

Variabilidade Patogênica entre Isolados de *Phaeoisariopsis griseola*

Kaesel Jackson Damasceno e Silva¹, Cassius Nonato de Souza Freire², Elaine Aparecida de Souza³ e Aloísio Sartorato⁴

Introdução

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é hospedeiro de vários patógenos. Entre os patógenos que afetam esta cultura destaca-se o fungo *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris, agente causal da mancha angular. Esta doença pode proporcionar perdas de até 80% na produção [1].

Entre as estratégias de controle desta doença destaca-se o uso de cultivares resistentes ao patógeno associada a boas práticas de manejo devido à praticidade e economia. No entanto, a alta variabilidade genética apresentada pelo agente causal tem dificultado a obtenção de cultivares resistentes. Portanto, o monitoramento constante da variabilidade patogênica deve ser realizado para auxiliar programas de melhoramento que objetivem a obtenção de cultivares resistentes a mancha angular. Esta variabilidade tem sido estudada por meio de um conjunto de doze cultivares diferenciadoras [2]. Portanto, este trabalho teve por objetivo verificar a diversidade genética de isolados de *P. griseola* coletados no Estado de Minas Gerais, visando orientar os melhoristas a adotar estratégias eficazes de controle da mancha angular do feijoeiro.

Material e métodos

A. Isolados do fungo

Foram coletados 48 isolados de *P. griseola* infectando cultivares de feijão naturalmente no campo, em três cidades do Estado de Minas Gerais: Alterosa, Ijací e Lavras. Posteriormente foram obtidas as colônias monospóricas de cada isolado.

B. Identificação de patótipos

Para identificação dos patótipos foi utilizado um conjunto de 12 cultivares diferenciadoras juntamente com duas testemunhas, as cultivares Rosinha G-2 (suscetível) e AND 277 (resistente). Para a esporulação, cada isolado foi cultivado em meio folha de feijão-dextrose-água [3] e incubado a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ por 14 dias no escuro. A concentração final de esporos foi ajustada para 2×10^4 conídios.ml⁻¹. As plantas foram inoculadas

no estágio V3 [4]. As plantas inoculadas foram incubadas em uma câmara úmida (acima de 96% UR) durante 48 horas e 16 horas de fotoperíodo.

Posteriormente as plantas foram transferidas para casa de vegetação. Entre 14 e 18 dias após a inoculação as plantas foram avaliadas de acordo com a escala descritiva de 1 a 9 desenvolvida pelo CIAT [4]. Nesta escala, consideram-se como resistentes (reação incompatível) as plantas com notas variando de 1 a 3 e suscetíveis (reação compatível) as plantas que receberam nota igual ou superior a 4. Os patótipos foram designados de acordo com o sistema binário de nomenclatura sugerido por Habgood [5]. As cultivares diferenciadoras foram divididas em dois conjuntos (Andinas e Mesoamericanas) de seis cultivares cada, de acordo com sua origem. Cada conjunto foi arranjado em uma ordem fixa e pré-estabelecida, sendo que cada cultivar recebe um valor fixo. Este valor foi definido pela seguinte equação: 2^{n-1} , em que 2 reflete o número de reações (resistente e suscetível) levadas em consideração e n é o número de ordem de cada cultivar.

B. Identificação de patótipos

Foi obtida a estimativa da diversidade de virulência por meio do índice de diversidade Shannon [6] para as três cidades onde foram coletados os isolados do patógeno, *P. griseola*, pela seguinte expressão:

$$D = -\sum_{i=1}^k p_i \ln p_i$$

em que:

p_i : é a frequência do patótipo dentro de um dado local;

k : é o número de patótipos presentes em cada local.

A diversidade estimada, D , foi normalizada para corrigir a diferença no tamanho amostral, da seguinte maneira:

$$D' = D / \ln N$$

em que:

N : é o tamanho da amostra.

Resultados e Discussão

A. Identificação de patótipos de *P. griseola*

Foi verificada a ocorrência de dez patótipos diferentes (55-15, 63-07, 63-15, 63-23, 63-25, 63-27, 63-31, 63-47, 63-55 e

1. Doutorando em Agronomia / Genética e Melhoramento de Plantas, Depto de Biologia, Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, MG, CEP 37200-000. e-mail: kaeselgen@yahoo.com.br

2. Graduando em Biologia. Bolsista de Iniciação Científica PIBIC/CNPq. Depto de Biologia, Universidade Federal de Lavras, CEP 37200-000. e-mail: cassiusfreire@hotmail.com

3. Professora adjunta, Depto de Biologia, Universidade Federal de Lavras - UFLA, CEP 37200-000. e-mail: easouza@ufla.br

4. Pesquisador, Embrapa Arroz e Feijão, Cx. Postal 179, CEP 75375-000, Santo Antônio de Goiás, GO, e-mail: sartorato@cpaf.embrapa.br Apoio financeiro: CNPq.

63-63) entre os 48 isolados estudados (Tabela 1). Este fato evidencia a elevada variabilidade patogênica deste fungo e confirma os dados existentes na literatura [7, 8, 9 e 10].

O índice de diversidade de Shannon foi obtido para todos os locais onde foram realizadas coletas (Tabela 2). Os índices de diversidade foram considerados como relativamente altos. A maior diversidade foi observada na cidade de Ijací e corrobora com o maior número de patótipos diferentes detectado para este local. Já o índice de diversidade corrigido foi maior para a cidade de Alterosa, o qual deve ser avaliado com extremo cuidado, visto que nesta cidade foram avaliados apenas dois isolados e, nesse caso, cada isolado corresponde a um patótipo diferente.

Entre os patótipos identificados, o que apresentou maior dispersão foi o patótipo 63-63, sendo identificado nas três cidades onde foram realizadas coletas de isolados. A ampla distribuição dos patótipos foi confirmada em alguns trabalhos realizados no Brasil e no mundo. Jara et al. [11] verificaram a ocorrência de 120 patótipos diferentes em 22 países do mundo e entre os patótipos identificados 71 deles ocorreram especificamente em um país. Trabalhos realizados no Brasil por Nietzsche et al. [7] e Sartorato [8] também evidenciaram a ampla distribuição deste patógeno.

Os patótipos 63-15, 63-31, 63-47 e 63-63 foram observados nas cidades de Lavras-MG e Ijací-MG. No entanto, os patótipos 55-15 e 63-25 ocorreram especificamente na cidade de Lavras-MG, enquanto os patótipos 63-07, 63-23 e 63-55 foram identificados, apenas na cidade de Ijací-MG. Entre os dois isolados estudados em Alterosa-MG, um é específico deste local e corresponde ao patótipo 63-27. Os patótipos 63-7, 63-23, 63-31, 63-47, 63-55 e 63-63 já haviam sido identificados em Minas Gerais por Nietzsche et al. [7]. Confrontando estes resultados com os relatados na literatura, percebe-se que os patótipos 55-15, 63-15, 63-25 e 63-27 ainda não haviam sido relatados no Estado de Minas Gerais.

Todos os patótipos (63-7, 63-15, 63-23, 63-25, 63-27, 63-31, 63-47, 63-55 e 63-63) identificados neste estudo, exceto o patótipo 55-15, causam doença em todas as cultivares Andinas (Tabela 1). Este trabalho revelou a existência de isolados altamente patogênicos em ambos os conjuntos de cultivares diferenciadoras (Andinas e Mesoamericanas), e como todos isolados foram coletados em cultivares de feijão que apresentavam sementes pequenas ou médias pode se considerar que todos os isolados estudados pertencem ao conjunto gênico Mesoamericano. Portanto, os isolados de *P. griseola* testados neste estudo coevoluiram com o feijão do grupo Mesoamericano. Estes resultados corroboram com os relatados por Sartorato [8] em que nenhum patótipo de origem Andina foi identificada neste estudo.

Esse resultado reflete diretamente nas estratégias a serem propostas em um programa de melhoramento que vise à obtenção de cultivares resistentes a mancha

angular, visto que somente a incorporação de fontes de resistência de cultivares Andinas ou Mesoamericanas, pode não ser eficiente para controlar a mancha angular. A piramidação de alelos de resistência de ambos os conjuntos gênicos foi proposta por alguns pesquisadores como uma estratégia de controle da mancha angular do feijoeiro. Além da piramidação, o emprego de multilinhas pode ser utilizado como estratégia eficiente de controle, pois atua reduzindo a quantidade inicial de inóculo, bem como a taxa de aumento do inóculo.

Os patótipos identificados em maior frequência foram os patótipos 63-31 e 63-63 (Figura 1), os quais correspondem a 25% e 47,92%, respectivamente, do total dos isolados estudados. Como já evidenciado na literatura [7, 8, 9 e 12] percebe-se que os patótipos 63-31 e 63-63 tem se destacado entre os mais frequentes no Brasil. Isso demonstra a ampla adaptação desses patótipos, às diferentes regiões, facilitada pelo livre intercâmbio de grãos utilizados como sementes entre os estados. Além disso, a reutilização de grãos como sementes potencializa as chances de contaminação dos campos de produção. A maior frequência do patótipo 63-63 detectada neste trabalho é preocupante do ponto de vista de melhoramento genético, pois apresenta ampla patogenicidade, o que dificulta a identificação de alelos que proporcione uma resistência durável. Estes achados enfatizam a necessidade de uma busca contínua por novas fontes de resistência a mancha angular [9].

As cultivares Mesoamericanas, BAT 332 e Cornell 49-242 possuidoras dos alelos de resistência *Phg-6²* e *Phg-3*, respectivamente, apresentam-se como fontes de resistência viáveis a serem utilizadas em programas de melhoramento, para esses locais. A combinação dos alelos presentes nessas duas cultivares oferece uma boa alternativa de estratégia para a o controle desta doença. Já Sartorato & Alzate-Marin [12] ao realizarem um levantamento na literatura sobre a variabilidade patogênica de *P. griseola* no Brasil entre os anos de 2002 e 2004, observaram que as cultivares Mesoamericanas: México 54 (*Phg-2*, *Phg-5* e *Phg-6*), Cornell 49-242 (*Phg-3*) e BAT 332 (*Phg-6²*) são as cultivares mais resistentes no Brasil e a associação dos alelos presentes nestas três cultivares conferem resistência a todos os patótipos identificados, exceto ao patótipo 63-63. Consideraram ainda que as cultivares Andinas, G5686 e Amendoin, são importantes fontes de resistência.

Agradecimentos

Agradecemos a Embrapa Arroz e Feijão/CNPAF e ao apoio financeiro do CNPq.

Referências

- [1] CORREA-VICTORIA, F. J.; PASTOR-CORRALES, M. A.; SAETTLER, A. W. 1989. Angular leaf spot. In: SCHWARTZ, H. F.; PASTOR-CORRALES, M. A. (Eds). Bean production problems in the tropics. Cali: CIAT, p. 59-76.
- [2] PASTOR-CORRALES, M. A.; JARA, C. E. 1995. La evolución de *Phaeoisariopsis griseola* con el frijol común en América Latina. Fitopatología Colombiana, v. 19, p. 15-24.
- [3] SILVEIRA, G. A. 1967. Evaluación de la resistencia de frijol a la mancha angular: algunos aspectos fisiológicos de *Isariopsis*

- griseola* Sacc. y patogenicidad de algunas cepas colectadas en Costa Rica. Turrialba: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas da OEA., 60p. (Tese - Mestrado).
- [4] CIAT. 1987. Standard system for the evaluation of bean germoplasm. Van Schoonhoven, A. Pastor-Corrales, M. A., compilers. Cali, Colombia, CIAT, 54pp.
- [5] HABGOOD, H. 1970. Designation of physiological races of plant pathogens. Nature, London, v. 227, n. 5264, p. 1268-1269.
- [6] GROTH, J. V.; ROELFS, A. P. 1982. Effect of sexual and asexual reproduction on race abundance in cereal rust fungus populations. Phytopathology, v. 72, p. 1503-1507.
- [7] NIETSCH, S.; BORÉM, A.; ALZATE-MARIN, A. L.; COSTA, M.; ROCHA, R. C.; CAIXETA, E. T.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. 2002. Variabilidade genética da patogenicidade de *Phaeoisariopsis griseola* no Brasil. Summa Phytopathologica, v. 28, n. 4, p. 331-335.
- [8] SARTORATO, A. 2002. Identification of *Phaeoisariopsis griseola* pathotypes from five states in Brazil. Fitopatologia Brasileira, v.27, n. 1, p.78-81.
- [9] SARTORATO, A. 2004. Pathogenic variability and diversity of *Phaeoisariopsis griseola* isolates from two counties in the State of Goiás, Brazil. Journal of Phytopathology, Berlin, v. 152, p. 385-390.
- [10] OROZCO, S. & ARAYA, C.M. 2005. Variabilidade patogênica de *Phaeoisariopsis griseola* na Costa Rica. Fitopatologia Brasileira, v. 30, n. 6, p. 589-593.
- [11] JARA, C.; CASTELLANO, G.; MAHUKU, G. 2001. Estado actual y proyección de la investigación relacionada com lamancha angular del frijol (*Phaeoisariopsis griseola*). Fitopatologia Colombiana, v. 25, n. 1, p. 1-6.
- [12] SARTORATO, A.; ALZATE-MARIN, A. L. 2004. Analysis of the pathogenic variability of *Phaeoisariopsis griseola* in Brazil. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative, New York, v. 47, p. 235-236.

Tabela 1. Identificação de patótipos baseada na reação das doze cultivares diferenciadoras inoculadas com 48 isolados de *P. griseola* coletados na cidades de Alterosa, Ijací e Lavras, Minas Gerais.

Patótipos	Cultivares diferenciadoras												nº de isolados
	Andinas ^a						Mesoamericanas ^b						
	2 ⁰	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁰	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	
Lavras													27
55-15	+ ^c	+	+	- ^d	+	+	+	+	+	-	-	-	1
63-15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	1
63-25	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	1
63-31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	6
63-47	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	1
63-63	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	17
Ijací													19
63-07	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	1
63-15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	2
63-23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	1
63-31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	6
63-47	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	2
63-55	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	2
63-63	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
Alterosa													2
63-27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	1
63-63	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
Tota l	48	48	48	47	48	48	48	47	46	40	40	28	48

^a 2⁰ - Don Timóteo; 2¹ - G11796; 2² - Bolón Bayo; 2³ - Montcalm; 2⁴ - Amendoin; 2⁵ - G5686.

^b 2⁰ - Pan 72; 2¹ - G2858; 2² - Flor de Mayo; 2³ - Mexico 54; 2⁴ - BAT 332; 2⁵ - Cornell 49-242.

^c Reação compatível (+).

^d Reação incompatível (-).

Tabela 4 Índices de diversidade de Shannon (*D*) e o índice de diversidade corrigido (*D'*) para os locais de coleta dos isolados de *P. griseola*.

Cidades	<i>D</i>	<i>D'</i>
Lavras	1,11	0,34
Ijací	1,74	0,59
Alterosa	0,69	1,00

Combinado

1,58

0,41
