

DYANA DE ALBUQUERQUE TENÓRIO

**DIVERSIDADE GENÉTICA E PATOGÊNICA DE *Rhizoctonia solani* DO
FEIJOEIRO NO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO**

**RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2011**

DYANA DE ALBUQUERQUE TENÓRIO

**DIVERSIDADE GENÉTICA E PATOGÊNICA DE *Rhizoctonia solani* DO
FEIJOEIRO NO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Souza Lima (UAG/UFRPE)

Co-orientador: Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (DEPA/UFRPE)

Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (DEPA/UFRPE)

**RECIFE - PE
FEVEREIRO – 2011**

**DIVERSIDADE GENÉTICA E PATOGÊNICA DE *Rhizoctonia solani* DO
FEIJOEIRO NO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO**

DYANA DE ALBUQUERQUE TENÓRIO

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em 24.02.2011

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Cristiano Souza Lima (UAG/UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof^a. Dr^a. Sônia Maria Alves de Oliveira (UFRPE)

Prof. Dr. Delson Laranjeira (UFRPE)

Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima (UFAL)

**RECIFE – PE
FEVEREIRO – 2011**

Aos meus amados pais, Evandro Bonfim Tenório e Maria Quitéria Soares de Albuquerque, pela dedicação sem igual e esforços sem limites

Ao meu noivo, João Henrique pelo companheirismo, incentivo, compreensão e amor acima de tudo.

OFEREÇO

Ao meu irmão, Davy de Albuquerque Tenório pelo carinho

Aos meus familiares, pela ajuda e força

Aos meus avôs, José Soares (*in memorian*) e Nair Bonfim Tenório (*in memorian*). Sei que não foi possível vocês estarem presentes na minha formatura e em mais essa etapa de minha vida, mas tenho consciência do orgulho que sentiram de mim. Um dia lhes falarei como me fizeram falta.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, pela força para superar mais essa etapa de minha vida.

Ao meu orientador, **Cristiano Souza Lima**, pela sempre segura orientação, paciência, por todo o apoio oferecido durante a realização do curso e pela amizade e incentivo.

À minha segunda família “Fitopatologista”, **Cristiane, Leilson, Larissa, Amanda, Jeferson, Frederick, Marcelo, Liliane, Emmanuelle, Karine, Marília, Nelson e Paulo César** pela convivência e amizade.

A **Gaus Silvestre e Iraídes Assunção**, responsáveis pelo meu ingresso na carreira científica e na Fitopatologia, me fornecendo ensinamentos práticos, absolutamente úteis na continuidade de minha carreira.

Aos professores e funcionários do **Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia** que contribuíram na minha formação e sempre estiveram prontos a ajudar no que fosse necessário.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Pernambuco (FACEPE)**, pela bolsa de estudos durante o mestrado.

Agradeço a toda equipe que compõe o **Laboratório de Fitopatologia Molecular da Universidade Federal de Alagoas (UFAL)**, pela concessão do material para análise e apoio à realização do trabalho.

À **Gabriela Couto, Juliana Carnaúba e Isabel** pelo carinho.

Aos meus grandes amigos **Douglas, Roberta, Erico, Aline, Isaura, Neolan, Keido e Sâmara**.

Um agradecimento especial a **Maruzanete**, pela ajuda na execução deste trabalho, não sei o que teria sido de mim sem sua ajuda, presteza e amizade.

Aos companheiros do Laboratório de Sistemática e Biologia de Fungos Fitopatogênicos **Emanuel Henrique, Manuel e Ewerton** pelo convívio e apoio na realização dos trabalhos.

Aos avaliadores, **Dr. Gaus Silvestre, Dr. Delson Laranjeira e Dr^a. Sônia Maria Alves de Oliveira** pelas contribuições para a melhoria deste trabalho.

Finalmente, a todos que de uma forma ou de outra, participaram de todos os momentos vividos nessa jornada, minha eterna gratidão.

Meu Muito Obrigado a Todos

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	v
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
CAPÍTULO I – Introdução Geral.....	1
1. Introdução geral.....	2
1.1. Aspectos gerais da cultura do feijoeiro (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	2
1.2. <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn.....	3
1.3. Diversidade genética e identificação dos grupos de anastomose.....	4
1.4. Importância da rizoctoniose em feijoeiro.....	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	7
CAPÍTULO II – Diversidade genética e patogênica de <i>Rhizoctonia solani</i> do feijoeiro no Agreste Meridional de Pernambuco.....	13
Resumo.....	14
Abstract.....	15
Introdução.....	16
Materiais e Métodos.....	17
Resultados e Discussão.....	21
Agradecimentos.....	25
Referências Bibliográficas.....	25
CONCLUSÃO GERAL.....	35

RESUMO

Rhizoctonia solani apresenta vasta gama de hospedeiros e causa uma das principais doenças do feijoeiro, conhecida como rizoctoniose, mela ou murcha da teia micélica. Este estudo objetivou caracterizar a diversidade genética e patogênica de isolados de *R. solani* de plantas de feijão-caupi e feijão-comum com sintomas de rizoctoniose, coletados em áreas de produção no Agreste Meridional de Pernambuco. Foram avaliadas a morfologia e a patogenicidade dos isolados de *R. solani*. Foi realizada a caracterização genética utilizando seqüências gênicas da região ITS do rDNA e inferidos os grupos de anastomose. Dentre os 57 isolados de *R. solani* incluídos no estudo a maioria apresentou colônias de cor inicialmente branca, que tornavam-se marrom ou bege com o envelhecimento da colônia. A formação de microsclerócios somente foi observada após 15 dias. A taxa de crescimento micelial variou entre 1,7 e 3,6 (cm.dia⁻¹). Na análise filogenética na qual utilizou-se a região ITS do rDNA a maior parte dos isolados de feijão-caupi e feijão-comum agrupou no grupo de anastomose AG4 HG-I e um isolado de feijão-caupi no grupo AG2-2 IIIB. Todos os isolados foram patogênicos ao feijão-caupi cultivar IPA-207, com níveis de severidade entre 40 e 92,8%. Portanto, no Agreste Meridional a rizoctoniose do feijão-caupi e do feijão-comum é causada principalmente pelo grupo AG4 HG-I de *R. solani*.

Palavras-chave: Rizoctoniose, *Vigna unguiculata*, *Phaseolus vulgaris*, grupo de anastomose.

ABSTRACT

Rhizoctonia solani causes diseases on a range of hosts and one of the most important diseases on common bean and cowpea, known in Brazil as "rizoctioniose", "mela" or "murcha da teia micélica". This study aimed to characterize the genetic and pathogenic diversity of *R. solani* isolates obtained from common bean and cowpea with "rizoctioniose" symptoms in the Agreste Meridional of Pernambuco. Isolates of *R. solani* were evaluated regarding anastomosis groups (inferred from ITS rDNA phylogeny), morphology and pathogenicity. The genetic diversity was evaluated through the use of sequences of the ITS region of the rDNA. Fifty-seven isolates of *R. solani* were obtained from common bean and cowpea production areas. Colonies of the fungus isolated were initially white, becoming brown or beige with age. The production of microsclerotia was observed only after 15 days of incubation. The growth rate of colonies ranged from 1.7 to 3.6 cm.day⁻¹. In the phylogeny using ITS rDNA the majority of isolates from common bean and cowpea grouped together in the AG4 HG-I and one of cowpea grouped in AG2-2 IIIB. All isolates were pathogenic to cowpea IPA-207 cultivar, showing severity levels from 40 to 92.8%. Thus, in the Agreste Meridional of Pernambuco, the "rizoctioniose" of cowpea and common bean is caused mainly by *Rhizoctonia solani* AG4 HG-I.

Key words: Rizoctioniose, *Vigna unguiculata*, *Phaseolus vulgaris*, anastomosis groups.

CAPÍTULO I

Introdução Geral

DIVERSIDADE GENÉTICA E PATOGÊNICA DE *Rhizoctonia solani* DO FEIJOEIRO NO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO

INTRODUÇÃO GERAL

1.1- Aspectos gerais da cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)

A cultura do feijoeiro é cultivada, praticamente em todo território nacional com um rendimento médio de 904 kg ha⁻¹ (CONAB, 2010). A produção de feijão no país, na safra de 2008/2009, ultrapassou 3,5 milhões de toneladas em uma área plantada total de 4 milhões de hectares, valores referentes à soma das três épocas de plantio (CONAB, 2009). No Brasil, são produzidas anualmente mais de três milhões de toneladas de feijão e atualmente é o país de maior produção.

Na região Nordeste, o feijão-comum é cultivado em maior escala nos estados da Bahia, Sergipe, Alagoas e Pernambuco. O Nordeste como um todo cultiva os dois tipos de feijões, comum e caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], variando a proporção de estado para estado, na dependência do clima, ou pela temperatura ou por intensificação da escassez das chuvas. Desse modo, a Bahia e o Sergipe cultivam, em sua maioria, o feijão-comum e essa situação vai se invertendo de modo que a partir do Ceará quase todo o feijão produzido é representado pelo caupi. Em Pernambuco, historicamente, a produção de cerca de 300 mil hectares era representada por 150 mil hectares para cada espécie. Porém acredita-se que o feijão-caupi esteja em expansão em área produzida em detrimento do feijão-comum (COSTA, 2007).

Diversos fatores têm contribuído negativamente para o baixo rendimento do feijão-comum registrado no Nordeste do Brasil, entre eles: uso de cultivares pouco adaptadas aos diversos sistemas de produção, baixa utilização de sementes certificadas, cultivo em sistema de consórcio, manejo inadequado da cultura, deficiência hídrica no florescimento ou na fase de enchimento de grãos, pragas e doenças. (CARVALHO et al., 2005; WARWICK et al., 2005).

Entre as doenças de maior severidade nesta cultura destacam-se a antracnose [*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib.], mancha-angular [*Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun] (PEREIRA, 2007; INDEX FUNGORUM, 2011), ferrugem [*Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger], murcha-de-

Fusarium [*Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder], mofo-branco [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary], rizoctoniose [*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk], causadas por fungo, crestamento-bacteriano (*Xanthomonas axonopodis*) causada por bactéria e mosaico-comum (potyvirus) e mosaico-dourado (geminivirus) causadas por vírus (PAULA JÚNIOR; ZAMBOLIM, 2006).

1.2- *Rhizoctonia solani* Kühn

O gênero *Rhizoctonia* foi descrito pela primeira vez pelo micologista francês De Candolle, em 1815, como sendo um fungo não esporulante que ataca, preferencialmente, raízes. Sobrevivendo como esclerócios ou hifas espessadas nas plantas, ou podendo permanecer no solo, servindo de inóculo primário para culturas subseqüentes (CARDOSO, 1981). O micélio é caracterizado pela ramificação em ângulo reto com septação imediatamente e após o ramo, constrição na base da ramificação e septo doliporo (ANDERSON, 1982; ADAMS, 1988).

O gênero *Rhizoctonia* divide-se em espécies com hifas binucleadas como *R. callae* E. Castell, *R. cerealis* Van Der Hoeven, *R. endophytica* Saksena & Vaartaja, *R. fragariae* S. Husain & W. E. McKeen, *R. fumigata* S. Gunnell & R.K. ebster, *R. ramicola* W.A. Weber & D.A. Roberts, *R. oryzae-sativae* Sawada, *R. repens* Bernard e *R. anaticula* Currah, e espécies com hifas multinucleadas como *R. zae* Voorhees, *R. oryzae* Ryker e *R. solani* Kuhn, sendo a última considerada a espécie mais importante como fitopatógeno (SNEH et al., 1991).

O fungo *R. solani* tem como forma sexuada *T. cucumeris*, pertencente ao Filo Basidiomycota. A fase anamórfica ou estágio assexual, *R. solani*, ocorre mundialmente causando doenças em uma ampla variedade de plantas cultivadas (SNEH et al., 1991). Nas condições do trópico úmido e em algumas regiões do semi-árido, a combinação de temperatura e umidade relativa elevada favorece o desenvolvimento da doença que, em consequência, diminui a produtividade da cultura (SARTORATO, et al., 2006).

No Brasil, *R. solani* foi relatada causando doenças em pimentão (*Capsicum annuum* L.) (ALMEIDA et al., 1980), seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) (TANAKA; COQUEIRO, 1981), soja [*Glycine max* (L.) Merr.] (MEYER; YORINORI, 1999), amendoim (*Arachis hypogea* L.) (KURAMAE et al., 2002), feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) (GODOY-LUTZ et al., 2003; KURAMAE et al., 2002), eucalipto (*Eucalyptus* spp.) (SILVEIRA et al., 2000), batata (*Solanum tuberosum* L.) e fumo (*Nicotiana tabacum* L.) (CERESINI et al., 2002), cafeeiro (*Coffea arabica* L.) (SUSSEL et al., 2001) meloeiro

(*Cucumis melo* L.) e algumas hortaliças como alface (*Lactuca sativa* L.), brócolis (*Brassica oleracea* L.), espinafre (*Spinacia oleracea* L.) e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (KURAMAE et al., 2003).

Estudos indicam que *R. solani* apresenta raças fisiológicas. Além das diferentes especificidades, são relatadas também diferenças na morfologia e na fisiologia (VIEIRA, 1983). A identificação de espécies no gênero *Rhizoctonia* pode ser feita com base na citomorfologia da hifa, morfologia da cultura, morfologia do teleomorfo, estrutura genética e padrão de anastomose ou não de hifas (SNEH et al., 1991), e por meio de comparação de seqüências nucleotídicas da região ITS do rDNA (SHARON et al., 2006).

1.3- Diversidade genética e identificação dos grupos de anastomose

Com o advento das técnicas moleculares, muitas ferramentas têm-se disponibilizado para avaliar a variação intra e interespecífica do complexo *R. solani* (CUBETA; VILGALYS, 1997). Entre estas se destaca a análise de seqüências do DNA ribossômico (rDNA) para identificar e estudar a diversidade genética entre os grupos de anastomose (AGs) de *R. solani* (KURAMAE et al., 2003; FENILLE et al., 2005).

A maior razão da popularidade do rDNA para análises filogenéticas é que este é um gene de múltiplas cópias, que não codifica proteínas, muito conservado e presente em todos os organismos, e serve como referência para estudos de divergência evolutiva. É considerado, muitas vezes, como um gene de loco simples (GUARRO et al., 1999). O fato das regiões intergênicas (ITS) serem relativamente curtas (500 a 800pb) e aparecerem em grande número de cópias no genoma permitem que sejam amplificadas e seqüenciadas com facilidade (SKOUBOE et al., 1999; LEAL-JUNIOR, 2002).

Muitos estudos têm descrito a utilidade das seqüências da região ITS do rDNA para inferências taxonômicas e filogenéticas entre diferentes AGs de *R. solani* (KURAMAE et al., 2003; FENILLE et al., 2005; SHARON et al., 2006). Várias outras características podem ser empregadas para agrupar isolados de *R. solani* em AGs e grupos intraespecíficos (ISGs), dentre estas: requerimento de vitaminas, taxa de crescimento micelial, temperatura ótima de crescimento, tipo de esclerócios produzidos e gama de hospedeiros (SNEH et al., 1991; CARLING; SUMNER, 1992).

De acordo com conceitos atuais, *R. solani* é uma espécie complexa composta por pelo menos 14 grupos: AG-1 a 13 e AG-BI (FLENTJE; STRETTON, 1994; CARLING, 2000).

Isto se deve a ocorrência de fusão de hifas (anastomose) com isolados padrões (AGs), onde isolados pertencentes ao mesmo AG têm as hifas atraídas e fundidas umas as outras, enquanto hifas de isolados de AGs diferentes não são capazes de se fundirem entre si (CARLING et al., 1988). Além de AG, o conceito de grupos intraespecíficos (ISG) baseado em evidências de reação de anastomose, patogenicidade, morfologia, permitiu a diferenciação de 23 ISG dentre os AGs de *R. solani* (CARLING, 2000).

Atualmente, para *R. solani* são relatados três ISG dentro de AG1 (IA, IB, IC), oito dentro de AG2 (2-1I, 2-1II, 2-1III, 2-2IIIB, 2-2IV, 2-2LP, 2-3 e 2-t), três dentro do AG4 (HGI, HGII, HGIII), dois dentro do AG6 (HGI e GV), cinco em AG8 (ZG1-1, ZG1-2, ZG1-3, ZG1-4 e ZG1-5) e dois no AG9 (TP e TX) (KUNINAGA; CARLING, 2000; MACNISH; O'BRIEN, 2000).

O grupo AG1 engloba patógenos importantes, onde os hospedeiros desse grupo são principalmente leguminosas e gramíneas (CARLING; SUMNER, 1992). No Brasil, o AG-1IA está associado a mela da soja (*T. cucumeris*) (FENILLE et al., 2002). O grupo AG2, é subdividido com base na patogenicidade, no requerimento de vitaminas e na análise de seqüências do rDNA. AG4, chamado de "praticola type" é baseado na identidade de seqüências da região do rDNA (KUNINAGA; YOKOSAWA, 1984). O grupo AG6 compreende isolados não patogênicos e ocorrem no Japão (KUNINAGA et al., 1979). O grupo AG8 compreende patógenos de solo, causando "bare patch" em cereais (NEATE; WARCUP, 1985) e podridão de raiz de batata (CARLING; LEINER, 1990). O AG9 ocorre no Alaska e Oregon e é considerado um grupo de patógenos fracos de solo, que pode atacar batata, couve-flor (*Brassica oleracea* L.) e linho (*Linum usitatissimum* L.) (CARLING et al., 1987).

O conhecimento sobre a estrutura das populações de fitopatógenos é útil no desenvolvimento de estratégias de manejo de doenças de plantas. Do ponto de vista evolutivo, a diversidade genética das populações é importante por determinar o potencial de adaptação do organismo às condições adversas. Do ponto de vista epidemiológico, a diversidade patogênica tem implicações diretas no manejo da doença (MILGROOM, 2001; MCDONALD; LINDE, 2002). A combinação de seleção e deriva genética, migração e mutação, definem a estrutura genética e a diversidade de todas as populações patogênicas. O papel relativo de cada um destes fatores pode variar intensamente entre diferentes associações planta/patógenos, entre os estádios do ciclo epidemiológico, e entre associações em ecossistemas naturais e agrícolas (BURDON; SILK, 1997; MCDONALD; LINDE, 2002).

1.4- Importância da rizoctoniose em feijoeiro

A rizoctoniose, também conhecida como mela ou murcha da teia-micélica, incitada pelo fungo *R. solani* é um dos patógenos radiculares mais comuns e de maior importância (CARDOSO, 1990). Sendo considerada uma das doenças mais destrutivas no Nordeste brasileiro, sobretudo na fase de germinação e emergência (COELHO, 2001; ATHAYDE SOBRINHO et al., 2005). Deslandes (1994), já listava a rizoctoniose como grave entrave a cultura do feijoeiro comum e do caupi.

O principal sintoma induzido por *R. solani* é caracterizado pela rápida maceração dos tecidos localizados abaixo do nível do solo, quase sempre concomitantemente à emergência do feijoeiro. Os danos que a doença causa a planta são: tombamento da plântula, cancro do talo, podridão radicular, podridão da vagem, atraso na emergência e no desenvolvimento da planta (BIANCHINI et al., 1997). O controle da doença em solos infestados é extremamente difícil e antieconômico, e pode inviabilizar a exploração econômica do feijoeiro (CARDOSO, 1990).

Estudos realizados principalmente em outros países têm mostrado que este fungo apresenta grande diversidade genética (TEWOLDEMEDHIN et al., 2006; CIAMPI et al., 2008). Na maior parte deles esta variabilidade é evidenciada pela comparação de seqüências nucleotídicas da região ITS do rDNA que mostra certa correlação com os grupos de anastomose (KUNINAGA et al., 1997; GONZÁLEZ et al., 2006; SHARON et al., 2006).

Apesar da relevância social e econômica da rizoctoniose para a cultura do feijoeiro no estado de Pernambuco, até o momento não se tem dados suficientes sobre a doença em campo e seu impacto na produção, tampouco a caracterização de isolados de *R. solani* que ocorrem nesse estado. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a diversidade genética e patogênica de populações de *Rhizoctonia solani*, agente causal da rizoctoniose do feijão-comum e do feijão-caupi.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G. C. *Thanatephorus cucumeris (Rhizoctonia solani)*, a species complex of wide host range. **Advances in Plant Pathology**, London, v. 6, p. 535-552, 1988.

ALMEIDA, O. C.; ROBBS, C. F.; AKIBA, F.; KIMURA, O. Enfermidade nova em pimentão causada por *Rhizoctonia solani* Kühn no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, p. 7-10, 1980.

ANDERSON, N. A. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 20, p. 329-74, 1982.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F. M. P.; SANTOS, A. A. Doenças fúngicas e bacterianas. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (Eds.), **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, p. 461-484.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M., BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. Ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 376-399.

BURDON, J. J.; SILK, J. Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, p. 665-669, 1997.

CARDOSO, J. E. **Avanços na pesquisa sobre a mela do feijoeiro no estado do Acre**. Rio Branco: EMBRAPA – UEPAE, 1981. 29 p. (Boletim de Pesquisa, 1).

CARDOSO, J. E. **Doenças do feijoeiro causadas por patógenos de solo**. Goiânia: Embrapa-CNPAF, 1990. 30 p. (Documentos, 30).

CARLING, D. E.; LEINER, R. H.; KLEBER, K. M. Characterization of a new anastomosis group (AG-9) of *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, Brasília, v. 77, p. 1609-1612, 1987.

CARLING, D. E.; KUNINAGA, S.; LEINER, R. H. Relatedness within and among intraspecific groups of *Rhizoctonia solani*: A comparison of grouping by anastomosis and by DNA hybridization. **Phytoparasitica**, Jerusalém, v. 16, p. 209-210, 1988.

CARLING, D. E. Anastomosis group and subsets of anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RHIZOCTONIA, 3., 2000. Taichung. **Abstract...** Taichung: ISR, 2000. p. 14.

CARLING, D. E.; LEINER, R. H. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* and other *Rhizoctonia* on potato. **Phytopathology**, Brasília, v. 80, p. 930-934, 1990.

CARLING, D. E.; SUMNER D. R. *Rhizoctonia*. In: SINGLETON, L. L.; MIHAIL, J. D.; RUSH, C. M. (eds.). **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. St. Paul: American Phytopathological Society, St Paul, p.157-65, 1992.

CARVALHO, H. W. L. de; WARWICK, D. R. N.; PELOSO, M. J del; FARIA, L. C. de; MELO, L. C.; COSTA, J. G.da. Estabilidade de linhagens avançadas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), do grupo comercial carioca, no biênio 2001/2002, no Estado de Sergipe. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO – CONAFE, 7., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão. 2005. p. 433-436.

CERESINI, P. C.; SHEW, H. D.; VILGALYS, R. J.; CUBETA, M. A. Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* AG-3 from potato and tobacco in North Carolina. **Mycologia**, Lancaster, v. 94, p. 437-449, 2002.

CIAMPI M. B.; MEYER, M. C.; COSTA, M. J. N.; ZALA, M.; MCDONALD, B. A.; CERESINI, P. C. Genetic structure of populations of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-1 IA from soybean in Brazil. **Phytopathology**, Brasília, v. 98, p. 932-941, 2008.

COELHO, R. S. B. Doenças fúngicas do caupi. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DO CAUPI, 5., 2001. Teresina. **Anais...** Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2001. p. 321-322. (Documentos, 56).

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. 2009. Disponível em: < http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/9graos_09.08.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2009/2010. 2010. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb>>. Acesso em: 21 abr. 2010.

COSTA, F. A. da. Desafios no controle de doenças na cultura do feijoeiro, nas regiões Norte e Nordeste. In: Seminário sobre Pragas, Doenças e Plantas Daninhas do Feijoeiro, 6., 2007, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo, 2007. p. 11-14. (Documentos IAC, 79).

CUBETA, M. A.; VILGAYS, R. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, p. 480-484, 1997.

DESLANDES, J. A. **Observações fitopatológicas na Amazônia**. Rio de Janeiro: Boletim Fitossanitário, 1994. v. 1, 197-242 p.

FENILLE, R. C.; SOUZA, N. L.; KURAMAE, E. E. Characterization of *Rhizoctonia solani* associated with soybean in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 108, p. 783-792, 2002.

FENILLE, R. C.; CIAMPI, M. B.; SOUZA, N. L.; NAKATANI, A. K.; KURAMAE, E. E. Binucleate *Rhizoctonia* sp. AG causing root rot in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in Brazil. **Plant Pathology**, St. Paul, v. 54, p. 325-330, 2005.

FLENTJE, N. T.; STRETTON, H. M. Mechanisms of variation in *Thanatephorus cucumeris* and *T. praticola*. **Australian Journal Biological Science**, Sydney, v.17, p. 686-704, 1994.

GODOY-LUTZ, G.; STEADMAN, J. R.; HIGGINS, B.; POWERS, K. Genetic variation among isolates of the web blight pathogen of common bean based on PCR-RFLP of the ITS-rDNA region. **Plant Disease**, St. Paul, v. 87, n. 7, p. 766-771, 2003.

GONZÁLEZ, D.; CUBETA, M.A.; VILGALYS, R. Phylogenetic utility of indels within ribosomal DNA and β -tubulin sequences from fungi in the *Rhizoctonia solani* species complex. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.40, p. 459-470, 2006.

GUARRO, J.; GENE, J.; STCHIGEL A. M. **Development in fungal taxonomy**. Clinical Microbiology Reviews, Washington, v. 12, p. 454-500, 1999.

INDEX FUNGORUM, 2011. <http://www.indexfungorum.org/>. Acesso em: 12 abr. 2011.

KUNINAGA, S.; YOKOSAWA, R.; OGOSHI, A. Some properties of anastomosis group 6 and BI in *Rhizoctonia solani* Kühn. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, Tokyo, v. 45, p. 207-217, 1979.

KUNINAGA, S.; NATSUAKI, T.; TAKEUCHI, T.; YOKOSAWA, R. Sequence variation of the rDNA ITS regions within and between anastomosis groups in *Rhizoctonia solani*. **Current Genetics**, New York, v. 32, p. 237-243, 1997.

KUNINAGA, S., CARLING, D. E. Comparison of isolates of *Rhizoctonia solani* AG-2 and AG-BI based on anastomosis reactions, rDNA sequence analysis and pathogenic potential. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RHIZOCTONIA, 3., 2000, Taichung. **Abstract...** 2000.

KUNINAGA, S.; YOKOSAWA, R. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kühn. IV. Genetic relatedness within AG-4. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, Tokyo, v. 50, p. 322-330, 1984.

KURAMAE, E. E.; NOZAKI, D. N.; FENILLE, R. C.; CERESINI, P. C.; SOUZA, N. L. Elemento extracromossomal dsRNA em *Rhizoctonia* AG4 HGI e AG2-2 IIIB e *Rhizoctonia* spp. binucleada associados às culturas de feijão e amendoim. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, p. 52-57, 2002.

KURAMAE, E. E.; BUZETO, A. L.; CIAMPI, M. B.; SOUZA, N. L. Identification of *Rhizoctonia solani* AG 1-IB in lettuce, AG 4 HG-I in tomato and melon, and AG 4 HG-III in broccoli and spinach, in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 109, n. 4, p. 391-395, 2003.

LEAL-JUNIOR, G. A. **Diagnóstico de *Crinipellis pernicios***, em tecidos de *Theobroma cacao* e caracterização molecular e serológica de isolados coletados de vários hospedeiros. 2002, 136 f. Dissertação (Mestrado em Energia Nuclear na Agricultura) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MAcNISH, G. C.; O'BRIEN, P. A. RAPD-PCR used to support concept of sub-populations with *Rhizoctonia solani* AG-8. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RHIZOCTONIA, 3., 2000, Taichung. **Abstract...** Taichung: International Symposium on *Rhizoctonia*, 2000. p. 41.

MCDONALD, B. A.; LINDE, C. Pathogen population genetics, evolutionary potential and durable resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, p. 349-379, 2002.

MELCHIOR, H. A. **Engler's syllabus der pflanzenfamilien**. 12. ed. Berlin: Gebrüder Bornträger, 1964. 666 p.

MEYER, M. C.; YORINORI, J. T. Incidência de doenças da soja em regiões tropicais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 1999. p. 457. (Documentos, 124).

- MILGROOM, M. C. The synthesis of genetics and epidemiology contributions of population biology in plant pathology. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 83, p. 57-62, 2001. Suplemento Especial.
- NEATE, S. M.; WARCUP, J. H. Anastomosis grouping of some isolates of *Thanatephorus cucumeris* from agricultural soils in South Australia. **Trans. Br. Mycologia, Soc.**, v. 85, p. 615-620, 1985.
- PAULA JÚNIOR, T. J. de; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; BORÉM, A. (Org.). **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. v. 1, p. 359-414.
- PEREIRA, O. L. *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & Braun: novo nome para o agente causal da mancha angular do feijoeiro. Brasília-DF: Editora da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. 4 p. (Informativo Notícias Fitopatológicas, 31).
- SARTORATO, A.; NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Diversidade genética de isolados de *Rhizoctonia solani* coletados em feijão-caupi no estado de Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, 2006.
- SHARON, M.; KUNINAGA, S.; HYAKUMACHI, M.; SNEH, B. The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. **Mycoscience**, v. 47, p. 299-316, 2006.
- SILVEIRA, S. F.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; SUTTON, J. C. Characterization of *Rhizoctonia* species associated with foliar necrosis and leaf scorch of clonally-propagated *Eucalyptus* in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 106, p. 27-36, 2000.
- SKOUBOE, P.; FRISVAD, J. C.; TAYLOR J. W.; LAURITSEN, D.; BOYSEN, M.; ROSSEN, L. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences from the ITS region of *terverticillate* *Penicillium* species. **Mycological Research**, Cambridge, v. 103, p. 873-881, 1999.
- SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of *Rhizoctonia* species**. Saint Paul: American Phytopathological Society, St. Paul, p. 133, 1991.
- SUSSEL, A. A. B.; FENILLE, R. C.; KURAMAE, E. E.; SOUZA, N. L. Caracterização de *Rhizoctonia solani*, agente etiológico do tombamento de mudas de café. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 27, n. 4, p. 348-352, 2001.

TANAKA, M. A. S.; COQUEIRO, G. R. *Thanatephorus cucumeris* (*Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers) em viveiros de seringueira em Felixlândia. **Fitopatologia Brasileira**, Minas Gerais, v. 6, p. 123-125, 1981.

TEWOLDEMEDHIN, Y. T.; LAMPRECHT, S. C.; MCLEOD, A.; MAZZOLA, M. Characterization of *Rhizoctonia* spp. recovered from crop plants used in rotational cropping systems in the Western Cape province of South Africa. **Plant Disease**, St. Paul, v. 90, p. 1399-1406, 2006.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: Imprensa Universitária UFV, 1983. 110-113 p.

WARWICK, D. R. N.; ALBUQUERQUE, M. M. de; CARVALHO, H. W. L. de; PELOSO, M. J del; FARIA, L. C. de; MELO, L. C.; COSTA, J. G. da. Comportamento de cultivares e linhagens avançadas de feijoeiro comum, do grupo comercial mulatinho, no Nordeste brasileiro, no biênio 2003-04. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO -CONAFE, 7., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão. 2005. v. 1, p. 376-378.

CAPÍTULO II

Diversidade genética e patogênica de *Rhizoctonia solani* do feijoeiro no Agreste Meridional de Pernambuco

Artigo submetido à Revista Tropical Plant Pathology

1 **Diversidade genética e patogênica de *Rhizoctonia solani* do feijoeiro no Agreste**
2 **Meridional de Pernambuco**

3

4 Dyana de Albuquerque Tenório¹; Emanuel Henrique dos Santos Silva²; Gaus Silvestre de
5 Andrade Lima³; Iraíldes Pereira Assunção³; Sami Jorge Michereff¹; Cristiano Souza Lima^{2*}

6

7 ¹UFRPE – Depto. de Agronomia, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900, Recife-PE,
8 e-mail: dayagro@gmail.com; sami@depa.ufrpe.br. ²UFRPE - Unidade Acadêmica de
9 Garanhuns, Av. Bom Pastor, s/n, 55296-190, Garanhuns-PE, e-mail:
10 emanuelhss@hotmail.com.br; cristiano@uag.ufrpe.br. ³UFAL – CECA, BR 104 Norte km 85,
11 s/n, 57100-000, Rio Largo-AL, email: gausandrade@yahoo.com.br;
12 i_assuncao@hotmail.com. *Autor para correspondência (cristiano@uag.ufrpe.br)

13

14 **Resumo**

15 *Rhizoctonia solani* apresenta vasta gama de hospedeiros e causa uma das principais
16 doenças do feijoeiro, conhecida como rizoctoniose, mela ou murcha da teia micélica. Este
17 estudo objetivou caracterizar a diversidade genética e patogênica de isolados de *R. solani* de
18 plantas de feijão-caupi e feijão-comum com sintomas de rizoctoniose, coletados em áreas de
19 produção no Agreste Meridional de Pernambuco. Foram avaliadas a morfologia e a
20 patogenicidade dos isolados de *R. solani*. Foi realizada a caracterização genética utilizando
21 seqüências gênicas da região ITS do rDNA e inferidos os grupos de anastomose. Dentre os 57
22 isolados de *R. solani* incluídos no estudo a maioria apresentou colônias de cor inicialmente
23 branca, que tornavam-se marrom ou bege com o envelhecimento da colônia. A formação de
24 microesclerócios somente foi observada após 15 dias. A taxa de crescimento micelial variou
25 entre 1,7 e 3,6 (cm.dia⁻¹). Na análise filogenética na qual utilizou-se a região ITS do rDNA a
26 maior parte dos isolados de feijão-caupi e feijão-comum agrupou no grupo de anastomose

27 AG4 HG-I e um isolado de feijão-caupi no grupo AG2-2 IIIB. Todos os isolados foram
28 patogênicos ao feijão-caupi cultivar IPA-207, com níveis de severidade entre 40 e 92,8%.
29 Portanto, no Agreste Meridional a rizoctoniose do feijão-caupi e do feijão-comum é causada
30 principalmente pelo grupo AG4 HG-I de *R. solani*.

31 Palavras-chave: Rizoctoniose, *Vigna unguiculata*, *Phaseolus vulgaris*, grupo de anastomose.

32

33 **Abstract**

34 **Genetic diversity and pathogenic *Rhizoctonia solani* in bean Agreste Meridional de** 35 **Pernambuco**

36 *Rhizoctonia solani* causes diseases on a range of hosts and one of the most important
37 diseases on common bean and cowpea, known in Brazil as "rizoctoniose", "mela" or "murcha
38 da teia micélica". This study aimed to characterize the genetic and pathogenic diversity of *R.*
39 *solani* isolates obtained from common bean and cowpea with "rizoctoniose" symptoms in the
40 Agreste Meridional of Pernambuco. Isolates of *R. solani* were evaluated regarding
41 anastomosis groups (inferred from ITS rDNA phylogeny), morphology and pathogenicity.
42 The genetic diversity was evaluated through the use of sequences of the ITS region of the
43 rDNA. Fifty-seven isolates of *R. solani* were obtained from common bean and cowpea
44 production areas. Colonies of the fungus isolated were initially white, becoming brown or
45 beige with age. The production of microsclerotia was observed only after 15 days of
46 incubation. The growth rate of colonies ranged from 1.7 to 3.6 cm.day⁻¹. In the phylogeny
47 using ITS rDNA the majority of isolates from common bean and cowpea grouped together in
48 the AG4 HG-I and one of cowpea grouped in AG2-2 IIIB. All isolates were pathogenic to
49 cowpea IPA-207 cultivar, showing severity levels from 40 to 92.8%. Thus, in the Agreste
50 Meridional of Pernambuco, the "rizoctoniose" of cowpea and common bean is caused mainly
51 by *Rhizoctonia solani* AG4 HG-I.

52 Keywords: Anastomosis groups, *Phaseolus vulgaris*, Rizoctoniose, *Vigna unguiculata*.

53 **Introdução**

54 A região do Agreste Meridional de Pernambuco destaca-se como importante área de
55 produção de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.)
56 Walp.]. O feijão-comum é cultivado entre os meses de abril e julho, enquanto que o feijão-
57 caupi é plantado logo em seguida, entre os meses de setembro e dezembro (Benevenuti,
58 1996).

59 O feijoeiro-comum é cultivado em quase todos os estados brasileiros, em diferentes
60 sistemas de cultivo e épocas de semeadura e, portanto, a cultura está submetida às mais
61 diversas condições ambientais (Pereira et al., 2009). Sendo os principais produtores Paraná,
62 Minas Gerais, Bahia, São Paulo e Goiás (Paula Junior et al., 2008).

63 O feijão-caupi é produzido nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, durante
64 praticamente todo o ano, seja em monocultivo ou em consórcio com outras culturas, em
65 sequeiro ou irrigado (Freire Filho et al., 2005; Melo et al., 2005). O plantio de feijão-caupi no
66 estado de Pernambuco é tradicionalmente conduzido por pequenos produtores, em áreas de
67 até 1 ha, mas com perspectivas de expansão da área plantada (Freire Filho et al., 2005).

68 Esta leguminosa, embora bem adaptada nesta região, é suscetível a várias doenças.
69 Sendo, a rizoctoniose causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* Kühn uma das doenças mais
70 destrutivas no Nordeste brasileiro, sobretudo na fase de germinação e emergência (Athayde
71 Sobrinho et al., 2005). Estudos realizados principalmente em outros países têm mostrado que
72 este fungo apresenta grande diversidade genética (Tewoldemedhin et al., 2006; Ciampi et al.,
73 2008). Esta diversidade tem sido evidenciada pela comparação de seqüências nucleotídicas da
74 região ITS do rDNA, que mostra uma boa correlação com os grupos de anastomose (González
75 et al., 2006).

76 A identificação de grupos de anastomose (AGs) por comparação de seqüências da
77 região ITS (Internal Transcribed Spacer) do rDNA tem mostrado ser altamente confiável. No
78 mínimo 12 AGs foram descritos dentro do complexo *R. solani* (Sharon et al., 2006). No

79 estado de Roraima, o agente causal da rizoctoniose do feijão-caupi pertence ao grupo de
80 anastomose AG1-1A de *R. solani*, predominando os isolados multinucleados. Além disso,
81 foram observados dois sub-grupos que são diferenciados pelo tamanho e coloração dos
82 esclerócios, sendo cada grupo aparentemente específico em relação ao ecossistema onde foi
83 encontrado (Nechet & Halfeld-Vieira, 2006).

84 Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a diversidade
85 genética e patogênica de isolados de *R. solani* de plantas de feijão-comum e feijão-caupi com
86 sintomas de rizoctoniose, coletados em áreas de produção no Agreste Meridional de
87 Pernambuco.

88

89 **Material e Métodos**

90 *Obtenção de isolados de Rhizoctonia solani*

91 Os isolados de *R. solani* foram obtidos a partir de plantas jovens de feijão-comum e
92 feijão-caupi exibindo sintomas da doença coletados em áreas de cultivo do Agreste
93 Meridional de Pernambuco. Todos 57 isolados utilizados no presente estudo encontram-se
94 depositados na Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos “Profª. Maria Menezes”
95 (CMM), Área de Fitossanidade, do Departamento de Agronomia, da Universidade Federal
96 Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

97 As plantas foram lavadas em água corrente e secções dos tecidos da região de transição
98 da lesão foram submetidos à desinfestação pela exposição em álcool a 70% durante 30s e,
99 depois, em hipoclorito de sódio a 1% por 1 min, lavados por duas vezes consecutivas em água
100 destilada esterilizada (ADE) e postas para secar sobre papel-filtro estéril. O material foi
101 plaqueado em meio de cultura Batata-Dextrose-Agar (BDA), utilizando-se uma pinça
102 flambada. As placas de Petri foram mantidas em condições ambientes (temperatura de $25\pm 1,5$
103 °C e a umidade relativa de $76\pm 2,5\%$), durante aproximadamente três dias, para obtenção de
104 colônias de *R. solani*. Passado este tempo, o micélio de uma das colônias foi transferida para

105 uma placa de Petri com BDA e o cultivo incubado nas condições descritas anteriormente. Os
106 isolados de solo, utilizados nesse trabalho, foram obtidos da “CMM”.

107

108 *Caracterização morfológica*

109 Os isolados foram dispostos em placas de Petri contendo meio BDA. As placas foram
110 incubadas por três dias a 25 °C no escuro. Para a medição da taxa de crescimento micelial, um
111 disco contendo estruturas do patógeno, proveniente destas placas foi transferido para cinco
112 placas de Petri contendo meio BDA e mantidas a 25 °C no escuro. A medição ortogonal do
113 diâmetro da colônia foi feita diariamente até o seu crescimento máximo. Foram verificados a
114 coloração da colônia, presença ou não de microescleródios e a forma destes (Nechet &
115 Halfeld-Vieira, 2006).

116

117 *Caracterização Molecular*

118

119 *Obtenção de massa micelial*

120 Após quatro dias de crescimento de *R. solani* em placa de Petri, três discos contendo
121 estruturas do patógeno, de cada isolado, com aproximadamente 0,5 cm de diâmetro, foram
122 transferidos para frascos Erlenmeyers de 50 mL contendo 10-20 mL do meio líquido
123 Sacarose-Extrato de Levedura-Asparagina, a fim de obter-se o desenvolvimento do fungo.
124 Após três dias, a massa micelial foi coletada, filtrada em papel de filtro, lavada três vezes com
125 água destilada e esterilizada, e armazenada a -20 °C.

126

127 *Extração de DNA*

128 A extração do DNA dos isolados de *R. solani* seguiu o protocolo descrito por Ferreira &
129 Grattapaglia (1996). Para verificar a integridade das amostras de DNA, utilizou-se 5 µL de
130 DNA, adicionando-se 2 µL de tampão de carregamento e 4 µL de água destilada e

131 autoclavada e analisadas em gel de agarose 0,8% contendo 10 mg/mL de brometo de etídio
132 em tampão TBE 1X a 5V/cm. Após a corrida, o gel foi visualizado sob luz ultravioleta,
133 utilizando-se transiluminador UV. Todas as amostras de DNA obtidas foram mantidas a -
134 20°C até a realização das reações de PCR (Polymerase Chain Reaction).

135

136 *Amplificação da região ITS do rDNA*

137 A amplificação do rDNA nuclear por PCR foi realizada com os primers ITS4 (5'-
138 TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')
139 (White et al., 1990). As reações de PCR foram realizadas de acordo com Tewoldemedhin et
140 al. (2006), com algumas modificações. O programa de amplificação consistiu de uma
141 desnaturação inicial de 95 °C por 2 min; 35 ciclos [cada ciclo com 1 min a 95 °C
142 (desnaturação), 1 min a 60 °C (anelamento dos oligonucleotídeos), 1 min e 30s a 72 °C
143 (extensão inicial)]; e um ciclo final a 72 °C por 10 min, para a completa extensão dos
144 produtos amplificados. Os produtos da reação foram submetidos à eletroforese em gel de
145 agarose a 1,2%, sendo o gel corado em solução de brometo de etídio a 0,5 µg/mL por 30 min,
146 e visualizado em transiluminador de luz ultravioleta e fotografado.

147

148 *Seqüenciamento e análise filogenética*

149 Para o seqüenciamento o produto da PCR foi purificado com o Kit QIAquick PCR
150 Purification Kit (QIAGEN), segundo a indicação do fabricante, e enviado para
151 seqüenciamento na empresa Macrogen, Coréia do Sul. Os eletroferogramas foram analisados
152 no programa BioEdit (Hall, 1999) e as seqüências obtidas foram comparadas na base de dados
153 do National Center for Biotechnology Information (NCBI; < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>)
154 utilizando o programa BLASTN 2.2.25 (Basic Local Alignment Search Tool) (Zheng et al.,
155 2000). O programa CLUSTAL W (Thompson et al., 1994) foi utilizado para gerar
156 alinhamentos múltiplos de seqüências dos isolados de *R. solani* obtidos nesse estudo,

157 juntamente com outras seqüências representativas dos grupos de anastomose, obtidas da base
158 de dados do NCBI a partir de trabalhos de Kuninaga et al. (1997) e Sharon et al. (2006). O
159 alinhamento foi ajustado manualmente no BioEdit. As análises filogenéticas de *neighbor-*
160 *joining* foram realizadas no programa PAUP 4.0 versão beta 10 (Swofford, 2000). As análises
161 de *bootstrap* foram realizadas com 1000 repetições. *Sclerotium rolfsii* Sacc. e *Waitea*
162 *circinata* Warcup & P.H.B. foram utilizados como *outgroup* na análise.

163

164 *Caracterização Patogênica*

165 Para o teste de patogenicidade foram utilizados 46 isolados de *R. solani* (Tabela 1). O
166 inóculo de *Rhizoctonia* sp. foi preparado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA.
167 Após três dias de cultivo foram retirados discos de 5 mm de diâmetro da cultura do fungo do
168 meio BDA. As amostras de solo foram acondicionadas em bandejas plásticas (13x13x4 cm) e
169 infestadas com o patógeno pela deposição de discos da cultura do fungo. As testemunhas
170 consistiram da utilização de solos não infestados pelo patógeno.

171 O solo (Latosolo amarelo distrocoeso húmico, textura argilosa, fase floresta
172 subperenifólia, relevo plano) utilizado foi retirado de uma área de mata virgem, coletado na
173 cidade de Brejão - PE, onde não se tem relatos da utilização deste solo para agricultura. Antes
174 do plantio, as sementes foram desinfestadas em solução de NaClO 1% por dois minutos,
175 lavadas em água destilada esterilizada e colocadas para secar durante 45 min em câmara de
176 segurança biológica CLASSE 2A. A semeadura das nove sementes de caupi cv. IPA-207 por
177 bandeja foi efetuado neste solo a 2 cm de profundidade, colocando-se junto às mesmas um
178 disco de ágar de 5 mm de diâmetro contendo o micélio do patógeno, de culturas com 7 dias de
179 incubação.

180 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo
181 cada repetição constituída por uma bandeja com nove plantas. As bandejas foram mantidas
182 em casa de vegetação à temperatura de $25 \pm 1,5$ °C e a umidade relativa de $76 \pm 2,5$ %.

183 A severidade da rizoctoniose foi avaliada aos 15 dias após o plantio, utilizando-se escala
184 de notas (Noronha et al., 1995), onde: 0 = ausência de sintomas, 1 = hipocótilo com pequenas
185 lesões, 2 = hipocótilo com grandes lesões, sem constrição, 3 = hipocótilo totalmente constricto,
186 mostrando tombamento e 4 = sementes não germinadas e/ou plântulas não emergidas.
187 Utilizando os dados obtidos com as escalas de notas, foram calculados os índices de
188 severidade da rizoctoniose (SVR) conforme McKinney (1923), pela expressão: SVF ou SVR
189 = $[\Sigma(\text{grau da escala} \times \text{freqüência}) / (\text{número total de unidades} \times \text{grau máximo da escala})] \times 100$.
190 Os dados de SVF e SVR foram transformados em raiz quadrada de $x + 1$, e submetidos à
191 análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 0,05% de
192 probabilidade.

193

194 **Resultados e Discussão**

195 *Obtenção de isolados e caracterização morfológica de Rhizoctonia solani*

196 Foram obtidos 57 isolados de *R. solani* de 14 áreas de produção de feijão-comum e
197 feijão-caupi (Tabela 1).

198 Na caracterização cultural foi observada diferença nos padrões das colônias de cada
199 isolado. Porém, a maioria apresentou colônias de coloração inicialmente branca, que
200 tornavam-se marrom ou bege com o envelhecimento. Exceto, para o isolado CMM 3255 que
201 apresentou micélio de coloração inicial marrom escuro, com um abundante crescimento
202 micelial aéreo de cor branca, distribuída de forma regular por toda a placa. A formação de
203 microesclerócios somente foi observada após 15 dias, sendo diferenciados por: a) isolados
204 com formação de microesclerócios na forma de pontuações esbranquiçadas (como primórdios
205 de microesclerócios), distribuídos irregularmente em vários pontos da colônia, tonando-se
206 marrom, com presença de exsudatos; b) isolados com formação de microesclerodios na forma
207 de tufos de coloração bege; c) isolados sem formação de microescleródios (Tabela 2). Em
208 estudos realizados por Nechet & Halfeld-Vieira (2006), verificou-se a formação de

209 microescleródios em isolados de *R. solani* em feijão-caupi, conforme resultados obtidos nesse
210 trabalho.

211 Com relação à taxa de crescimento micelial os dados obtidos indicaram valores entre
212 1,7 a 3,6 (cm . dia⁻¹). Os isolados CMM 3283 e CMM 3284 apresentaram as maiores taxas de
213 crescimento (3,6 cm . dia⁻¹), onde o CMM 3289 obteve a menor taxa (1,7 cm . dia⁻¹). Porém,
214 os isolados CMM 3256 e CMM 3004 com elevado índice de severidade de 92,8 e 91,1
215 respectivamente, apresentaram taxas de crescimento de 3,0 e 2,8 cm . dia⁻¹, respectivamente,
216 não sendo as maiores taxas de crescimento verificadas. A taxa de crescimento micelial pode
217 indicar uma maior capacidade para colonizar substratos e competir pela habilidade saprofítica
218 com outros fungos habitantes do solo. Em estudos realizados por Nechet & Halfeld-Vieira
219 (2006) com *R. solani* em feijão-caupi, verificaram que a taxa de crescimento micelial variou
220 de 2,1 – 5,8 cm . dia⁻¹, em placas de Petri de 9 cm. De acordo com Ploetz et al. (1985) o uso
221 de características culturais pode ser útil para identificar isolados em uma seleção preliminar,
222 apesar do risco de existirem isolados com características morfológicamente similares, mas
223 geneticamente distintos.

224

225 *Extração de DNA e amplificação da região ITS do rDNA*

226 O tempo de aproximadamente quatro dias de crescimento em meio líquido foi
227 suficiente para formação de massa micelial em quantidade e idade adequadas para a extração
228 do DNA. A metodologia seguida permitiu a obtenção de DNA em concentrações variando
229 de 250 e 500 ng/μL de DNA para os 57 isolados de *R. solani*. Na reação de PCR, observou-se
230 apenas uma banda com aproximadamente 700 pb (pares de bases nucleotídicas). Resultado
231 semelhante foi obtido por Meinhardt et al. (2002) onde utilizaram os mesmos pares de primers
232 empregados neste estudo. Segundo Gomes et al. (2003), a região completa (ITS-rDNA) de *R.*
233 *solani* coletado de feijoeiro comum cultivado no ecossistema cerrado apresentou um tamanho
234 de aproximadamente 640 pb, sendo semelhante ao resultado obtido nesse trabalho.

235 *Filogenia dos isolados de Rhizoctonia solani*

236 Dos 57 isolados dos quais o DNA foi extraído, se seqüenciou 14 isolados. Os dados do
237 seqüenciamento para os demais isolados não foi satisfatório, devido à baixa amplificação dos
238 produtos de PCR.

239 Foi produzido um alinhamento múltiplo com 458 caracteres, o qual foi analisado no
240 programa PAUP pelo método de “neighbor-joining”. A árvore filogenética baseada na análise
241 “neighbor-joining” gerada a partir das seqüências do rDNA foi capaz de agrupar os 14
242 isolados em dois grupos filogenéticos distintos (Figura 1).

243 Analisando-se a árvore com *bootstrap*, incluindo os isolados estudados e os isolados
244 de referência de Sharon et al. (2006), observa-se a sua divisão em dois principais grupos:
245 primeiro, com o isolado de CMM 3301 de feijão-caupi (Brasil), formou um grupo
246 filogenético distinto com o padrão de anastomose AG2-2IIIB. No segundo, todos os outros
247 isolados de feijão-comum e feijão-caupi agruparam junto com os isolados de espinafre
248 (Japão), beterraba (Japão) crisântemo (Japão), amendoim (Japão), soja (Japão), e o padrão de
249 anastomose AG4 HG-I.

250 Em trabalhos anteriores o padrão de anastomose AG4 HG-I agrupou isolados de soja
251 (Brasil), tomate e trigo (Austrália) (Fenille et al., 2003; Kuramae et al., 2003). Rosa et al.
252 (2005) relataram a associação de isolados de batata ao grupo AG4 HG-I e AG4 HG-II,
253 causando danos na haste e provocando tombamento. Já Sussel et al. (2001) observaram esses
254 padrões associados a plantas de café, causando lesões no colo da plântula.

255 Já em trabalhos de Fenille et al. (2003) foram identificados isolados de *R. solani*
256 pertencentes ao subgrupo AG4 HG-I causando queima foliar e podridão de hipocótilo em
257 soja. De acordo com Kuramae et al. (2003) isolados de tomate podem apresentar reação
258 positiva com os isolados padrão AG4 HG-I, AG4 HGII e AG4 HGIII. Este, então, constitui o
259 primeiro relato deste grupo de anastomose AG4 HG-I causando doença em feijão-comum e
260 feijão-caupi no Agreste Meridional de Pernambuco.

261 *Caracterização Patogênica*

262 Os índices de severidade da doença diferiram significativamente entre si, variando
263 entre 40 e 92,8% (Tabela 3). Todos os isolados de *R. solani* foram patogênicos ao feijão-caupi
264 cv. IPA-207, diferindo significativamente da testemunha. Nas plântulas originadas de
265 sementes infestadas pelo patógeno, observaram-se os sintomas de cancro na região do colo e
266 tombamento.

267 Os tratamentos inoculados com os isolados CMM 3256 e CMM 3004 apresentaram
268 valores de severidade superiores a 90%, sem diferirem significativamente ($P=0,05$) entre si,
269 enquanto a menor severidade foi observada no tratamento inoculado com o isolado CMM
270 2991. Os isolados de feijão-comum (CMM 3261 e CMM 3260) e de solo (CMM 2988 e
271 CMM 3007), obtidos da coleção CMM, também proporcionaram elevados níveis de
272 severidade (respectivamente, 86,1; 81,1; 81,7 e 81,3%) indicando baixa especificidade ao
273 hospedeiro, o que deve ser levado em consideração em estudos de controle genético. A grande
274 flexibilidade de *R. solani* tem sido evidenciada em outros patossistemas, caracterizada pela
275 capacidade de causar doença em diferentes hospedeiros, independente do hospedeiro de
276 origem (Tu et al., 1996). A diferença na severidade entre isolados de *R. solani* em relação à
277 infecção de sementes de feijão-caupi, indica a variabilidade patogênica existente entre
278 isolados, assemelhando-se ao relato de outros pesquisadores (Ogoshi, 1987).

279 Como a resistência de plantas é um fator crítico no manejo de doenças radiculares
280 (Bruton et al., 2000), na identificação de fontes de resistência e desenvolvimento de cultivares
281 resistentes à rizoctoniose, deve-se levar em consideração a existência de variabilidade
282 patogênica entre os isolados de *R. solani*, como comprovada nesse estudo.

283 Conclui-se a partir dos dados obtidos neste estudo que no Agreste Meridional a
284 rizoctoniose do feijão-comum e do feijão-caupi é causada principalmente pelo grupo de
285 anastomose AG4 HG-I de *Rhizoctonia solani*. Os isolados de *R. solani* parecem pertencer a

286 uma população geneticamente homogênea, ou seja, com baixa diversidade genética, que
287 possivelmente possui origem comum.

288

289 **Agradecimentos**

290 À FACEP pela concessão de Bolsa de Mestrado à Dyana de Albuquerque Tenório, e ao CNPq
291 pela concessão de Bolsa de Produtividade em Pesquisa à Cristiano Souza Lima, Gaus
292 Silvestre de Andrade Lima e Sami Jorge Michereff, e Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) à
293 Emanuel H. dos Santos Silva.

294

295 **Referências**

296 Athayde Sobrinho C, Viana FMP, Santos AA (2005) Doenças fúngicas e bacterianas. In
297 Freire Filho FR, Lima JAA, Ribeiro VQ (Eds.) Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília:
298 Embrapa Informação Tecnológica. pp.461-484.

299 Benevenuti V (1996) Gestão governamental de apoio à produção de feijão: o caso
300 Pernambuco (1991 – 1994). 160 f. Dissertação de Mestrado em Administração Rural e
301 Comunicação Rural. Recife PE. Universidade Federal Rural de Pernambuco.

302 Bruton BD, García-Jiménez J, Armengol J, Popham TW (2000) Assessment of virulence of
303 *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on Cucumis melo. Plant
304 Disease 84:907-913.

305 Ciampi MB, Meyer MC, Costa MJN, Zala M, Mcdonald BA, Ceresine PC (2008) Genetic
306 structure of populations of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-1 IA from soybean in
307 Brazil. Phytopathology 98:932-941.

- 308 Fenille RC, Ciampi MB, Kuramae EE, Souza NL (2003) Identification of *Rhizoctonia solani*
309 associated with soybean in Brazil by rDNA-ITS sequences. *Fitopatologia Brasileira* 28:413-
310 419.
- 311 Ferreira ME, Grattapaglia D (1996) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise
312 *genética*. 2th ed. Brasília: Embrapa-Cenargen.
- 313 Freire Filho FR, Lima JAA, Ribeiro VQ (2005) Feijão-Caupi. *Avanços Tecnológicos*.
314 Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.
- 315 Gomes MVL, Breseghello L, Silva WS, Petrofeza S (2003) Diversidade genética em
316 populações de *Rhizoctonia solani* isolados de feijoeiro em sistema de produção irrigado no
317 cerrado. Resumos, 49º Congresso Brasileiro de Genética. Águas de Lindóia SP. pp.1149.
- 318 González D, Cubeta MA, Vilgalys R (2006) Phylogenetic utility of indels within ribosomal
319 DNA and β -tubulin sequences from fungi in the *Rhizoctonia solani* species complex.
320 *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40:459-470.
- 321 Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis
322 program for Windows 95/98/Me/XP/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95-98.
- 323 Kuninaga S, Natsuaki T, Takeuchi T, Yokosawa R (1997) Sequence variation of the rDNA
324 ITS regions within and between anastomosis groups in *Rhizoctonia solani*. *Current Genetics*
325 32:237-243.
- 326 Kuramae EE, Buzeto AL, Ciampi MB, Souza NL (2003) Identification of *Rhizoctonia*
327 *solani* AG 1-IB in Lettuce, AG 4 HG-I in Tomato and Melon, and AG 4 HG-III in Broccoli
328 and Spinach, in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 109:391-395.

- 329 Mckinney RH (1923) Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat
330 seedlings by *Helminthosporium sativum*. Journal of Agricultural Research 6:195-218.
- 331 Meinhardt LW, Wulff NA, Bellato CM, Tsai SM (2002) Genetic analyses of *Rhizoctonia*
332 *solani* isolates from *Phaseolus vulgaris* grown in the Atlantic rainforest region of São Paulo,
333 Brazil. Fitopatologia Brasileira 27:259-267.
- 334 Melo FB, Cardoso MJ, Salviano AAC (2005) Fertilidade do solo e adubação. In: Freire Filho
335 FR, Lima JAA, Ribeiro VQ (Eds.) Caupi: avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa
336 Informação Tecnológica. pp.229-242.
- 337 Nechet KL, Haldfeld-Vieira BA (2006) Caracterização de isolados de *Rhizoctonia* spp.,
338 associados à mela do feijão caupi (*Vigna unguiculata*), coletados em Roraima. Fitopatologia
339 Brasileira 31:505-508.
- 340 Noronha MA, Michereff SJ, Mariano RLR (1995) Efeito do tratamento de sementes de caupi
341 com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. Fitopatologia Brasileira 20:174-178.
- 342 Ogoshi A (1987) Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of
343 *Rhizoctonia solani* Kühn. Annual Review of Phytopathology 25:125-143.
- 344 Paulo Junior TJ, Vieira RF, Teixeira H, Coelho RR, Carneiro JES, Andrade MJB, Rezende
345 AM (2008) Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central
346 brasileira: 2007-2009. Viçosa: EPAMIG-CTZM. pp.180.
- 347 Pereira HS, Melo LC, Faria LC de, Del Peloso MJ, Costa JGC da, Rava CA, Wendland A
348 (2009) Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de feijoeiro-comum com grãos tipo carioca
349 na região central do Brasil. Pesquisa Agropecuária Brasileira 44:29-37.

- 350 Ploetz RC, Mitchell DJ, Gallaher RN (1985) Characterization and pathogenicity of
351 *Rhizoctonia* species from reduced-tillage experiment multicropped to rye and soybean in
352 Florida. *Phytopathology* 75:833-839.
- 353 Rosa DD, Fenille RC, Souza NL, Kuramae EE (2005) Caracterização citomorfológica,
354 molecular e patogênica de isolados de *Rhizoctonia solani* de batata. *Summa Phytopathology*
355 31:133-141.
- 356 Sharon M, Kuninaga S, Hyakumachi M, Sneh B (2006) The advancing identification and
357 classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared
358 with the classical anastomosis grouping. *Mycoscience* 47:299-316.
- 359 Sussel AAB, Fenille RC, Kuramae EE, Souza NL (2001) Caracterização de *Rhizoctonia*
360 *solani*, agente etiológico do tombamento de mudas de café. *Summa Phytopathology*, 27:348-
361 352.
- 362 Sworfford DL (2000) PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods).
363 Version 4.0b10. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- 364 Tewoldemedhin YT, Lamprecht SC, McLeod A, Mazzola M (2006) Characterization of
365 *Rhizoctonia* spp. recovered from crop plants used in rotational cropping systems in the
366 Western Cape province of South Africa. *Plant Disease* 90:1399-1406.
- 367 Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of
368 progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap
369 penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673-4680.
- 370 Tu CC, Hsieh TF, Chang YC (1996) Vegetable diseases incited by *Rhizoctonia* spp. In: Sneh
371 B, Jabaji-Hare S, Neate S, Dijst G. (Eds.) *Rhizoctonia* species: Taxonomy, Molecular
372 Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Dordrecht: Kluwer. pp. 369-377.

373 White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal
374 ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ
375 (eds) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego, CA.
376 pp.315-322.

377 Zheng Z, Scott S, Lukas W, Webb M (2000) A greedy algorithm for aligning DNA
378 sequences. *Journal of Computational Biology*, 7:203-214.

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393

394

395

396

397

398 Tabela 1. Relação de isolados de *Rhizoctonia solani* avaliados neste estudo.

Áreas*	Código CMM**	Hospedeiro / Substrato	Município	Coordenadas (altitude)
A1	CMM 3262 CMM 3263 CMM 3264 CMM 3265 CMM 3266 CMM 3267 CMM 3268	Feijão-caupi	São João	S08°51'24,8'' W036°22'47,5'' (724m)
A2	CMM 3269	Feijão-caupi	São João	S08°51'20,5'' W036°22'41,7'' (727m)
A3	CMM 3270	Feijão-caupi	São João	S08°51'17,3'' W036°22'47,5'' (730m)
A4	CMM 3271 CMM 3272 CMM 3273 CMM 3274	Feijão-caupi	São João	S08°51'05,2'' W036°22'50,7'' (717m)
A5	CMM 3275	Feijão-caupi	São João	S08°50'58,0'' W036°22'53,8'' (711m)
A6	CMM 3276	Feijão-caupi	São João	S08°51'00,1'' W036°23'05,9'' (711m)
A10	CMM 3277 CMM 3278 CMM 3279	Feijão-caupi	São João	S08°51'43,7'' W036°22'38,7'' (719m)
A11	CMM 3280 CMM 3281 CMM 3282 CMM 3283 CMM 3284 CMM 3285 CMM 3286 CMM 3287 CMM 3288	Feijão-caupi	São João	S08°50'56,5'' W036°22'47,6'' (708m)
A12	CMM 3289	Feijão-caupi	São João	S08°50'41,2'' W036°22'52,6'' (687m)
A13	CMM 3290 CMM 3291 CMM 3292 CMM 3293 CMM 3294	Feijão-caupi	São João	S08°50'28,2'' W036°23'02,8'' (695m)
A14	CMM 3295 CMM 3296 CMM 3297 CMM 3298 CMM 3299 CMM 3300 CMM 3301 CMM 3302 CMM 3303	Feijão-caupi	São João	S08°51'26,5'' W036°22'19,7'' (710m)
A15	CMM 3304	Feijão-caupi	São João	S08°51'26,3'' W036°23'08,1'' (730m)

A16	CMM 3305	Feijão-caupi	São João	S08°51'9,3'' W036°22'44'' (714m)
A3	CMM 3255 CMM 3256 CMM 3257 CMM 3258 CMM 3259 CMM 3260 CMM 3261	Feijão-comum	São João	S08°51'14,5'' W036°22'43,7'' (728m)
-	CMM 3004 CMM 3007	Solo	Jupi	-
-	CMM 2988 CMM 2991 CMM 2993	Solo	São João	-
-	CMM 2996	Solo	Lajedo	-

399

400 *Áreas de coletas das amostras de plantas com sintomas de rizoctoniose; **CMM = Coleção
 401 de Culturas de Fungos Fitopatogênicos “Profª. Maria Menezes” (CMM), Setor de
 402 Fitossanidade, Departamento de Agronomia, UFRPE, Recife-PE; *** Índice de Severidade
 403 de Doença (ISD); Média de cinco repetições; Médias seguidas pela mesma letra não diferem
 404 significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P=0,05$).

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

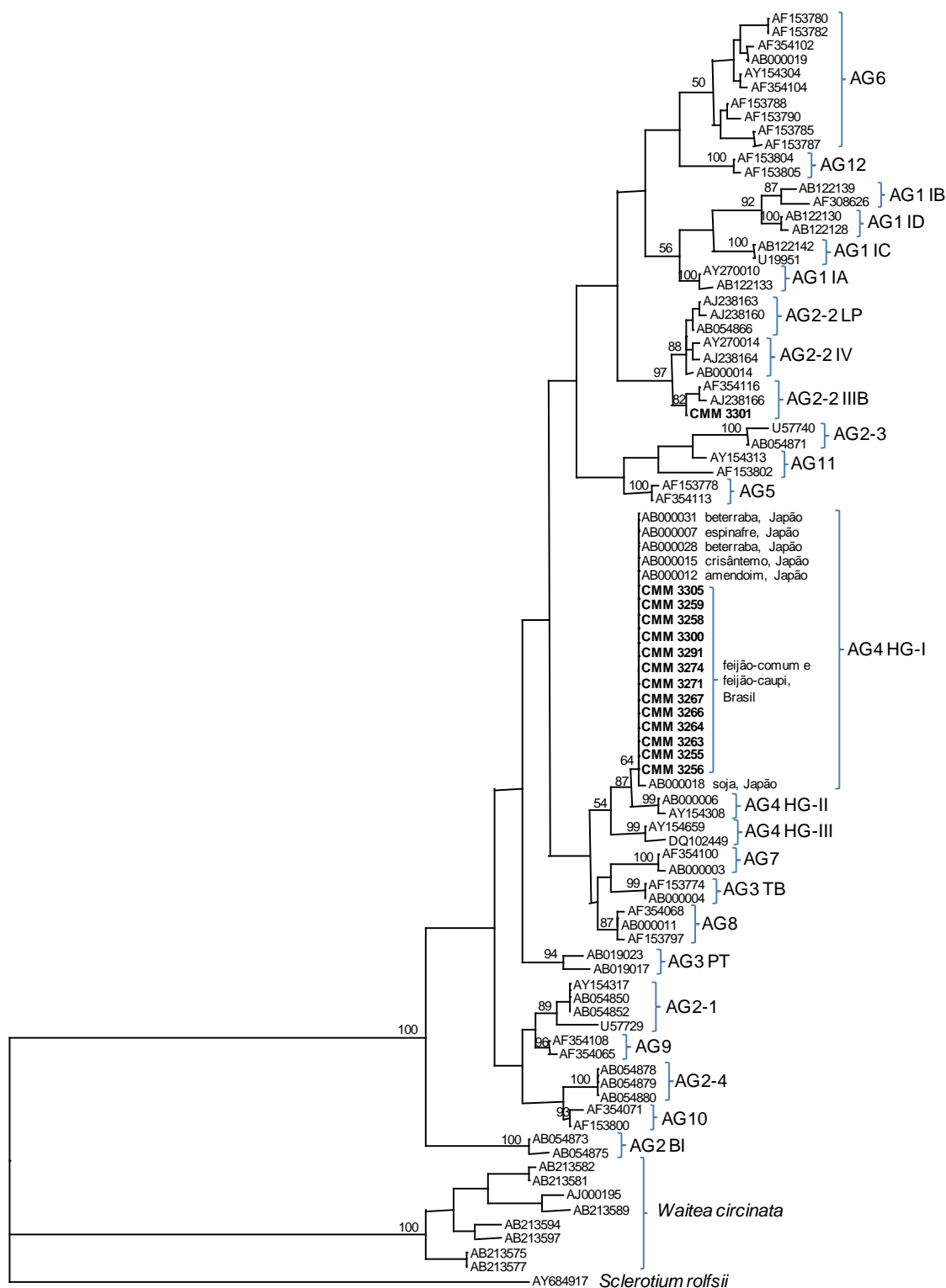
421

422

423 Tabela 2. Taxa de crescimento micelial, morfologia das colônias e dos microesclerócios

Isolado	TCM ¹ (cm.dia ⁻¹)	Morfologia da colônia		Microesclerócio	
		Cor	Tipo de crescimento micelial	Presença	Cor
CMM 3004	2,8	Bege	Rasteiro	Escasso	Bege
CMM 3007	2,9	Bege	Rasteiro	Escasso a abundante	Bege
CMM 2988	3,0	Marrom	Rasteiro e aéreo	Escasso	Bege
CMM 2991	3,3	Bege	Rasteiro	Escasso a abundante	Bege
CMM 2993	2,3	Marrom	Rasteiro	Escasso	Marrom
CMM 2999	2,7	Marrom	Rasteiro	Escasso	Marrom
CMM 3253	2,1	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso	Bege
CMM 3254	2,3	Marrom	Rasteiro	Escasso	Bege
CMM 3255	2,4	Branco-amarronzado	Rasteiro e aéreo	Abundante	Marrom
CMM 3256	3,0	Marrom	Rasteiro e aéreo	Abundante	Marrom
CMM 3257	2,6	Bege	Rasteiro	Escasso	Bege
CMM 3258	2,9	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso a abundante	Bege
CMM 3259	2,1	Bege	Rasteiro	Escasso a abundante	Bege
CMM 3260	3,0	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Ausente	_____
CMM 3261	2,7	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso a abundante	Marrom
CMM 3262	2,6	Marrom claro a escuro	Rasteiro e aéreo	Escasso a abundante	Marrom
CMM 3263	2,3	Marrom	Rasteiro	Abundante	Marrom
CMM 3264	2,7	Marrom claro a escuro	Rasteiro e aéreo	Escasso a abundante	Marrom
CMM 3266	2,1	Bege	Rasteiro	Escasso a abundante	Marrom
CMM 3267	2,4	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso	Marrom
CMM 3269	2,1	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso	Marrom
CMM 3270	3,4	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso	Bege
CMM 3271	2,7	Marrom	Rasteiro	Escasso	Marrom
CMM 3273	3,0	Marrom	Rasteiro	Ausente	_____
CMM 3274	3,2	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Ausente	_____
CMM 3276	2,0	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso a abundante	Bege
CMM 3278	2,6	Bege	Rasteiro e aéreo	Escasso	Marrom
CMM 3279	2,1	Marrom	Rasteiro	Escasso	Bege
CMM 3280	2,5	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso a abundante	Marrom
CMM 3283	3,6	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso	Marrom
CMM 3284	3,6	Marrom	Rasteiro e aéreo	Escasso a abundante	Marrom
CMM 3286	3,0	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Abundante	Bege
CMM 3288	2,0	Bege	Rasteiro e aéreo	Escasso a abundante	Marrom
CMM 3289	1,7	Marrom	Rasteiro	Escasso	Marrom
CMM 3291	2,5	Marrom	Rasteiro	Escasso	Marrom
CMM 3294	2,8	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso a abundante	Bege
CMM 3295	3,2	Marrom claro	Rasteiro	Ausente	_____
CMM 3297	3,2	Marrom claro a escuro	Rasteiro a aéreo	Escasso a abundante	Marrom
CMM 3299	3,2	Marrom	Rasteiro	Escasso a abundante	Marrom
CMM 3300	3,0	Marrom claro a escuro	Rasteiro e aéreo	Escasso	Marrom
CMM 3301	3,4	Marrom	Rasteiro	Escasso a Abundante	Marrom
CMM 3302	3,3	Marrom claro a escuro	Rasteiro e aéreo	Ausente	_____
CMM 3303	3,1	Marrom	Rasteiro	Escasso a abundante	Marrom
CMM 3304	3,2	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso	Marrom
CMM 3305	3,1	Marrom claro a escuro	Rasteiro	Escasso a abundante	Marrom

424 ¹TCM=Taxa de crescimento micelial.



426

427 Figura 1. Árvore filogenética de *neighbor joining* dos isolados de *Rhizoctonia solani* e sua
 428 relação com os grupos de anastomose (AGs).

429

430

431 Tabela 3. Índice de severidade de doença (ISD) de diferentes isolados de *Rhizoctonia solani* a
 432 plantas de feijão-caupi

Isolado	ISD (%)*
CMM 3256	92,8 a
CMM 3004	91,1 a
CMM 3270	87,8 ab
CMM 3273	84,5 ab
CMM 3261	86,1 ab
CMM 3003	86,1 ab
CMM 3277	87,8 ab
CMM 3284	87,2 ab
CMM 3260	81,1 abc
CMM 2988	81,7 abc
CMM 3007	81,3 abc
CMM 3302	82,2 abc
CMM 3283	78,3 bc
CMM 3264	76,1 bc
CMM 3276	75,6 bc
CMM 3258	74,4 bc
CMM 3259	73,3 bc
CMM 3288	73,6 bc
CMM 3294	76,1 bc
CMM 3303	74,5 bc
CMM 3289	74,4 bc
CMM 3272	71,7 bcd
CMM 3254	71,7 bcd
CMM 2999	71,7 bcd
CMM 3278	67,2 cd
CMM 3286	67,8 cd
CMM 3262	68,9 cd
CMM 3257	69,4 cd
CMM 3266	63,3 de
CMM 3269	61,7 de
CMM 3253	61,7 de
CMM 3292	63,2 de
CMM 3274	66,1 cde
CMM 3295	65,0 cde
CMM 3297	65,6 cde
CMM 3298	66,1 cde
CMM 3299	65,0 cde
CMM 3305	66,1 cde
CMM 3279	57,8 e
CMM 3287	52,8 e
CMM 3280	51,1 e
CMM 2993	47,2 ef
CMM 3275	46,1 ef
CMM 2991	40,0 f
Testemunha	0,00
CV (%)	14,01

433 *Média de cinco repetições; Médias seguidas pela mesma letra não diferem
 434 significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P=0,05$).

Conclusão

CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se a partir dos dados obtidos neste estudo que no Agreste Meridional a rizoctoniose do feijão-comum e do feijão-caupi é causada principalmente pelo grupo de anastomose AG4 HG-I de *Rhizoctonia solani*. Os isolados de *R. solani* parecem pertencer a uma população geneticamente homogênea, ou seja, com baixa diversidade genética, que possivelmente possui origem comum.