

Levantamento de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* em variedades crioulas de feijão

Survey of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates in Creole varieties of beans

RESUMO

O feijão possui adaptabilidade a diferentes ambientes e, esta característica o torna mais suscetível a doenças. Com destaque principal a antracnose, doença causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. O trabalho teve como objetivo obter isolados de *C. lindemuthianum* de variedades crioulas para o desenvolvimento de feijão com intuito de identificação de raças do patógeno e busca de fontes de resistência ao mesmo. As variedades de feijão utilizadas foram: Galha MST, Iapar 40, Carioca Vermelho, Carijó, Pombinha, Mulatinha, Pardinho Mineiro, Crioulo Vermelho, Quero-Quero, Mourinho e Chumbinho Lustroso. A metodologia utilizada para encontrar o fungo foi o de incubação das sementes em rolos de papel, cada um com 50 sementes, totalizando 200 sementes de cada variedade. Após, foi realizada análise visual e quando observada a presença de manchas marrom-pardas foi feita a retirada do cotilédone e, em seguida o isolamento para obter colônias puras do patógeno. Foram obtidos 91 isolados de *C. lindemuthianum*. As variedades crioulas Galha MST, Crioulo Vermelho, Mulatinho, Pardinho Mineiro e Quero-Quero apresentaram maior incidência do fungo *C. lindemuthianum*.

PALAVRAS-CHAVE: Antracnose, *Phaseolus vulgaris*, Sementes.

ABSTRACT

The bean has adaptability to different environments and this characteristic makes it more susceptible to diseases. The main highlight is anthracnose, a disease caused by the fungus *Colletotrichum lindemuthianum*. The objective of this work was to obtain isolates of *C. lindemuthianum* from Creole varieties for the development of beans in order to identify breeds of the pathogen and search for sources of resistance to it. The varieties of beans used were: Galha MST, Iapar 40, Carioca Vermelho, Carijó, Pombinha, Mulatinha, Pardinho Mineiro, Crioulo Vermelho, Quero-Quero, Mourinho and Chumbinho Lustroso. The methodology used to find the fungus was to incubate the seeds in rolls of paper, each with 50 seeds, totaling 200 seeds of each variety. Afterwards, a visual analysis was performed and when the presence of brown-brown spots was observed, the cotyledon was removed and then isolated to obtain pure colonies of the pathogen. 91 isolates of *C. lindemuthianum* were obtained. The Creole varieties Galha MST, Crioulo Vermelho, Mulatinho, Pardinho Mineiro and Quero-Quero had a higher incidence of the fungus *C. lindemuthianum*.

KEYWORDS: Anthracnose, *Phaseolus vulgaris*, Seeds

Lucas Gabriel da Silva
lucassilva.1999@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Maristela dos Santos Rey
maris_rey@yahoo.com.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

No Brasil a produção de feijão na safra 2018/2019 atingiu 3,05 milhões de toneladas, com previsão de que a próxima (2019/2020) supere este valor. A maior parte é destinada para o consumo interno, havendo um registro baixo de importação e exportação de feijão (CONAB,2020).

No Brasil o cultivo do feijão ocorre em três safras e atinge todo o território brasileiro. Isto significa que a cultura possui grande adaptabilidade a diversos ambientes, e com exceção da região sul, seu cultivo pode ser realizado durante o ano todo (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

Esta característica do feijão de ser cultivado em diversos ambientes proporciona a ocorrência de diversas doenças na cultura, destacando-se a antracnose, doença causada pelo fungo *C. lindemuthianum*, que pode provocar perdas de até 100% da produção, quando sua incidência se dá de forma precoce. O sintoma desta doença é o desenvolvimento de manchas marrom-pardas que depreciam o grão, afetando a qualidade e tornando-o inapropriado para o consumo. Na planta os sintomas ocorrem em todas as partes vegetativas, sendo sua identificação feita por meio da ocorrência de manchas marrom-pardas nas folhas com o escurecimento das nervuras (DALLA PRIA; SILVA, 2018).

A transmissão desta doença ocorre principalmente por meio de sementes, pois algo que é comum entre os agricultores é a utilização do mesmo germoplasma sucessivamente, não havendo muito a preocupação com a sanidade das sementes (DALLA PRIA; SILVA, 2018).

A variabilidade genética é uma característica que torna o controle do fungo *C. lindemuthianum* complexo, com mais de 50 raças diferentes, e em cada região do mundo há um grupo de raças predominante, havendo necessidade de estudos relacionados com a identificação destas e baseando-se nestes estudos, realizar a recomendação de cultivares a serem utilizadas na região. Uma das formas baratas e acessíveis de controle é o uso de cultivares resistentes, havendo a necessidade de identificação de fontes de resistência para o desenvolvimento desta tecnologia, e que seja de fácil acesso a pequenos produtores, pois estes possuem uma grande importância e representatividade na produção brasileira (MOURA *et al.*, 2016).

Seguindo esta ideia o trabalho foi desenvolvido com objetivo de obter isolados de *C. lindemuthianum* de variedades crioulas com intuito de identificação de raças do patógeno e para ser realizada a busca de fontes de resistência contra ele.

MATERIAL E MÉTODOS

O desenvolvimento do experimento ocorreu nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *Campus* Dois Vizinhos.

As sementes foram obtidas de ensaios de VCU (Valor de Uso e Cultivo) realizados em campos experimentais na UTFPR, *Campus* Dois Vizinhos. As variedades de feijão utilizadas foram: Galha MST, Iapar 40, Carioca Vermelho, Carijó, Pombinha, Mulatinha, Pardinha Mineiro, Crioulo Vermelho, Quero-Quero, Mourinho e Chumbinho Lustroso.

A metodologia utilizada para a obtenção dos isolados de *C. lindemuthianum* foi a descrita no Manual de Análise Sanitária de Sementes (BRASIL,2009). Ela consiste na incubação das sementes em rolo de papel. Foram utilizadas 200 sementes de cada VCU, sendo divididas em grupos de 50 sementes que foram depositadas sobre duas folhas de papel de germinação, esterilizadas previamente umedecidas com água estéril. Uma terceira folha foi utilizada para a cobertura e fechamento dos rolos de papel. A desinfestação das sementes foi realizada em hipoclorito de sódio a 1% (1% de cloro ativo) por 3 minutos e para tirar o excesso foi feita a lavagem com água destilada esterilizada.

Após os rolos foram colocados em sacos de polietileno com uma abertura em seu topo e depositados na vertical em câmaras de incubação no escuro em temperatura de 20 °C, por 7 dias.

No final da incubação, os rolos foram desfeitos e retirados o tegumento e os cotilédones foram examinados visualmente, buscando por lesões necróticas circulares com aspecto deprimido de coloração pardo-escura.

Os cotilédones obtidos foram desinfestados com hipoclorito de sódio a 1% por 1 minuto e em seguida, lavados em água destilada estéril, para em seguida serem imersos em etanol a 70% por 1 minuto, com posterior imersão em água destilada estéril para retirar o excesso das substâncias químicas.

O próximo passo foi transferir os cotilédones com a presença dos sintomas, para placas de Petri esterilizadas contendo meio de cultura ágar-água e em seguida as mesmas foram colocadas em B.O.D, por 7 dias, em temperatura de 20 °C para o desenvolvimento do patógeno. Após esse período, foi realizada a seleção dos cotilédones onde ocorreram o desenvolvimento do *C. lindemuthianum* e feita a repicagem para placas de Petri esterilizadas contendo o meio de cultura Mathur, as quais foram incubadas em B.O.D nas mesmas condições anteriores. Após este período foram quantificados isolados obtidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da quantidade de isolados obtidos e sua origem estão expressos na Tabela 1.

As variedades crioulas que apresentaram maior incidência do *C. lindemuthianum* foram: Galha MST com 25 isolados, Crioulo Vermelho com 20, mulatinho com 10, Pardinho Mineiro e Quero-Quero 8, no restante o número de isolados variaram entre 2 e 5. As variedades crioulas Galha MST, Crioulo Vermelho, Mulatinho, Pardinho Mineiro e Quero-Quero apresentaram a maior incidência do fungo.

Em estudo realizado por Costa *et al.* (2015), com 23 variedades tradicionais (crioulas), foi realizada nestas a inoculação da suspensão de esporos de *C. lindemuthiaum* das raças 65, 73, 77, 81 e 1609, e avaliada a reação de resistência. Apresentaram resistência contra estas raças 19 variedades, encontrando entre elas as variedades Mourinho e crioulo Vermelho, indicando que ambas podem apresentar fontes de resistência horizontal a diferentes raças. A busca por genes de resistência em variedades crioulas é interessante para programas de melhoramento genético por cauda da variabilidade genética, havendo além disso,

genes que ajudam na adaptabilidade em ambientes contra estresses bióticos, por haver a mistura de genótipos entre as variedades.

Tabela 1 – isolados de *C. lindemuthianum* e variedades de feijão das quais foram obtidos.

Origem	Quantidade
Galha MST	25
Iapar 40	5
Carioca Vermelho	5
Carijó	3
Pombinho	3
Mulatinho	10
Pardinho Mineiro	8
Crioulo Vermelho	20
Quero-Quero	8
Mourinho	2
Chumbinho Lustroso	2
Total	91

Fonte: Autoria própria, 2020.

Campos *et al.* (2009) em trabalho desenvolvido com a indução de resistência do feijoeiro-comum, comprovou que a inoculação da raça delta avirulenta de *C. lindemuthianum*, ativa enzimas na planta, que diminuem a severidade da antracnose. Isto demonstra a importância da identificação de raças avirulentas, pois podem ser utilizadas para o biocontrole da doença.

Os métodos de detecção de *C. lindemuthianum* em sementes de feijão estão mais eficientes e com maior acurácia, sendo os métodos como *blotter test* e rolo de papel complementados, pelo método de PCR (Reação em cadeia da polimerase). No trabalho desenvolvido por Gadaga (2017), com as técnicas de PCR convencional e em tempo real, em lotes com baixa incidência do fungo foi possível detectá-lo, sendo por meio do PCR em tempo real em incidências de 0,25% e em PCR convencional em 10%.

CONCLUSÃO

Foram obtidos 91 isolados de *C. lindemuthianum* pelo método de rolo de papel, demonstrando ser uma alternativa eficiente para a obtenção do fungo.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à Fundação Araucária pelo fornecimento da bolsa para o desenvolvimento do projeto.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, F.R.; GONZAGA, A.C.O.; **Informações técnicas para o cultivo de feijão-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás/GO: Embrapa Arroz e Feijão. 2012, 247 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 272). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/61388/1/seriedocumentos-272.pdf>. Acesso em: 25/08/2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Análise Sanitária de Sementes. Brasília: MAPA, 2009. Disponível em: <https://www.abrates.org.br/files/manual-de-analise-sanitaria-de-sementes.pdf>. Acesso em: 25/08/2020

CAMPOS, A.D.; HAMPE, M.M.V.; FERREIRA, A.G.; ANTUNES, I.F.; CASTRO, L.A.S. Indução de resistência sistêmica antracnose em feijoeiro-comum pela raça delta avirulenta de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44 n. 1, p.15-21, jan.2009. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2009000100003&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 05/10/2020.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento da safra brasileira de grãos – Décimo primeiro levantamento, Brasília, 62p. ago. 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 25/08/2020.

COSTA, J.G.C.; WENDLAND, A.; ABREU, A.G.; OLIVEIRA, J.P.; ABREU, B.S. **Variedades tradicionais de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*), coletadas na região Norte do estado do Rio Grande do Sul, resistentes à Antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*)**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2015.13 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 41). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/134739/1/CNPAF-2015bpd41.pdf> acessado em: 05/10/2020.

DALLA PRIA, M.; SILVA, O.L.C. **Cultura do feijão: doenças e controle**. 1 ed. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2018, 453 p.

MOURA, A.R.; POLETINE, J.P.; SAPIA, J.G.; AUGUSTO, J.; BORAZIO, R.F.; COSTA, A.R. Variabilidade fisiológica de *Colletotrichum lindemuthianum* na cultura do feijoeiro comum em municípios do centro oeste paranaense **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.5, n.1, p.46-59, 2016. Disponível em: <http://www.dca.uem.br/V5N1/005.pdf>. Acesso em: 25/08/2020.

GADAGA, S.J.C. **Interação de *Colletotrichum lindemuthianum* com o feijoeiro a detecção do patógeno em sementes por PCR**. 2017. 72 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. Disponível em: http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/15599/2/TESE_Intera%C3%A7%C3%A3o%20de%20Colletotrichum%20lindemuthianum%20com%20o%20feijoeiro%20e%20a%20detec%C3%A7%C3%A3o%20do%20pat%C3%B3geno%20em%20sementes%20por%20PCR.pdf. Acesso em:05/10/2020.