. 1 и 2).

Следует отметить, что среди четырех мутантных образцов фасоли овощной, имеющих ген устойчивости к антракнозу, исходной формой трех образцов является Паланочка, одного – Триумф сахарный. Что же касается образцов гибридного происхождения, то исходная комбинация скрещивания Триумф сахарный (лаз.) х Секунда (лаз.) показала наибольшую генетическую невосприимчивость к антракнозу фасоли – 2 образца с генами устойчивости (в четвертом поколении); также наличие генов устойчивости были отмечены у двух образцов, родительскими формами которых выступила мутантная Паланочка (⁶⁰Co), как по материнской, так и по отцовской линиям (Паланочка (⁶⁰Co) х Секунда (⁶⁰Co) и Секунда (лаз.) х Паланочка (⁶⁰Co)). Не было выявлено бэндов, соответствующих устойчивым генотипам, у мутантных образцов М11-28-29-6-29 (⁶⁰Co) и М11-28-29-44-30 (⁶⁰Co).

Закключение

По результатам оценки мутантных и гибридных образцов фасоли овощной, были выделены образцы, имеющие генетическую устойчивость к антракнозу фасоли и проявившие ее в полевых условиях: мутантный образец М11-28-19-1-19 (⁶⁰Co) и гибридные образцы h13-13-6-3-10, h22-13-40-4-44 и h22-13-44-5-49. Также выделены образцы с геном устойчивости к антракнозу фасоли – М5-32-10-5-10 (⁶⁰Co), М11-28-19-1-19 (⁶⁰Co) и h22-13-40-4-44. Все 7 указанных образцов фасоли представляют интерес и включены в последующие исследования.

Об авторах:

Пашкевич Анна Михайловна – аспирант, зав. сектором бобовых овощных культур
Чайковский Андрей Иванович – кандидат сельскохозяйственных наук, директор
Медведь Наталья Викторовна – агроном

About the authors:

Anna M. Pashkevich – postgraduate student, head. the leguminous vegetable sector
Andrey I. Tchaikovsky – Cand. Sci. (Agriculture), Director
Natalya V. Medved – Agronomist

● Литература

1. Темиров, К.С. и др. Урожайность и биохимические показатели селекционных линий гороха посевного различного морфотипа. *Растениеводство и селекция*. 2016;(5):21-27.
2. Пашкевич, А.М. и др. Оценка коллекционных сортообразцов фасоли овощной по хозяйственным и биолого-морфологическим признакам. *Овощеводство: сборник научных статей. Самохваловичи*, 2015;(23):139-143.
3. Jones, A.L. Phaseolus bean: Post-harvest operations. Organisation: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Edited by AGSI/FAO. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fao.org/3/a-av015e.pdf>. – Дата доступа: 02.02.2016.
4. Djeugap, F.J. et al. Effet variétal et du traitement fongicide sur la sévérité de la maladie des taches angulaires et le rendement du haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) à l'Ouest-Cameroun. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2014;8(3):1221-1233.
5. Dutartre, M. Santé et adaptation du haricot commun *Phaseolus vulgaris* L. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur Aronome. Paris, 2015. 70 p.
6. Yu, K. et al. Integration of Simple Sequence Repeat (SSR) Markers into a Molecular Linkage Map of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *The Journal of Heredity*. 2000;(91):429-434.
7. Goncalves-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 AND277. *Theor. Appl. Genet.* 2011;(122):893-903.

● References

1. Temirov, K.S. [et al.]. Productivity and biochemical indicators of breeding lines of seeded peas of various morphotypes. *Crop Production and selection*. Moscow, 2016;(5):21-27. (in Russ.)
2. Pashkevich, A.M. et al. Evaluation of collectible varieties of vegetable beans by economic and biological-morphological characteristics. *Vegetable Growing: collection of scientific articles – Samokhvalovich*. 2015;(23):139-143. (In Russ.)
3. Jones, A.L. Phaseolus bean: Post-harvest operations. Organisation: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Edited by AGSI/FAO. [Electronic resource]. - Access mode: <http://www.fao.org/3/a-av015e.pdf>. - Date of access: 02.02.2016.
4. Djeugap, F.J. et al. Effet variétal et du traitement fongicide sur la sévérité de la maladie des taches angulaires et le rendement du haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) à l'Ouest-Cameroun. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2014;8(3):1221-1233.
5. Dutartre, M. Santé et adaptation du haricot commun *Phaseolus vulgaris* L. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur Aronome. Paris, 2015. 70 p.
6. Yu, K. et al. Integration of Simple Sequence Repeat (SSR) Markers into a Molecular Linkage Map of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *The Journal of Heredity*. 2000;(91):429-434.
7. Goncalves-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 AND277. *Theor. Appl. Genet.* 2011;(122):893-903.