

IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS FISIOLÓGICAS DE *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. DE TRÊS MUNICÍPIOS DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO.^{1/}

Solane Resende Ribeiro ^{2/}
Geraldo Martins Chaves ^{3/}

1. INTRODUÇÃO

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib., é considerada como uma das mais graves doenças do feijoeiro.

O uso de fungicidas no controle da doença tem-se mostrado difícil e antieconómico. A produção de sementes sadias, em regiões áridas, e o uso de cultivares mais resistentes à moléstia são os métodos mais adequados para o seu controle. A utilização de cultivares resistentes à antracnose requer conhecimento prévio da reação das raças fisiológicas prevalecentes na região onde se pretende utilizá-los.

Este trabalho objetivou identificar raças fisiológicas de *C. lindemuthianum* prevalecentes em três municípios do Espírito Santo onde têm ocorrido severos ataques da doença, municípios estes que são representativos das regiões do Estado que cultivam a leguminosa.

^{1/} Parte da tese apresentada, pelo primeiro autor, à Universidade Federal de Viçosa, como uma das exigências do Curso de Microbiologia Agrícola (Fitopatologia) para obtenção do grau de «Magister Scientiae». Projeto executado com recursos da FINEP.

Recebido para publicação em 16.01.1981.

^{2/} Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária, EMCAPA, Vitória, ES.

^{3/} Departamento de Fitopatologia da U.F.V. Viçosa, Minas Gerais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

As culturas do patógeno foram obtidas a partir de vagens infectadas, coletadas em experimentos de introdução e avaliação de comportamento de variedades de feijoeiro, instalados nos municípios de Domingos Martins, Afonso Cláudio e Muniz Freire. De diferentes lesões de uma mesma vagem foram realizados 1, 2 ou 3 isolamentos, obtendo-se um total de 107 culturas em meio de Mathur (4). As culturas foram incubadas a 22°C, durante 6 a 8 dias. Repicadas para tubos com o meio de Mathur, após 10 dias de crescimento, a 22°C, foram armazenadas a 5°C, até o momento de uso (7).

Para a diferenciação das raças foram usadas as variedades 'Michelite', 'Perry Marrow', 'Dark Red Kidney', 'Emerson 847', 'Phaseolus aborigineus 283' e 'Costa Rica 1031', obtidas do Banco de Germoplasma de Feijão da Universidade Federal de Viçosa. O cultivar 'Cornell 49-242', que permitiria a identificação de raças capazes de quebrarem a resistência do gene *Are*, foi também utilizado nos testes.

O plantio foi feito em mistura de terra e areia, na proporção de 1:1, fumigada com brometo de metila, em bandeja de plástico com 40 x 28 x 10 cm. As sementes de cada amostra foram colocadas, separadamente, em bandejas plásticas totalmente submersas em água, durante 3 a 4 horas, para que se efetuasse a remoção do tegumento. O plantio foi feito logo em seguida. Para a variedade 'Phaseolus aborigineus 283', fez-se um pequeno corte no tegumento, na região dorsal da semente, antes de colocá-la em água, para facilitar a absorção do líquido e, consequentemente, a retirada do próprio tegumento, que é muito duro (6). O plantio foi feito em linhas de 6 a 10 plantas de cada variedade por bandeja, à exceção do cultivar 'Cornell 49-242', que foi plantado em latas de 12 cm de altura e 7 cm de diâmetro.

Como inóculo, usou-se uma suspensão que continha 1,0 a 2,0 x 10⁶ esporos por mililitro, preparada com culturas de 10 a 15 dias de idade, previamente passadas em gaze, para eliminar fragmentos do meio. A inoculação foi feita com atomizador de Vilbiss n.º 15, acionado por um compressor (7). Empregaram-se 20 ml de suspensão, aproximadamente, para cada conjunto dos sete cultivares diferenciadores. As plantas foram atomizadas oito dias após a semeadura. Cada bandeja, com os 6 cultivares diferenciadores, apresentando 6 a 10 plantas por cultivar, acompanhada de 5 latas com o 'Cornell 49-242', foi inoculada com uma cultura.

As plantas inoculadas foram mantidas em câmara de nevoeiro durante 4 dias, à temperatura de 20 ± 1°C, aproximadamente. Para evitar o estiolamento, foram usadas 8 lâmpadas fluorescentes de 40w, com espaçamento de 50 cm, as quais proporcionavam intensidade luminosa de 2.200 lux. Em seguida, as plantas foram transferidas das câmaras de nevoeiro para a casa de vegetação. A leitura do tipo de infecção foi realizada do 8.º ao 10.º dia após a inoculação, de acordo com o critério proposto por PIO-RIBEIRO e CHAVES (6):

R — Imune — Ausência de sintoma macroscópico.

r — Resistente — Plantas com poucas manchas, escuras e pequenas, de contornos bem delimitados ou apresentando escurecimento suave dos tecidos. Ocorrem em áreas esparsas do caule, do pecíolo e, algumas vezes, das nervuras, o que indica infecção de leve a moderada.

s — Susceptível — Desenvolvimento de grandes manchas necróticas no caule e nas folhas, observando-se, normalmente, a sobrevivência de quase todas as plantas, embora muito atacadas.

S — Muito Susceptível — Presença de numerosas lesões necróticas, que, geralmente, coalescem, causando a morte das plantas, caracterizando lesão muito severa.

Plantas R e r foram consideradas como resistentes e plantas S e s como suscetíveis.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nas reações dos cultivares 'Michelite', 'Dark Red Kidney', 'Perry Marrow', 'Emerson 847', 'Phaseolus aborigineus 283', 'Costa Rica 1031' e 'Cornell 49-242', as culturas testadas foram classificadas como pertencentes às raças BA-1 e BA-2, do grupo Alfa, BA-4 e BA-5, do grupo Brasileiro I, e BA-10, do grupo Delta (Quadros 1, 2 e 3).

As culturas provenientes do município de Domingos Martins foram identificadas como pertencentes às raças BA-1 (44,2%), BA-2 (11,6%), BA-4 (9,3%), BA-5 (25,6%) e BA-10 (9,3%) (Quadro 1). Em Muniz Freire, as raças BA-1 e BA-5 atingiram o mesmo índice de freqüência (36,2%), não tendo sido encontrada a raça BA-2. Também nesse município notou-se a presença das raças BA-10 (12,1%) e BA-1 (15,5%), como se vê no Quadro 2. Apenas as raças BA-1 e BA-5 foram encontradas no município de Afonso Cláudio, possivelmente por ter sido pequeno o número de amostras coletadas na região.

A área de experimentos de introdução e avaliação de cultivares de feijão, na qual se efetuou a coleta de amostras, era relativamente pequena, cerca de 500 m² por local. Mesmo nessas pequenas áreas foram encontradas até 5 raças do patógeno num único local, sendo pouco provável que tenham sido introduzidas por sementes contaminadas dos próprios cultivares utilizados nos ensaios. O levantamento realizado evidenciou que a variabilidade do patógeno é bastante elevada nessas regiões do Estado do Espírito Santo.

No município de Domingos Martins foi constatado um caso em que foram encontradas as raças BA-1 e BA-5 em lesões diferentes numa mesma vagem.

Nas regiões levantadas verificou-se a predominância do grupo alfa, seguido do grupo brasileiro I.

As reações dos cultivares 'Michelite' e 'Perry Marrow' às 5 raças foram semelhantes. O 'Perry Marrow' apresentou algumas plantas com deformações foliares ou clorose, as quais foram descartadas.

No caso de algumas diferenciadoras, entretanto, plantas provenientes do mesmo lote de sementes apresentaram comportamentos diferentes quando inoculadas com a mesma cultura. Assim, os cultivares 'Costa Rica 1031', 'Emerson 847', 'Phaseolus aborigineus 283' e, principalmente, o 'Dark Red Kidney' apresentaram reações mistas, que variaram em função das raças envolvidas, como demonstra o Quadro 4. 'Dark Red Kidney' destacou-se por ter apresentado reações de suscetibilidade e de resistência, com predominância da última, à raça BA-5. Esse fenômeno pode ser, em parte, devido à impureza dos cultivares diferenciadores.

O cultivar 'Cornell 49-242' portou-se como resistente a todas as culturas do patógeno testadas, confirmando-se os trabalhos de várias autores, segundo os quais a resistência conferida pelo gene dominante *Are* ainda não foi quebrada no Brasil (1, 5, 6). Três culturas isoladas de plantas, supostamente do cultivar 'Cornell 49-242', foram identificadas como pertencentes à raça BA-1, como consta no Quadro 2. Algumas culturas das raças BA-4 e BA-5, do grupo brasileiro I, e da BA-10, do grupo delta (Quadro 4), provocaram reações r (pequenas e em número reduzido). LEAKY e SIMBWA-BUNNYA (3), trabalhando com esse cultivar, verificaram que a imunidade conferida por esse gene poderia ser parcialmente quebrada por alguns isolamentos do fungo. KRUGER *et alii* (2) demonstraram que a resistência do gene *Are* pode ser quebrada pela raça capa, encontrada na Europa. FOUILLOUX (1) já encontrou, em culturas recebidas do Brasil, um isolamento capaz de anular o gene *Are*, denominando-o α — Brasil.

QUADRO 1 - Reação de 7 diferenciadoras a culturas de *Colletotrichum lindemuthianum* isoladas de cultivares de feijão provenientes do município de Domingos Martins, ES

Nº DE CULTURAS	CULTIVAR	Diferenciadoras*					RACA	GRUPO
		M	DRK	FM	E	PA		
5	'Venezuela 350'	S**	R	R	R	S	R	BA-1 Alfa
2	'Moruna'	S	R	S	R	S	R	BA-4 Brasileiro I
1	'Preto 120'	S	R	R	R	S	R	BA-2 Alfa
1	'4 M'	S	R	S	S	S	R	BA-5 Brasileiro I
1	'Porto Alegre'	S	R	R	R	S	R	BA-2 Alfa
3	'Aroana'	S	R	R	R	S	R	BA-1 Alfa
3	'Preto 143'	S	R	R	R	S	R	BA-1 Alfa
2	'Preto 143'	S	R	S	S	S	R	BA-5 Brasileiro I
1	'Vagem Roxa'	S	R	R	S	S	R	BA-1 Alfa
1	'Preto 143'	S	S	S	R	S	R	BA-10 Delta
2	'Paina'	S	R	S	S	S	R	BA-5 Brasileiro I
2	'Vagem Roxa'	S	R	S	R	S	R	BA-4 Brasileiro I
3	'Preto 120'	S	R	R	R	S	R	BA-2 Alfa
2	'Colegão 126 N'	S	R	R	S	S	R	BA-1 Alfa
3	'Preto 120'	S	R	S	S	S	R	BA-5 Brasileiro I
3	'Tambó IAS-5'	S	S	S	R	S	R	BA-10 Delta
3	'Seleção Cava 168 N'	S	R	R	S	S	R	BA-1 Alfa
5	'Rosinha'	S	R	R	S	S	R	BA-1 Alfa
2	'Venezuela 350'	S	R	S	S	S	R	BA-5 Brasileiro I
2	'Tayhu'	S	R	R	S	S	R	BA-1 Alfa
3	'Tayhu'	S	R	S	S	S	R	BA-5 Brasileiro I

* Diferenciadoras

M - 'Michelite',
PN - 'Perry Marrow',

PA - 'Phascolus abortivus'

C - 'Cornell 149-42',

DRK - 'Dark Red Kidney',

E - 'Emerson 847',

CR - 'Costa Rica 1031',

** S = suscetível; R - resistente

QUADRO 2 - Reação de 7 diferenciadoras a culturas de *Colletotrichum lindemuthianum* isoladas de variedades de feijão provenientes do município de Maniz Freire, ES

Nº DE CULTURAS	CULTIVAR	Diferenciadoras*						RACA	GRUPO
		M	DRK	PM	E	PA	CR		
3	'Costa Rica'	S	S	S	S	R	S	R	BA-10
3	'Cornell 49-242'	S	R	S	S	S	S	R	Delta
2	'4 M.'	S	R	S	S	S	S	R	Brasileiro I
2	'Rico pardo 896'	S	R	S	S	S	S	R	Brasileiro I
1	'Preto 120'	S	R	R	R	S	S	R	Brasileiro I
1	'Manteigão 977'	S	R	R	R	S	S	R	Alfa
2	'Moruna'	S	S	S	S	K	S	R	Delta
2	'Preto 135'	S	R	S	S	S	S	R	Brasileiro I
3	'Rico pardo 896'	S	R	S	S	S	S	R	Brasileiro I
2	'Porto Alegre'	S	R	S	S	S	S	R	Brasileiro I
3	'Preto Uberabinha'	S	R	R	R	S	S	R	Brasileiro I
2	'Preto 120'	S	R	R	R	S	S	R	Alfa
3	'Manteigão Fosco 11'	S	R	R	R	S	S	R	Delta
2	'4 M.'	S	R	S	S	S	S	R	Alfa
2	'Preto 143'	S	R	S	S	R	S	R	Brasileiro I
2	'Vagem Roxa'	S	R	R	R	S	S	R	Brasileiro I
2	'Araxá'	S	R	S	S	R	S	R	Alfa
3	'Mantigão 977'	S	R	R	R	S	S	R	Brasileiro I
3	'Guateian'	S	R	S	S	S	S	R	Alfa
3	'Rio Tibagi'	S	R	S	S	R	S	R	Brasileiro I
2	'Costa Rica'	S	S	S	S	R	S	R	Brasileiro I
2	'Seleção Cava 168 N'	S	R	R	R	S	S	R	Delta
1	'Carioca'	S	R	R	R	S	S	R	Alfa
3	'Cornell 49-242' (?)	S	R	R	R	S	S	R	Alfa
2	'Venezuela 350'	S	R	S	S	S	S	R	Brasileiro I
1	'Tayhu'	S	R	S	S	R	S	R	Brasileiro I

* Diferenciadoras

4 = 'Michelite'; DRK = 'Dark Bed Kidney'; = 'Perry Marrow'

Emerson 847; PA - *Phaeococcus abortivinus* 283; DAIK KEU Kidney; DAK - Petty Marrow

ER = 'Costa Rica 1031'; C = 'Cor
S = susceptible; R = resis

QUADRO 3 - Reação de 7 diferenciadoras a culturas de *Colletotrichum lindemuthianum* isoladas de variedades de feijão provenientes do município de Afonso Cláudio, ES

Nº DE CULTURA	CULTIVAR	Diferenciadoras*					RAÇA	GRUPO	
		M	DRK	PM	E	PA			
2	'Preto 120'	S	R	R	R	S	S	BA-1	Alfa
2	'Seleção Cuva 168N'	S	R	S	S	S	S	BA-5	Brasileiro I
2	'Preto 143'	S	R	S	S	S	R	BA-5	Brasileiro I

* Diferenciadoras

M - 'Michelite';

E - 'Emerson 847';

CR - "Costa Rica 1031'M

S = suscetível; R = resistente

DKR - 'Dark Red Kidney'; PM - 'Perry Marrow';

PA - 'Phaseolus aborigineus 283';

C - 'Cornell 49-242'

QUADRO 4 - Comportamento de 7 cultivares diferenciadores em relação a 5 raças de *Colletotrichum lindemuthianum*

GRUPO	RACA	Diferenciadoras*					
		M	DRK	PM	E	PA	CR
Alfa	BA-1	10S:OR	4R:1r	10R:OS	2R:1r	10S:OR	10S:OR
Alfa	BA-2	9S:OR	9R;1s	9S:OS	10S:OS	4R:1r	9S:OR
Brasileiro I	BA-4	8S:OR	5R:1r	10S:OS	10S:OS	6R:1r	10S:OR
Brasileiro I	BA-4	10S:OR	5R:1r;3S	10S:OS	3S:1s	8S:OR	10S:OR
Delta	BA-10	10S:OR	10S:OR	8S:OR	10S:OR	10R:OS	9S:1s
							4R:1r

* Diferenciadoras:

M - 'Michelite'; DRK - 'Dark Red Kidney'; PM - 'Perry Marrow'; E - 'Emerson 847'; PA - 'Phascolus' aborigineus 283'; CR - 'Costa Rica 1031'; C - 'Cornell 49-242'.

4. RESUMO

Amostras de vagem de feijão (*Phaseolus vulgaris*) com sintomas típicos de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) foram coletadas em três municípios do Estado do Espírito Santo. De cada amostra foram feitos 1,2 ou 3 isolamentos, tomando-se lesões diferentes da mesma vagem.

Foram identificadas 107 culturas do patógeno, utilizando-se as seguintes diferenciadoras: 'Michelite', 'Dark Red Kidney', 'Perry Marrow', 'Emerson 847', '*Phaseolus aborigineus* 283', 'Costa Rica 1031' e 'Cornell 49-242'. As culturas foram consideradas como pertencentes às raças BA-1 e BA-2, do grupo alfa, BA-4 e BA-5, do grupo brasileiro I, e BA-10, do grupo delta. As raças mais freqüentes foram a BA-1 e a BA-5. O cultivar 'Cornell 49-242' mostrou-se praticamente imune às culturas testadas.

Num município foram encontradas até 5 raças do patógeno num mesmo local. Além disso, ocorreu um caso em que se encontraram duas raças do patógeno na mesma vagem, o que demonstra a alta variabilidade do patógeno nas regiões onde se fez o levantamento.

5. SUMMARY

Samples of bean pods (*Phaseolus vulgaris*) with anthracnose symptoms (*Colletotrichum lindemuthianum*) were collected in three counties of the state of Espírito Santo. From each sample 1,2 or 3 isolates were obtained from different lesions on the same pod. The cultivars 'Michelite', 'Dark Red Kidney', 'Perry Marrow', 'Emerson 847', '*Phaseolus aborigineus* 283', 'Costa Rica 1031' and 'Cornell 49-242' were employed to identify the 107 isolates tested. These were considered to belong to races BA-1 and BA-2 from the alpha group; BA-4 and BA-5 from the Brazilian I group; and, BA-10 from the delta group. The races most frequently found were BA-1 and BA-5. The cultivar 'Cornell 49-242' was practically immune to all of the isolates. In one county till 5 races were found at the same place. Additionally, in one case, 2 races were found on the same pod. These findings demonstrate the high variability of the pathogen in the regions surveyed.

6. LITERATURA CITADA

1. FOUILLOUX, G.L. 'anthracnose du haricot (*Colletotrichum lindemuthianum* Sacc. et Magn.): Nouvelles sources de resistance et nouvelles races physiologiques. *Ann. Amélior de Plantes*, 26(3):443-453, 1976.
2. KRUGER, J., HOFFMANN, G.M. & HUBBELING, N. The kappa race of *Colletotrichum lindemuthianum* and sources of resistance to anthracnose in *Phaseolus* beans. *Euphytica*, 26(2):23-24, 1977.
3. LAEKEY, C.L.A. & SIMBWA-BUNNYA, M. Races of *Colletotrichum lindemuthianum* and implications for bean breeding in Uganda. *Ann. of Appl. Biol.* 70(1):25-35, 1972.
4. MATHUR, R.S., BARNETTE, H.L. & LILLY, V.G. Sporulation of *Colletotrichum lindemuthianum* in culture. *Phytopathology*, 40(1):104-114, 1950.
5. OLIARI, L., VIEIRA, C. & WILKINSON, R.E. Physiologic races of *Colletotrichum lindemuthianum* in the state of Minas Gerais, Brazil. *Plant Disease Reporter*, 57(10):870-872, 1973.

6. PIO-RIBEIRO, G. & CHAVES, G.M. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. que ocorrem em alguns municípios de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro. *Experientiae*, 19(6):95-118, 1975.
7. PIO-RIBEIRO, G. & CHAVES, G.M. Estudo sobre a variabilidade de isolamento e culturas monospóricas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. *Experientiae*, 19(4):1-71, 1975.