

## ORIGEM DOS CONÍDIOS DE *Phaeoisariopsis griseola* PARA INICIAR UMA EPIDEMIA DE MANCHA ANGULAR NO FEJJOEIRO COMUM

ALOÍSIO SARTORATO<sup>1</sup>

**INTRODUÇÃO:** O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das principais fontes de proteína do povo brasileiro, fundamentalmente, daqueles de baixa renda. Por ser cultivada durante todo o ano numa grande diversidade de ambientes, essa leguminosa é afetada por várias doenças. Entre elas, a mancha angular, incitada pelo fungo *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr., pode ser encontrada em todas as regiões produtoras. Esta enfermidade pode ser a responsável por perdas de até 70% na produção (Brenes et al., 1983; Sartorato & Rava, 1992). Esta doença pode afetar toda a parte aérea da planta podendo causar a queda prematura das folhas com conseqüente redução na qualidade do grão. A mancha angular é disseminada pela chuva, por partículas de solo infestada, pelas sementes e, principalmente, pelas correntes de ar. Sabe-se que embora a doença seja transmitida pelas sementes, estas apresentam uma baixa taxa de transmissão. O presente trabalho apresentou como objetivo demonstrar que o início de uma epidemia é devido aos conídios de *Phaeoisariopsis griseola* que advém de outras áreas de cultivo.

**MATERIAL E MÉTODOS:** O trabalho foi desenvolvido na área experimental e laboratórios da Embrapa Arroz e Feijão, localizados no município de Santo Antônio de Goiás, GO. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados, com três tratamentos (controle, cultivar resistente e cultivar susceptível), e quatro repetições. A fim de se provar a origem externa dos conídios de *P. griseola* utilizou-se como fonte de inóculo, 3 plantas (plantas fonte), as quais foram transferidas para o centro de cada parcela (exceto na parcela controle) 43 dias após o plantio (DAP), aí permanecendo por sete dias consecutivos. As plantas fonte foram inoculadas em casa de vegetação 15 DAP com uma suspensão do isolado Ig 746 contendo  $2 \times 10^4$  esporos.mL<sup>-1</sup> e antes de serem transferidas para o campo, sofreram um processo de adaptação às condições externas à casa de vegetação, sendo deixadas em área com sombra natural por 3 dias. Ao final deste período, as plantas fontes, apresentando alta severidade de doença nas folhas inoculadas, foram transferidas para o centro de cada parcela no final da tarde. Quatro folíolos apresentando sintomas de mancha angular foram coletados de cada parcela aos 57, 64 e 75 DAP. A primeira coleta ocorreu aos 14 dias após a transferência das plantas fonte para o campo. A partir destes folíolos, foram realizados dois isolamentos monospóricos, totalizando 24 isolados de cada

---

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo, Pesquisador, Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, CEP 75375-000, Santo Antônio de Goiás - GO, (0xx62) 533-2151, sartorat@cnpaf.embrapa.br

tratamento. De cada tratamento foram utilizados apenas 12 isolados monospóricos perfazendo um total de 108 isolados estudados em todo o experimento. Após o crescimento do micélio em meio BD (Batata-Dextrose) por aproximadamente 12 dias à temperatura ambiente, foram extraídos os DNAs utilizando-se o protocolo de Roeder & Broda (1987). Na amplificação dos DNAs pelo método do RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) foram utilizados os primers OPK 10, OPL 14, OPL 17, OPL 18, OPR 03 e OPR 13. Cada reação de 25 µL continha 25 ng de DNA, 0,1 mM de cada dNTP, 2,0 mM de MgCl<sub>2</sub>, 10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 0,4 µM de primer e uma unidade de *Taq* polimerase. Cada ciclo de amplificação constou de 94°C por 15 segundos, 35 °C por 30 segundos e 72 °C por 60 segundos. Após 40 ciclos, foi realizado mais um passo de extensão de 72 °C por 7 minutos. Os produtos da amplificação foram corados com brometo de etídio. e visualizados em gel de agarose 1,5%. As bandas amplificadas foram anotadas segundo sua presença (1) ou sua ausência (0) para cada isolado do patógeno. A matriz gerada foi submetida à análise de agrupamento realizada pelo método das médias aritméticas não ponderadas e o quadrado da distância Euclidiana. Em todos os cálculos foi utilizado o programa Statistic for Windows, versão 5.0.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Os resultados obtidos podem ser observados no dendrograma da Figura 1. O fungo *P. griseola* apresentou grande diversidade genética. A um limite arbitrário de 14,5% de distância genética relativa, a análise do experimento pode ser subdividida em 4 grupos. Os dois primeiros grupos estão formados por apenas um isolado cada. Estes isolados apresentaram as maiores distâncias quando comparados com os demais isolados, sendo os mais diferentes deles. O terceiro grupo apresentou três isolados e o quarto grupo compreendeu um total de 103 isolados. Pode-se também observar que o subgrupo que contém o isolado utilizado como controle (Ig 746) apresentou seis outros isolados bastante similares a ele, indicando que provavelmente estes isolados originaram-se do isolado Ig 746 ou que no campo experimental haviam alguns isolados muito similares ao isolado controle. O fato da mancha angular ser transmitida pela semente, é pouco relevante neste patossistema, uma vez que a percentagem de transmissão é da ordem de no máximo 2,5%. Os demais isolados, foram divididos em outros subgrupos, indicando a falta de uma maior similaridade entre eles e aqueles que pertencem ao subgrupo do isolado controle. O fato da grande maioria dos isolados trabalhados ter sido colocados em diferentes subgrupos que não o do isolado controle, indica que estes isolados atingiram as parcelas experimentais advindo de outro local que não as plantas fontes.

**CONCLUSÕES:** A maioria dos isolados de *Phaeoisariopsis griseola* encontrados na área experimental, difere geneticamente do isolado controle (Ig 746) sugerindo que uma epidemia de mancha angular é iniciada com conídios advindos de fora da lavoura/área experimental.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRENES, B.M.; CHAVES, G.M.; ZAMBOLIM, L. Estimativas de perdas no rendimento do feijoeiro comum (*P. vulgaris* L.) causadas pela mancha angular (*Isariopsis griseola* Sacc.) Fitopatologia Brasileira, v. 8, p. 599. 1983.
- SARTORATO, A., RAVA, C.A. Influencia da cultivar e do número de inoculações na severidade da mancha angular (*Isariopsis griseola*) e nas perdas na produção do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* ). Fitopatologia Brasileira, v.17, p.247-251, 1992.
- ROEDER, V. & BRODA, P. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. Letters of Applied Microbiology, v. 1, p. 17-20. 1987.

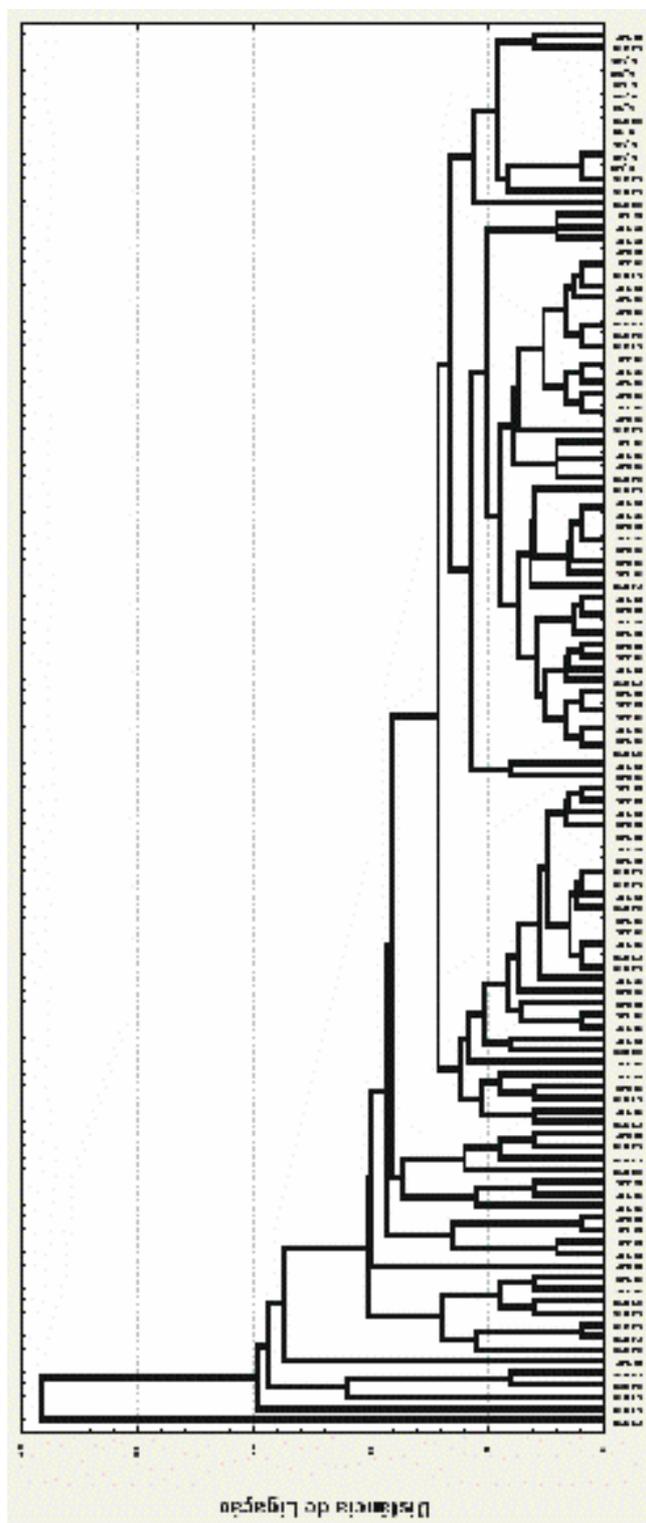


Figura 1. Dendrograma gerado com base na análise de DNA polimórfico amplificado ao acaso (RAPD) de 108 isolados do fungo *Phaeoisariopsis griseola* coletados na Embrapa Arroz e Feijão e os primers OP K10, OP L14, OP L17, OP L18, OP R03, OP R13, utilizando o método das médias aritméticas não ponderadas e o quadrado da distância Euclidiana.