

# A COLEÇÃO DE CULTURAS DE MICRORGANISMOS FITOPATOGÊNICOS: IMPORTANTE FONTE DE INFORMAÇÃO PARA A PESQUISA DO FEIJOEIRO COMUM

MATEUS HENRIQUE ARAÚJO BANDEIRA<sup>1</sup>, ADRIANE WENDLAND<sup>2</sup>, MARCIO VINICIUS DE CARVALHO BARROS CÔRTEZ<sup>3</sup>, MURILLO LOBO JUNIOR<sup>4</sup>, RONAIR JOSÉ PEREIRA<sup>5</sup>

**INTRODUÇÃO:** A coleção de culturas de microrganismos fitopatogênicos ao feijoeiro comum da Embrapa Arroz e Feijão foi criada na década de 1980 com o objetivo de estimar a variabilidade dos principais patógenos desta cultura e assim orientar a obtenção de cultivares resistentes. Atualmente a coleção possui mais de 3.000 isolados de patógenos de feijão, sendo as espécies mais relevantes: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Pseudocercospora griseola*, *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli, *Fusarium solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e *Xanthomonas axonopodis* pv. phaseoli. Com a criação em 2010 da Rede de Recursos Genéticos Microbianos da Embrapa, ficou evidenciada a importância da coleção no contexto do patrimônio genético brasileiro e com o apoio financeiro tornou-se possível a catalogação, monitoração e manutenção mais adequada para a coleção. O desafio atual é a implantação do banco de dados informatizado e um sistema de busca, disponível ao público interno e externo da Embrapa, com as informações mais relevantes aos usuários, inclusive com dados obtidos com o uso de marcadores moleculares. Dessa forma, além de facilitar o acesso à informação contida no acervo para o público interno da empresa, também será facilitado o acesso à informação por outros grupos de pesquisa externos, contribuindo mais intensamente para o desenvolvimento da pesquisa relacionada ao patossistema. O objetivo deste trabalho foi agrupar os diversos dados relativos à coleção de culturas de microrganismos patogênicos ao feijão da Embrapa Arroz e Feijão, visando ressaltar sua complexidade e importância para o desenvolvimento de plantas resistentes a doenças.

**MATERIAL E MÉTODOS:** As amostras oriundas de diversas regiões produtoras de feijão do Brasil foram recebidas ao longo de 30 anos (1981-2011) pelo Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás, GO. A informação de coleta de cada material foi cuidadosamente registrada em livro ata, contendo nome do coletor, local da coleta, data da coleta, informações georeferenciais e cultivar. O material vegetal foi avaliado quanto aos tipos de sintomas e sua assepsia com álcool 70% e hipoclorito de sódio diluído foi efetuada. O isolamento dos patógenos foi executado de forma diferenciada para bactérias e fungos. Para o isolamento de bactérias a amostra foi macerada e a suspensão formada foi inoculada em placas de Petri contendo meio de cultura ágar batata dextrose (BDA) ou ágar nutriente, dependendo do tipo de doença suspeitada. Para o isolamento dos fungos foi utilizada a técnica de isolamento monospórico e a inoculação do microrganismo em placa de Petri com meio BDA. Tanto as bactérias quanto os fungos isolados foram incubados em temperaturas específicas para o patógeno em estudo. Após a caracterização morfológica, bioquímica e molecular o isolado devidamente identificado foi submetido à preservação a longo prazo por três diferentes métodos: criopreservação, Castellani (em água) e papel de filtro (ALFENAS; MAFIA, 2007). Paralelamente os isolados foram caracterizados quanto à sua patogenicidade em relação à série de cultivares diferenciadoras de acordo com cada patógeno (CIAT, 1990; RAVA; SARTORATO, 1994, PASTOR-CORRALES; ABAWI, 1987) ou por detecção molecular específica (TEGLI et al., 2002, ALVES-SANTOS et al., 2002).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A coleção de patógenos de feijão cresceu ininterruptamente desde o ano de 1981 devido às constantes coletas de materiais com sintomas de doença, realizadas em diversas regiões produtoras da cultura no Brasil para o atendimento das atividades previstas em

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia, Estagiário, Uni-Anhanguera, Goiânia, GO, mateus\_arvarvas\_@hotmail.com

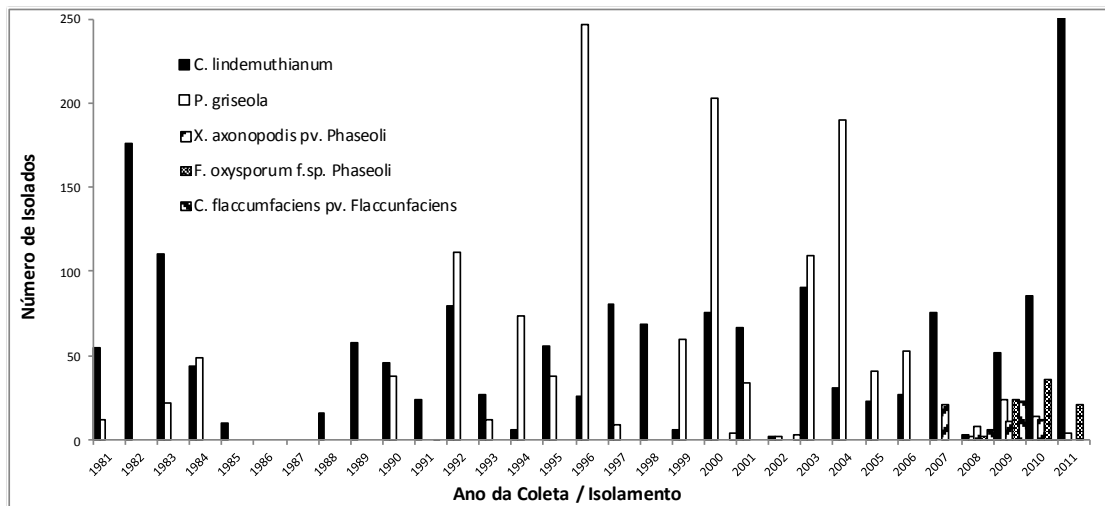
<sup>2</sup>Fitopatologista, Pesquisadora, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, adrianew@cnpaf.embrapa.br

<sup>3</sup>Bioquímico, Analista, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, marciov@cnpaf.embrapa.br

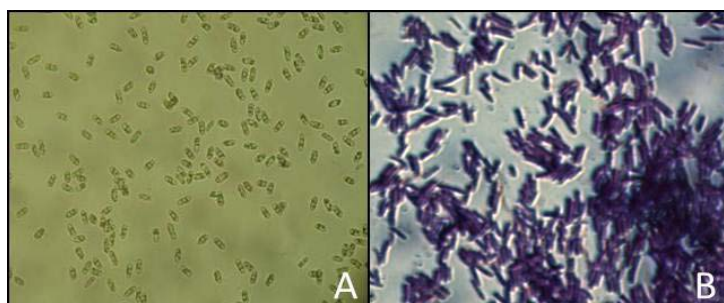
<sup>4</sup>Fitopatologista, Pesquisador, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, murillo@cnpaf.embrapa.br

<sup>5</sup>Técnico Agrícola, Assistente, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, ronair@cnpaf.embrapa.br

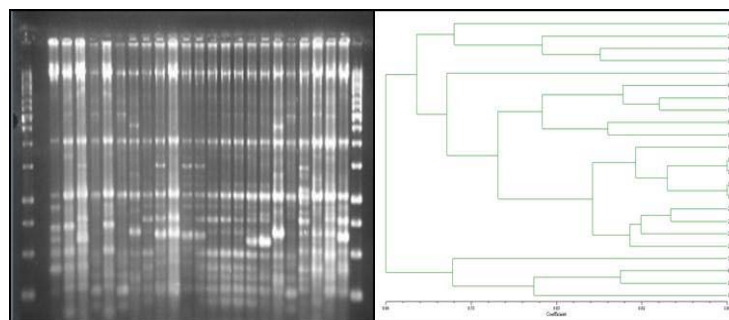
grandes projetos como, por exemplo, edital no. 64 CNPq/Mapa e outros relacionados ao melhoramento genético do feijoeiro comum (Figura 1). Todo o material foi avaliado morfológicamente (Figura 2). Parte do material também foi avaliado aos níveis bioquímico e molecular (Figura 3), quando possível. Esses ensaios foram fundamentais para a confirmação da identidade dos microrganismos isolados ao nível de gênero e espécie. Os microrganismos já identificados foram submetidos à inoculação nas séries de cultivares diferenciadoras para identificação do seu patótipo ou raça ou para avaliação de sua patogenicidade, finalizando a etapa de caracterização dos isolados. Finalmente, todos os isolados testados foram armazenados em condições específicas para conservação em longo prazo, estando assim prontos ao uso como ferramenta do melhoramento genético ou para fins de pesquisa científica, bioprospecção ou desenvolvimento de produtos relacionados ao controle de doenças do feijoeiro comum.



**Figura 1.** Número de isolados de diferentes espécies obtidos entre os anos de 1981 e 2011.



**Figura 2.** Caracterização morfológica de: **A)** conídios de *C. lindemuthianum*; e **B)** bactérias gram positivas da espécie *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.



**Figura 3.** Caracterização molecular de diferentes isolados de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

**CONCLUSÃO:** Ao longo de trinta anos foram obtidos mais de 3.000 isolados de cinco diferentes espécies de patógenos causadores de doenças na parte aérea do feijoeiro. Os isolados foram estocados em condições eficientes para o armazenamento em longo prazo. Foi verificado um alto grau de variabilidade na patogenicidade entre os isolados das mesmas espécies e a predominância de determinados patótipos em determinados períodos e regiões do Brasil, mostrando a necessidade de coletas e isolamentos contínuos ao longo dos anos.

## REFERÊNCIAS

ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. 22. ed., Viçosa: Editora UFV, 2007. 382 p.

ALVES-SANTOS, F. M.; RAMOS, B. M.; GARCÍA-SÁNCHEZ, A.; ESLAVA, A. P.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J. M. A DNA-Based Procedure for In Planta Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli*. **Phytopathology**, 92:237-244. 2002b.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Informe Anual 1988**. Cali. 1990. p. 128-129. (CIAT, Documento de Trabajo, 72)

PASTOR-CORRALES, M. A.; ABAWI, G. S. Reactions of selected bean germplasms to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Plant Disease**.71:990-993, 1987.

RAVA, C.; SARTORATO, A. **Principais Doenças do Feijoeiro Comum e Seu Controle**. 1. ed., Brasília: Editora Embrapa-SPI, 1994. p.17-39.

TEGLI, S.; SERENI, A.; SURICO, G. PCR-based assay for the detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in bean seeds. **The Society for Applied Microbiology**, Italy, v. 35, n. 9, p. 331-337, 2002.