

HELENILZA DE PAULA

**VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Curvularia eragrostidis* (Henn.)
Meyer CAUSANDO QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME (*Dioscorea
cayennensis* Lam.) NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

**RECIFE
PERNAMBUCO - BRASIL
DEZEMBRO - 2000**

HELENILZA DE PAULA

**VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Curvularia eragrostidis* (Henn.)
Meyer CAUSANDO QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME (*Dioscorea
cayennensis* Lam.) NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

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

**RECIFE
PERNAMBUCO - BRASIL
DEZEMBRO – 2000**

**VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Curvularia eragrostidis* (Henn.)
Meyer CAUSANDO QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME (*Dioscorea
cayennensis* Lam.) NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

HELENILZA DE PAULA

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (Orientador)

Prof^ª. Dr^ª. Sônia Maria Alves de Oliveira (Co-orientadora)

Prof. M.Sc. Delson Laranjeira (Co-orientador)

**RECIFE
PERNAMBUCO - BRASIL
DEZEMBRO – 2000**

HELENILZA DE PAULA

**VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Curvularia eragrostidis* (Henn.)
Meyer CAUSANDO QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME (*Dioscorea
cayennensis* Lam.) NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora:

Prof.^a. Dr.^a. Rosa de Lima Ramos Mariano
(Examinadora)

Prof.^a. Dr.^a. Elvira Maria Régis Pedrosa
(Examinadora)

Prof.^a. Dr.^a. Uided Maaze Tibúrcio Cavalcante
(Examinadora)

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff
(Orientador)

A Deus pelo Dom da vida.
Agradeço

Aos meus pais Helena e Nelson (in memoriam).
Ofereço

A minha filha, para a educação de uma nova geração.
Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, pelas oportunidades no decorrer da minha formação profissional;

Aos colegas da Cooperativa Pernambucana de Prestação de Serviços Agropecuários - COOPERATA, pela liberação para realização do curso e compreensão nos momentos de ausência;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo suporte financeiro durante o decorrer do curso.

Ao Professor Sami Jorge Michereff, pela constante determinação, paciência e orientações valiosas;

Aos Professores do Curso de Mestrado em Fitossanidade, pela responsabilidade na difícil arte de ensinar;

Aos colegas de trabalho: Marissônia Noronha, Luciana Tavares, Raquel Pedrosa, Ricardo Brainer, Henrique Albuquerque, Sayonara Assis, Ivanise Oliveira, Luciana Cordeiro, Arlinda Pereira, Regina Ceres e Marcileyne Pessôa, pelo apoio e amizade;

Aos colegas da turma os “triturados”: Jefferson Nunes, Albaneide Lopes, Valéria Costa, Neilza Castro, Cristina Assis, Adalci Torres, Eudes Oliveira, César Filho, Márcia Valois e Valda Clêide pelo companheirismo e solidariedade durante este período;

A Gerson Castro pela boa convivência e auxílio constantes durante a fase final desse trabalho;

E, a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para o melhor resultado deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vi
SUMÁRIO	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
CAPÍTULO II - VARIABILIDAD DE AISLADOS DE <i>Curvularia eragrostidis</i> CAUSANDO ATIZONAMIENTO DE LAS HOJAS DE ÑAME (<i>Dioscorea</i> <i>cayennensis</i>) EN EL ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL	10
RESUMEN	12
SUMMARY	13
INTRODUCCIÓN	13
MATERIALES Y MÉTODOS	15
RESULTADOS	19
DISCUSIÓN.....	21
AGRADECIMIENTOS	24
REFERENCIAS	24
CONCLUSÕES GERAIS	32

RESUMO

A queima das folhas, causada por *Curvularia eragrostidis*, constitui uma importante doença do inhame no Nordeste brasileiro, embora inexistam estudos sobre a variabilidade do patógeno. Com o objetivo de analisar a variabilidade de *C. eragrostidis*, 42 isolados obtidos de áreas de plantio de inhame do Estado de Pernambuco foram avaliados em relação a componentes epidemiológicos, características fisiológicas e sensibilidade ao fungicida iprodione. No estudo dos componentes epidemiológicos, plantas de inhame (cv. Da Costa) com quatro meses de idade foram inoculadas com os isolados de *C. eragrostidis* (1×10^4 conídios/ml) e avaliadas diariamente quanto à presença e severidade dos sintomas de queima, sendo obtidos o período de incubação (PI) e a área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD). Cada isolado foi também avaliado “in vitro” quanto a características fisiológicas como taxa de crescimento micelial (TCM), esporulação (ESP) e germinação de conídios (GER), assim como em relação à sensibilidade ao fungicida iprodione, avaliada pela dose do fungicida suficiente para inibir 50% do crescimento micelial (DL_{50}) e pela porcentagem de inibição da germinação dos conídios (IGC). Foram constatadas diferenças significativas ($P=0,05$) entre os isolados de *C. eragrostidis* em relação a todas as variáveis avaliadas, sendo possível a separação dos isolados em diferentes grupos de similaridade pelo teste de Scott-Knott. Não foram constatadas correlações significativas ($P=0,05$) das variáveis associadas à doença (PI e AACPD) com as demais variáveis (TCM, ESP, GER, DL_{50} e IGC). Utilizando o conjunto das variáveis, a análise da distância Euclidiana por ligações simples permitiu a separação dos 42 isolados de *C. eragrostidis* em sete grupos de similaridade. Os resultados obtidos indicam a existência de variabilidade entre os isolados do patógeno causando queima das folhas em diferentes áreas de cultivo de inhame de Pernambuco.

ABSTRACT

Leaf blight, caused by *Curvularia eragrostidis*, is one of the main diseases of the yam in Brazilian Northeast, however studies on the pathogen variability are inexistent. In order to characterize the variability of *C. eragrostidis*, 42 strains obtained from yam fields in the Pernambuco State were evaluated in relation to epidemiological components, physiologic characteristics and sensibility to iprodione. In the epidemiological components study, yam plants, cv. Da Costa, were inoculated with strains of *C. eragrostidis* (1×10^4 conidia/ml) and evaluated daily for occurrence and severity of disease symptoms, to record incubation period (IP) and area under disease progress curve (AUDPC). Strains were evaluated “in vitro” for micelial growth rate (MGR), sporulation (SP) and germination of conidia (GER), as well as for sensitivity to iprodione, evaluated by the lethal dose which inhibited 50% of micelial growth (DL_{50}) and percentage of inhibition of conidium germination (ICG). There were significant differences ($P=0.05$) among the strains of *C. eragrostidis* in relation to all variables, resulting in different similarity groups of strains according to the Scott-Knott test. There were no significant correlation ($P=0.05$) between the variables associated with disease (IP and AUDPC) and the other variables studied (MGR, SP, GER, DL_{50} and ICG). When all variables were analyzed by the Euclidean distance (single linkage), the 42 strains were gathered into seven similarity groups. Therefore, there is variability among the strains of *C. eragrostidis*, which causes leaf blight of yam in different planting areas in Pernambuco.

Capítulo I

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

O inhame (*Dioscorea* spp.), pertencente à ordem Dioscoreales e família Dioscoreaceae, constitui um dos principais alimentos em regiões tropicais (Mafrá,1986). Entre as 600 espécies do gênero *Dioscorea*, somente algumas são cultivadas por produzirem túberas comestíveis, destacando-se *D. cayennensis* Lam., *D. alata* L., *D. rotundata* Poir. e *D. esculenta* (Lour.) Burk. (COPR, 1978). Nos campos de produção localizados na região Nordeste do Brasil, a espécie predominante é *D. cayennensis*, que possui uma única cultivar, conhecida vulgarmente por "Da Costa". O plantio desta cultivar é justificado pelo alto valor econômico das túberas, além de ser um alimento muito aceito pela população (Moura, 1997).

O Estado de Pernambuco é o principal produtor nacional de inhame, sendo que a produção concentra-se na mesorregião da Zona da Mata, principalmente nos municípios de Igarassu, Goiana, Condado e Aliança, da microrregião da Mata Seca (Norte), e nos municípios de Amaraji e Bonito da microrregião da Mata Úmida (Sul). O inhame tem amplo mercado interno e externo (Santos,1996), tendo uma média mensal de 1.069 t do produto comercializados na Central de Abastecimento de Recife (CEAGEPE, 2000).

Apesar do inhame ser uma cultura de fácil manejo, a ocorrência de doenças pode reduzir a produtividade e o valor das túberas no comércio interno e nas exportações (Santos, 1996; Moura, 1997). Dentre estas, a queima das folhas, causada pelo fungo *Curvularia eragrostidis* (Henn.) Meyer [teleomorfo *Cochliobolus eragrostidis* (Tsuda & Ueyama) Sivan.], ocorre regularmente nas áreas de produção durante todo o ano, podendo atingir alta incidência e severidade (Michereff *et al.*, 1999a) e reduzir em torno de 35 a 40% o peso da túbera comercial (EMATER/IPA, 1985).

A espécie *C. eragrostidis* pertence à classe Deuteromycetes, sub-classe Hiphomycetidae, ordem Moniliales e família Dematiaceae (Alexopoulos & Mims, 1979),

tendo como sinónimas *Brachysporium eragrostidis* Henn., *Spondylocladium maculans* Bancroft e *Curvularia maculans* (Bancroft) Boedijn. Quando cultivado em meio de cultura, *C. eragrostidis* apresenta conidióforos solitários ou em grupos, simples ou raramente ramificados, retos a flexuosos, algumas vezes geniculados, multiseptados, com coloração marrom, variando no comprimento, com cerca de 5 µm de espessura. Os conídios apresentam forma elipsoidal ou de barril, dimensões de 18-37 x 11-20 µm, com três septos, sendo que o septo mediano aparece como uma espessa banda escura, as células centrais apresentam coloração marrom escura e as células externas coloração marrom pálida. Na fase teleomórfica, apresenta ascomas superficiais, globosos a sub-globosos, escuros, 375-750 µm de largura, com um protuberante bico ostiolar, desenvolvendo sobre estroma colunar ou plano, firmemente aderido ao substrato na base; bico ostiolar com dimensões de 250-1125 x 85-190 µm e ápice hialino. Ascas bitunicadas, a maioria cilíndrica, com 8 esporos, dimensões de 150-240 x 12,5-22 µm e pseudoparafises hialinas. Ascosporos hialinos, filiformes ou flageliformes, com 12 a 22 septos, paralelamente a frouxamente espiralados nas ascas ou raramente espiralados em uma hélice, dimensões de 175-240 x 3,8-6,3 µm, com ou sem uma fina camada mucilaginosa. A fase teleomórfica foi constatada somente em condições de laboratório (Sivanesan, 1990).

O sintoma primário da queima das folhas do inhame é uma mancha necrótica, de coloração marrom escura, freqüentemente circundada por um halo amarelo. Essas manchas, que tendem para o formato circular e atingem, em média, 2 a 3 cm de diâmetro, são limitadas parcialmente pelas nervuras do limbo foliar. É comum a coalescência de manchas, formando grandes áreas necrosadas. Incidindo sobre plantas jovens, que possuem folhas em desenvolvimento, o crescimento é significativamente reduzido e as folhas retorcidas, apresentam quadro típico de crestamento, resultando em elevadas perdas. Em menor freqüência, ocorrem lesões nos pecíolos e nos ramos. Os sintomas secundários ou reflexos são o reduzido desenvolvimento da planta e o pequeno tamanho das túberas comerciais e túberas-

semente. Em casos extremos de alta incidência e severidade, formam-se grandes reboleiras, constituídas de plantas queimadas e mortas (Mafra, 1986; Moura, 1997).

Os restos culturais e as túberas-semente infestadas constituem as principais fontes de inóculo primário de *C. eragrostidis* na cultura do inhame, (Mignucci *et al.*, 1985). Além disso, o inóculo fúngico pode ser proveniente de outros hospedeiros, uma vez que essa espécie causa doença em mais de 80 gêneros botânicos (Ellis, 1971; Farr *et al.*, 1989; Sivanesan, 1990).

A disseminação dos esporos de *C. eragrostidis* ocorre principalmente pelo vento (Sivanesan, 1990), não tendo sido verificada uma influência significativa da irrigação por aspersão na intensidade e no arranjo espacial da queima das folhas em plantios da Zona da Mata de Pernambuco (Michereff *et al.*, 1999b). Em relação ao controle da queima das folhas do inhame, a cultivar Da Costa, amplamente plantada no Estado de Pernambuco, é altamente suscetível à queima das folhas (Michereff *et al.*, 1999a) e não existem fungicidas registrados para a cultura (Agrofit98, 1998). Apesar da falta de registro, o controle da doença se baseia em pulverizações, após o aparecimento dos primeiros sintomas, com produtos à base de mancozeb, triadimenol e tebuconazole (Michereff *et al.*, 1999b).

No desenvolvimento de estratégias de controle de doenças de plantas é importante conhecer a variabilidade das populações do patógeno, o que pode determinar o potencial de adaptação do organismo às condições adversas (Brown, 1998).

Devido a alta plasticidade genética e ao grau de dependência em relação aos fatores ambientais, os agentes fitopatogênicos estão mais sujeitos a variações genotípicas e fenotípicas do que os vegetais superiores. Os principais mecanismos geradores de variabilidade em fungos são os processos de mutação, recombinação sexual ou meiótica, heterocariose, recombinação parassexual e herança citoplasmática. A mutação genética, a recombinação sexual e a herança citoplasmática constituem a base das variações quanto a patogenicidade (Casela & Guimarães, 1996). As mutações ocorrem devido a erros na

duplicação cromossômica, podendo ocorrer na meiose (mutação germinal) ou na mitose (mutação somática). O primeiro tipo, para fungos que se reproduzem sexuadamente, e o segundo, para aqueles que se reproduzem assexuadamente (Camargo, 1995). Ainda que as taxas de mutação por locus sejam baixas, as populações desses organismos são, na maioria das vezes, suficientemente grandes para permitir que os alelos mutantes sejam persistentes ao longo do tempo, gerando, em consequência, uma alta diversidade genética (Casela & Guimarães, 1996). Além disso, logo que um novo caráter para virulência apareça em um mutante, este caráter fará parte dos processos sexuais e parassexuais do patógeno e podem produzir, por recombinação gênica, níveis de virulência diferentes daqueles isolados que o originaram. A recombinação dos fatores genéticos ocorre durante a divisão meiótica do zigoto, resultante do cruzamento genético entre cada parte das cromátides dos genes que eles carregam de um par cromossômico que são trocados por partes da cromátide do outro cromossomo do par, resultando em organismos diferentes daqueles dos quais ele se originou (Walker, 1973). A herança citoplasmática é importante como fonte de variabilidade em fungos fitopatogênicos pela presença de um sistema genético na mitocôndria e pela ocorrência de RNA de fita dupla (ds RNA) com atividade genética. O genoma mitocondrial está sujeito às mesmas fontes de variabilidade que o DNA nuclear. A herança citoplasmática é a aquisição feita por um patógeno, por hereditariedade completamente extracromossomal da capacidade de transmitir genes determinantes de patogenicidade e de virulência, que podem estar presentes no citoplasma. Três tipos de adaptação, que acontecem por alteração no material genético, têm se mostrado nos fitopatógenos. Patógenos podem adquirir habilidade para tolerância a substâncias tóxicas, para utilizar novas substâncias para crescimento e para mudar sua virulência em relação as plantas hospedeiras (Casela & Guimarães, 1996).

Embora os tipos de variabilidade mais freqüentemente estudados em populações de patógenos sejam adaptação a diferentes genótipos do hospedeiro e resposta a fungicidas,

estudos envolvendo a fisiologia do patógeno e componentes epidemiológicos da doença podem constituir importantes instrumentos de investigação (Brown, 1998).

A sensibilidade de populações de patógenos a fungicidas tem sido avaliada principalmente em relação à dose do princípio ativo suficiente para inibir 50% do crescimento micelial (DL_{50}) e à porcentagem de inibição da germinação de conídios (Brown, 1998). Além disso, aspectos relacionados à fisiologia do patógeno, como taxa de crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios, são importantes indicadores da existência da variabilidade em populações (Griffin, 1994). Dentre os componentes epidemiológicos da doença, o período de incubação e a área abaixo da curva de progresso da doença constituem importantes instrumentos comparativos e analíticos. O período de incubação, determinado pelo período de tempo entre a inoculação e o aparecimento dos sintomas, indica a velocidade com que o patógeno coloniza o hospedeiro, enquanto a área abaixo da curva de progresso da doença, que constitui a integração da intensidade da doença entre dois períodos de tempo, é a melhor representação temporal de uma epidemia, sendo utilizada para sumarizar a curva de progresso da doença (Campbell & Madden, 1990).

Apesar da queima das folhas do inhame ter sido reportada pela primeira vez no Brasil, em Pernambuco, há mais de 35 anos (Medeiros & Aquino, 1964), até o momento não existem estudos sobre a variabilidade de populações do patógeno.

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar a variabilidade de isolados de *C. eragrostidis*, oriundos de áreas de plantio de inhame da Zona da Mata de Pernambuco, baseada em componentes epidemiológicos, características fisiológicas e sensibilidade ao fungicida iprodione.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT98. **Informações de produtos fitossanitários registrados no Ministério da Agricultura.** [CD-ROM]. Brasília: Ministério da Agricultura, 1998.
- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W. **Introductory mycology.** 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 1979. 632p.
- BROWN, J.K.M. Surveys of variation in pathogen population and their application to disease control. In: JONES, G. (Ed.). **The epidemiology of plant diseases.** Dordrecht: Kluwer, 1998. p.73-102.
- CAMARGO, L.E.A. Mecanismos de variabilidade genética de agentes fitopatogênicos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos.** São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. P.455-469.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology.** New York: John Wiley & Sons, 1990. 532p.
- CASELA, C.B.; GUIMARÃES, F.B. Especialização fisiológica de fungos fitopatogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas,** Passo Fundo, v.4, p.75-93, 1996.
- CEAGEPE. **Procedência e quantidade dos produtos comercializados na CEASA-PE, 2000.** [online]. Recife: Companhia de Abastecimento e Armazéns de Pernambuco, 2000. [citado em 14.06.2000]. Disponível na Internet: <<http://www.ceagepe.com.br>>.
- COPR. **Pest control in tropical root crops.** London: Center for Overseas Pest Research, 1978. 235p. (PANS. Manual, 4).
- ELLIS, M.B. **Dematiaceous hyphomycetes.** Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971. 608p.

- EMATER/IPA. **Sistemas de produção para cará da costa:** Agreste Setentrional, Agreste Meridional e Mata Norte. Recife: Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Pernambuco/ Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, 1985. 48p. (EMATER/IPA. Série Sistema de Produção. Boletim, 11).
- FARR, D.F.; BILLS, G.F.; CHAMURIS, G.P.; ROSSMAN, A.Y. **Fungi on plants and plant products in the United States.** St. Paul: APS Press, 1989. 1252p.
- GRIFFIN, D.H. **Fungal physiology.** 2nd ed. New York: Wiley-Liss, 1994. 458p.
- MAFRA, R.C. **Recomendações técnicas para o cultivo do cará.** Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1986. 15p.
- MEDEIROS, A.G.; AQUINO, M.L.N. **Ocorrência de *Curvularia maculans* (Bancroft) Boedijn var. *macrospora*, nova variedade, em folhas de cará (Dioscoreaceae) no Estado de Pernambuco.** Recife: IPA, 1964. 10p. (IPA. Boletim Técnico, 7).
- MICHEREFF, S.J.; MAFFIA, L.A.; NORONHA, M.A.; PEDROSA, R.A.; COELHO, R.S.B. Levantamento da intensidade da queima das folhas do inhame, causada por *Curvularia eragrostidis*, na Zona da Mata de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.24, n.4, p.556-560, 1999a.
- MICHEREFF, S.J.; PEDROSA, R.A.; NORONHA; M.A.; MARTINS, R.B. . Influencia de la irrigación en el atizonamiento de las hojas de ñame (*Dioscorea cayennensis*) por *Curvularia eragrostidis* en el N.E. de Brasil. **Boletín Micológico**, Valparaíso, v.14, n.1-2, p.49-56, 1999b.
- MIGNUCCI, J.S.; GARCIA, M.C.; VIADE, H.C. **Enfermedades, plagas y deficiencias nutricionales de las plantas de ñame.** Mayaguez: Universidad de Puerto Rico, 1985. 24p.

- MOURA, R.M. Doenças do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam. var. *rotundata* Poir). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Eds.). **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.463-471.
- SANTOS, E.S. **Inhame (*Dioscorea spp.*)**: aspectos básicos da cultura. João Pessoa: EMEPA-PB/SEBRAE, 1996. 158p.
- SIVANESAN, A. *Cochliobolus eragrostidis*. **Mycopathologia**, Dordrecht, v.111, p.113-114, 1990. (CMI Descriptions of Fungi and Bacteria, 1002).
- WALKER, J.C. **Patología vegetal**. Trad. 2. ed. Barcelona: Omega, 1973. 818p.

Capítulo II

VARIABILIDAD DE AISLADOS DE *Curvularia eragrostidis* CAUSANDO ATIZONAMIENTO DE LAS HOJAS DE ÑAME (*Dioscorea cayennensis*) EN EL ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL

**VARIABILIDAD DE AISLADOS DE *Curvularia eragrostidis* CAUSANDO
ATIZONAMIENTO DE LAS HOJAS DE ÑAME (*Dioscorea cayennensis*)
EN EL ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL***

*Variability of *Curvularia eragrostidis* isolates causing leaf blight of yam (*Dioscorea cayennensis*) in Pernambuco State, Brazil*

H. Paula, S.J. Michereff, V.S. Oliveira, S.M.A. Oliveira & D. Laranjeira**

Área de Fitossanidade, Departamento de Agronomia,

Universidade Federal Rural de Pernambuco,

52171-900, Recife, PE, Brasil (e-mail: michereff@uol.com.br)

Palabras clave: variabilidad, *Curvularia eragrostidis*, ñame, *Dioscorea cayennensis*,
sensibilidad a iprodione

Key words: variability, *Curvularia eragrostidis*, yam, *Dioscorea cayennensis*, iprodione
sensitivity

*Parte de la disertación de Maestría del primer autor presentada al Programa de Posgrado en Fitosanidad de la Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.

**Bolsista del Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasília, Brasil.

RESUMEN

*El atizonamiento de las hojas, causado por **Curvularia eragrostidis**, constituye una importante enfermedad del ñame en el noreste brasileño, no obstante, no existen estudios acerca de la variabilidad del patógeno. Con objetivo de caracterizar la variabilidad de **C. eragrostidis**, fueron evaluados 42 aislados obtenidos de áreas de plantio de ñame del Estado de Pernambuco. En el estudio de los componentes epidemiológicos, plantas de ñame, cv. Da Costa, fueron inoculadas con los aislados de **C. eragrostidis** (1×10^4 conidios/ml) e evaluadas diariamente cuanto a presencia y severidad de los síntomas de atizonamiento, sendo obtenidos el periodo de incubación (PI) y la area bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE). Cada aislado fue también evaluado “in vitro” cuanto a las características fisiológicas como tasa de crecimiento micelial (TCM), esporulación (ESP) y germinación del conidios (GER), así como en relación a la sensibilidad al fungicida iprodione, evaluada por el dosis del fungicida suficiente para inhibir 50% del crecimiento micelial (DL_{50}) y por el porcentaje de inhibición de la germinación de los conidios (IGC). Fueron constatadas diferencias significativas ($P=0,05$) entre los aislados de **C. eragrostidis** en relación a todas las variables evaluadas, siendo posible la separación de los aislados en diferentes grupos de similaridad por la prueba de Scott-Knott. No fueron constatadas correlaciones significativas ($P=0,05$) de las variables asociadas a la enfermedad (PI y ABCPE) con las demás variables (TCM, ESP, GER, DL_{50} y IGC). Utilizando el conjunto de las variables, el análisis de la distancia Euclidiana por ligaciones simples permitió la separación de los 42 aislados de **C. eragrostidis** en siete grupos de similaridad. Los resultados obtenidos indican la existencia de variabilidad entre los aislados del patógeno causando atizonamiento de las hojas en diferentes áreas de cultivo de ñame de Pernambuco.*

SUMMARY

Leaf blight, caused by *Curvularia eragrostidis*, is one of the main diseases of the yam in Brazilian Northeast, however studies on the pathogen variability are inexistent. In order to characterize the variability of *C. eragrostidis*, 42 strains obtained from yam fields in the Pernambuco State were evaluated. In the epidemiological components study, yam plants, cv. Da Costa, were inoculated with strains of *C. eragrostidis* (1×10^4 conidia/ml) and evaluated daily for occurrence and severity of disease symptoms, to record incubation period (IP) and area under disease progress curve (AUDPC). Strains were evaluated "in vitro" for micelial growth rate (MGR), sporulation (SP) and germination of conidia (GER), as well as for sensitivity to iprodione, evaluated by the lethal dose which inhibited 50% of micelial growth (DL_{50}), and percentage of inhibition of conidium germination (ICG). There were significant differences ($P=0.05$) among the strains of *C. eragrostidis* in relation to all variables, resulting in different similarity groups of strains according to the Scott-Knott test. There were no significant correlation ($P=0.05$) between the variables associated with disease (IP and AUDPC) and the other variables studied (MGR, SP, GER, DL_{50} y ICG). When all variables were analyzed by the Euclidean distance (single linkage), the 42 strains were gathered into seven similarity groups. Therefore, there is variability among the strains of *C. eragrostidis*, which causes leaf blight of yam in different planting areas in Pernambuco.

INTRODUCCIÓN

El atizonamiento de las hojas ("quema"), causado por *Curvularia eragrostidis* (Henn.) Meyer [teleomorfo *Cochliobolus eragrostidis* (Tsuda & Ueyama) Sivanesan], es una de las principales enfermedades del ñame (*Dioscorea cayennensis* Lam.) en el Estado de

Pernambuco, noreste brasileño, dónde ocurre regularmente en las áreas de producción durante el año entero, pudiendo alcanzar elevada incidência y severidad (Michereff *et al.*, 1999). Los síntomas del atizonamiento se caracterizan por manchas necróticas en las hojas, con coloración café oscura, de 2 a 3 cm de diámetro y frecuentemente rodeadas por una aureola amarilla (Moura, 1997). Un gran número de lesiones pueden causar el completo desfoliamiento de la planta, y reducciones de 35 a 40 % en el peso de los tubérculos comerciales (Emater/Ipa, 1985).

Los restos de los cultivos y los tubérculos-semillas infestadas constituyen las fuentes principales de inóculo primario de *C. eragrostidis* en plantaciones del ñame (Mignucci *et al.*, 1985). Además, el inóculo fúngico puede provenir de otros hospedadores, debido a que esta especie es causante de enfermedades en más de 80 taxa vegetales (Sivanesan, 1990). La principal medida de control del atizonamiento de las hojas se basea en pulverizaciones después del aparecimiento de los primeros síntomas, con productos en base al mancozeb, triadimenol e tebuconazole (Michereff *et al.*, 1999).

En el desarrollo de estrategias del control de las enfermedades de las plantas, es importante conocer la variabilidad de las poblaciones del patógeno, lo que puede determinar el potencial de adaptación del organismo a las condiciones adversas. Aún que los tipos de variabilidad más frecuentemente estudiadas en poblaciones de patogenos sean adaptación a diferentes genótipos del hospedero y respuesta a fungicidas, estudios envolviendo la biología del patógeno y componentes epidemiológicos de la enfermedad pueden constituir importantes instrumentos de la investigación (Brown, 1998).

No obstante el atizonamiento de las hojas del ñame haber sido reportada por la primera vez en Brasil, en Pernambuco, hace más de 35 años (Medeiros & Aquino, 1964), hasta el momento no existen estudios acerca de la variabilidad del patógeno.

Este trabajo tuvo como objetivo caracterizar la variabilidad de aislados de *C. eragrostidis*, provenientes de áreas de plantio de ñame de la region de la Zona da Mata de

Pernambuco, con base en componentes epidemiológicos, características fisiológicas y sensibilidad al fungicida iprodione.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislados de *Curvularia eragrostidis*. Fueron utilizados 42 aislados de *C. eragrostidis*, obtenidos de hojas de ñame con síntomas del atizonamiento colectadas en distintas áreas de plantio de la región de la Zona da Mata de Pernambuco, durante los años de 1998 y 1999 (Tabla 1). Para la obtención de los aislados, las hojas con síntomas fueron colocadas en cámara húmeda, constituida de caja tipo gerbox con esponja humedecida en agua destilada y sobrepuesta por tela plástica, y mantenidas a temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ bajo alternación luminosa (12 horas claro/12 horas oscuro). Después de cinco días, las estructuras del hongo fueron transferidas para placas de Petri conteniendo medio del cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), suplementado con 0,01% de tetraciclina. Las estructuras del hongo fueron transferidas para tubos de ensayo conteniendo PDA después de cinco días y posteriormente mantenidas a temperatura de 5°C .

Variabilidad de los aislados de *Curvularia eragrostidis* basada en componentes epidemiológicos. Plantas de ñame, variedad "Da Costa", con cuatro meses de edad y mantenidas en invernadero, fueron inoculadas en la parte aérea con los aislados de *C. eragrostidis*, en la concentración de 1×10^4 conidios/ml. La multiplicación y la preparación del inóculo, así como la inoculación, seguirán procedimientos previamente descritos por Michereff *et al.* (1994). Después de la inoculación, las plantas fueron mantenidas en cámara húmeda por 36 horas, constituida de bolsas de polietileno, y posteriormente en condiciones normales de invernadero.

Las evaluaciones fueron realizadas diariamente, hasta 15 días después de la inoculación, cuanto a presencia y severidad de los síntomas del atizonamiento. La severidad (porcentaje de área foliar lesionada) fue evaluada con el auxilio de una escala diagramática de 0 a 32% de área foliar lesionada (Michereff, 1998). Los aislados de *C. eragrostidis* fueron caracterizados en relación a: periodo de incubación (PI), determinado por lo número de días entre la inoculación y el apareamiento de los síntomas, y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), calculada según Shaner & Finney (1977).

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con cinco repeticiones, donde cada repetición consistía de cuatro folíolos. Durante el periodo de ejecución del experimento, la temperatura en el invernadero fue de $28,7 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$ y la humedad relativa de $68,8 \pm 5,3\%$.

Variabilidad de los aislados de *Curvularia eragrostidis* basada en características fisiológicas. Cada aislado del patógeno fue evaluado cuanto a la tasa de crecimiento micelial (TCM), esporulación (ESP) y germinación del conidios (GER). Para obtención de la TCM, discos de medio PDA con 6 mm de diámetro, conteniendo crecimiento de los aislados de *C. eragrostidis* con ocho días de edad, fueron transferidos para el centro de placas de Petri conteniendo PDA. Las placas fueron incubadas a la temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, bajo alternación luminosa. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con cuatro repeticiones, donde cada repetición consistía de una placa. El crecimiento micelial de cada aislado fue evaluado diariamente, en mm, hasta seis días de la incubación, por la medición del diámetro de la colonia en dos sentidos diametralmente opostos, con el auxilio de una regla milimetrada, y cálculo de la media por placa. Los calores de crecimiento micelial (y) fueron linearizados para $\text{logit}(y) = \ln[y/(1-y)]$ (Bergamin Filho, 1995) y ajustados al modelo de regresión lineal simple, con el tiempo (en días) como variable independiente y crecimiento micelial (mm) como la variable dependiente. La TCM (en mm/día) fue estimada por el

parámetro b de la ecuación de regresión. La linearización logit (y) fue utilizada por permitir un excelente ajuste de los datos ($r^2 > 95\%$) en la mayoría de los casos (92%).

La ESP fue evaluada a los 10 días de incubación, por la adicción de 20 ml de agua destilada esterilizada en cada placa utilizada para evaluation del crecimiento micelial, raspadura de las colônias con cepillo de cerdas suaves y filtración en camada dupla de gaza esterilizada, para la posterior determinación de la concentración de conidios (conidios/ml) con el auxilio de hemacitómetro.

En la evaluación de la GER fue utilizado el método de la deposición de gota sobre lámina (Dhingra & Sinclair, 1995), siendo utilizada la suspensión de conidios obtenida para la evaluación de la esporulación. Después de la homogeneización de la suspensión de conidios por agitación manual, fueron retirados 0,2 ml y depositados sobre una lámina de vidrio, acondicionada en cámara húmeda, constituida de placa de Petri con três camadas de papel de filtro humedecido en agua destilada. El conjunto fue mantenido a temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$ bajo luminosidad contínua. Después de seis horas de incubación, una gota de azul de Aman fue depositada sobre la suspension de conidios contenida en la lámina, procediendo al contaje del número de conidios germinados y no germinados, en microscopio ótico. Fue considerado como conidio germinado aquel que presentava el largor del tubo germinativo con por lo menos, dos veces su mayor anchura. Para efecto de cálculo, fue obtenida la média de 50 esporas en dos campos de microscopio por repetición, bajo aumento de 40x, determinandose el porcentaje de germinación de conidios. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con cuatro repeticiones, donde cada repetición consistía de una lámina.

Variabilidad de los aislados de *Curvularia eragrostidis* baseada en la sensibilidad al fungicida iprodione. La sensibilidad de los aislados de *C. eragrostidis* al iprodione fue evaluada por el dosis del fungicida suficiente para inhibir 50% del crecimiento micelial (DL_{50}) y por el porcentaje de inhibición de la germinación de los conidios (IGC).

En la determinación de la DL₅₀ fue utilizado el método del fungicida incorporado al medio de cultivo (Hickey, 1986). Discos de PDA con 6 mm de diámetro, conteniendo crecimiento de los aislados, fueron transferidos para placas con PDA, suplementado con 0.25, 0.5, 1, 5 y 10 ppm de iprodione (Rovral, 50% p.a.; Rhodia Agro). En el testigo, el crecimiento fúngico fue transferido para el medio PDA sin la suplementación con el fungicida. Las placas fueron incubadas a la temperatura de 25±2°C, bajo alternación luminosa. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con cuatro repeticiones, donde cada repetición consistía de una placa. El crecimiento micelial fue evaluado a los seis días de incubación, por la medición del diámetro de la colonia en dos sentidos diametralmente opostos, con el auxilio de una regla milimetrada. Considerando el crecimiento máximo verificado en el testigo, fue calculada el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en las distintas dosificaciones, según Edington *et al.* (1971). Con los datos obtenidos, la DL₅₀ fue estimada por la analisis de Probit, según Finney (1971), teniendo dosis (en ppm) como variable independiente y porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (mm) como variable dependiente.

En la evaluación de la IGC fue utilizado el método de la deposición de gota sobre lámina (Dhingra & Sinclair, 1995). En cada placa de Petri conteniendo crecimiento de *C. eragrostidis* con seis días de edad en medio PDA, fueron adicionados 10 ml de suspensión acuosa de iprodione en la concentración de 10 ppm. El testigo consistió en la adición de agua destilada esterilizada, sin la presencia del fungicida. En seguida, fueron efectuadas la raspadura de la superficie del crecimiento fúngico con el auxilio de cepillo de cerdas suaves y la filtración de la suspensión en camada dupla de gaza esterilizada. Después de la homogenización de la suspensión, fueron retirados 0,2 ml y depositados sobre una lámina de vidrio, siendo seguidos los mismos procedimientos de incubación y evaluación descritos en el análisis de la germinación de los conidios. Considerando la germinación de conidios verificada en el testigo, fue calculada el porcentaje de inhibición de la germinación de

conidios, conforme formula de Edington *et al.* (1971). El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con cuatro repeticiones, donde cada repetición consistía de una lámina.

Análisis de los datos. Considerando las variables aisladamente, los datos fueron sometidos al análisis de varianza y las medias de los aislados comparadas por la prueba de Scott-Knott (5%). Adicionalmente, fue evaluada la correlación entre las variáveis, por el analisis de correlación de Pearson (5%). Considerando el conjunto de las variables, fue efectuado el agrupamiento de los aislados basado en los niveles de similaridad, por el análisis de la distancia Euclidiana por ligaciones simples. Todas las análisis estadísticas fueron efectuadas con el auxilio del programa STATISTICA'99 for Windows (StatSoft Inc., Tulsa - OK, USA, 1999).

RESULTADOS

Variabilidad de los aislados de *Curvularia eragrostidis* basada en componentes epidemiológicos. Los 42 aislados de *C. eragrostidis* demostraron patogenicidad cuando inoculados en plantas de ñame, cv. Da Costa, ocasionando síntomas típicos del atizonamiento de las hojas. Fueron constatadas diferencias significativas ($P=0,05$) entre los aislados cuanto al período de incubación (PI) y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), siendo posible la separación de los aislados en dos grupos de similaridad en cada variable por la prueba de Scott-Knott (Tabla 1). El PI del atizonamiento de las hojas del ñame varió de 5,00 a 14,50 días, valores referentes a los aislados CE-2 y CE-10 en el límite inferior y al aislado C-23 en el límite superior, mientras los valores de ABCPE variaron entre 1,38 a 18,00, referentes a los aislados CE-23 y CE-2, respectivamente. Fue constatada correlación negativa

significativa ($P=0,05$) entre PI y ABCPE (Tabla 2).

Variabilidad de los aislados de *Curvularia eragrostidis* basada en características fisiológicas. Cuando consideradas las características fisiológicas, fueron constatadas diferencias significativas ($P=0,05$) entre los aislados de *C. eragrostidis* (Tabla 1). Por la prueba de Scott-Knott, fue posible la distinción de dos grupos de similaridad entre los aislados en relación a tasa de crecimiento micelial (TCM), siendo para esporulación (ESP) y germinación de conidios (GER) fueron constatados cinco y cuatro grupos de similaridad, respectivamente (Tabla 1). No fueron constatadas correlaciones significativas ($P=0,05$) entre las diferentes características fisiológicas de los aislados de *C. eragrostidis* (Tabla 2).

Variabilidad de los aislados de *Curvularia eragrostidis* basada en la sensibilidad al fungicida iprodione. Fueron constatadas diferencias significativas ($P=0,05$) entre los aislados de *C. eragrostidis* cuanto a la sensibilidad al fungicida iprodione (Tabla 1). Cuando considerada la DL_{50} , los aislados del patógeno fueron separados en tres grupos de similaridad por la prueba de Scott-Knott, siendo verificados seis grupos de similaridad en relación a inhibición de la germinación de conidios (IGC) (Tabla 1). Los aislados CE-17, CE-24 y CE-38 presentaron los mayores valores de DL_{50} , indicando menor sensibilidad del crecimiento micelial al fungicida, diferenciando significativamente ($P=0,05$) de los demás. En relación a la inhibición de la germinación de conidios, los aislados CE-18, CE-28 y CE-36 evidenciaron la menor sensibilidad al fungicida, diferenciando significativamente ($P=0,05$) de los demás. No fue constatada correlación significativa ($P=0,05$) entre DL_{50} y IGC (Tabla 2).

Agrupamiento general de los aislados de *Curvularia eragrostidis*. No fueron constatadas correlaciones significativas ($P=0,05$) de las variables asociadas a la enfermedad (PI y ABCPE) con las demás variables (TCM, ESP, GER, DL_{50} y IGC). Utilizando el conjunto de

las variables evaluadas, el análisis de la distancia Euclidiana por ligaciones simples permitió la separación de los aislados de *C. eragrostidis* en siete grupos de similaridad, cuando considerada la distancia de ligación 30 (Figura 1). Los aislados CE-34, CE-10, CE-14, CE-35 y CE-20 constituyeron, individualmente, cinco grupos de similaridad distintos, mientras los aislados CE-32, CE-26, CE-22 y CE-12 constituyeron un otro grupo. Los demás aislados constituyeron un mismo grupo de similaridad.

DISCUSIÓN

La variabilidad entre los aislados de *C. eragrostidis* quedó evidenciada por las diferencias en la velocidad con que los síntomas del atizonamiento de las hojas se manifestaron en las plantas de ñame inoculadas y en el desarrollo de la enfermedad después del apareamiento de los primeros síntomas, por las diferencias en las características fisiológicas, como tasa de crecimiento micelial, esporulación y germinación de los conidios, así como por las diferencias en la sensibilidad al fungicida iprodione, aun que no haya sido reportada especialización fisiológica para el patógeno (Sivanesan, 1990),

Considerando que lo atizonamiento de las hojas del ñame es una enfermedad policíclica (Michereff, 1998), la velocidad de la epidemia es muy influenciada por el período de incubación (Hau & Vallavieille-Pope, 1998). Por tanto, la correlación negativa entre período de incubación y área bajo la curva de progreso de la enfermedad indica que la cantidad del atizonamiento de las hojas está inversamente relacionada al tiempo de inicio de los síntomas, pareciendo al relatado en otros patosistemas (Parlevliet, 1979; Hau & Vallavieille-Pope, 1998).

La ausencia de correlaciones significativas entre tasa de crecimiento micelial, esporulación y germinación de conidios de los aislados de *C. eragrostidis* indica la

independencia entre esas variables y se parece a lo verificado en otros estudios (Griffin, 1994).

Las variaciones en la sensibilidad a iprodione entre los aislados de *C. eragrostidis*, verificada en este estudio, confirman las observaciones de Hau & Vallavieille-Pope (1998) de que aunque los aislados de un patógeno puedan ser caracterizados por su variabilidad patogênica, también pueden ser definidas sub-poblaciones dentro de poblaciones de los patógenos en relación a la resistência a fungicidas. Hongos fitopatogénicos que producen esporas asexuales multinucleados, como en el caso de *C. eragrostidis* (Sivanesan, 1990), pueden producir micélio heterocariótico conteniendo núcleos sensibles y resistentes al fungicida. Esos heterocarions son capaces de crecer en la presencia o ausencia del fungicida y, por tanto, capacitan al patógeno a mantener núcleos resistentes y sensibles en la población y a adaptar para cualquier presión de selección dentro del ambiente (Summers *et al.*, 1984).

La ausencia de correlaciones significativas entre DL_{50} e inhibición de la germinación, indica que la sensibilidad de los aislados de *C. eragrostidis* a iprodione es independiente para crecimiento micelial y germinación de conidios.

La presencia de aislados de *C. eragrostidis* con baja sensibilidad a iprodione es sorprendente, una vez que esse fungicida no ha sido utilizado para el control del atizamiento de las hojas del ñame en la Zona da Mata de Pernambuco (Michereff *et al.*, 1999) y la acumulación de mutantes resistentes en poblaciones fúngicas depende, entre otros factores, de la presión de selección ejercida por la frecuencia de aplicación del fungicida (Kendall & Hollomon, 1998).

La ausencia de correlaciones significativas de las variables asociadas a la enfermedad con las demás variables indica la poca validad de las características fisiológicas y de la sensibilidad al fungicida iprodione en la detección de variabilidad patogênica en poblaciones de *C. eragrostidis*, apesar del esfuerzo que ha sido devotado al estudio de la variabilidad en fitopatógenos basada en características otras que relacionadas a patogenicidad (Brown,

1998). A ejemplo del verificado en el presente estudio, Oliveira *et al.* (1998) verificó gran variabilidad morfológica y fisiológica en relación a aislados de *Bipolaris sorokiniana*, sin embargo, sin correlaciones significativas con la virulencia en cultivares de trigo. Al evaluar la variación patogênica y fisiológica de aislados de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, Tanaka & Menten (1992) constataron correlación significativa entre esporulación y severidad de la antracnosis en algodón, mas no entre crecimiento micelial y severidad.

Aunque el surgimiento de resistencia al iprodione pueda implicar en la reducción de la virulencia o agresividad de los aislados resistentes (Fuchs & Waard, 1982), no fueron verificadas correlaciones consistentes entre la velocidad de inducción de los síntomas o intensidad del atizonamiento de las hojas en ñame y la sensibilidad al iprodione entre los aislados de *C. eragrostidis*. Además, en el presente estudio a la sensibilidad al iprodione no estuvo asociada con la capacidad de crecimiento micelial, esporulación o germinación de conidios. Resultados diferentes fueron obtenidos por Huang & Levy (1995) al caracterizar aislados de *Alternaria brassicicola* resistentes al iprodione, una vez que la mayoría de los aislados presentó colonias menores que los aislados salvajes en medio PDA, así como menor esporulación y cantidad de enfermedad en hojas destacadas de bróculis.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican la existencia de variabilidad entre los aislados de *C. eragrostidis* causando atizonamiento de las hojas del ñame en diferentes áreas de cultivo del Estado de Pernambuco. Las causas del surgimiento de la variabilidad entre los aislados de *C. eragrostidis* quedan desconocidas, siendo poco probable que la variabilidad del patógeno estea asociada a la adaptación a los diferentes genótipos del hospedero, una vez que en los campos de producción de la Zona da Mata de Pernambuco predomina una única cultivar, conocida vulgarmente por "Da Costa", con elevado valor económico de las túberas y alta susceptibilidad a el atizonamiento (Michereff *et al.*, 1999). El hecho de que *C. eragrostidis* posee esporas multinucleados (Sivanesan, 1990), puede gerar la manifestación de vários

fenótipos, así como la ocurrencia de fenómenos como heterocariosis y ciclo parasexual puede explicar, en parte, la variabilidad patogénica y fisiológica de este microorganismo. Además, visto que ya fue descrito el teleomorfo de *C. eragrostidis* bajo condiciones de laboratorio (Tsuda & Ueyama, 1985), la variabilidad entre los aislados puede también ser debido a la ocurrencia del ciclo sexual.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos al Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasília - DF, Brasil), por el apoyo financiero.

REFERENCIAS

Bergamin Filho, A. (1995). Curvas de progresso da doença. In: **Bergamin Filho, A.; Kimati, H. & Amorim, L.** eds. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3. ed. Agronômica Ceres, São Paulo. v.1, pp.602-626.

Brown, J.K.M. (1998). Surveys of variation in pathogen population and their application to disease control. In: **Jones, G.** ed. The epidemiology of plant diseases. Kluwer, Dordrecht. pp.73-102.

Dhingra, O.D. & Sinclair, J.B. (1995). Basic plant pathology methods. 2. ed. Lewis Publishers. Boca Raton.

Edington, L.V.; Khew, K.L. & Barron, G.L. (1971). Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology* 61:42-44.

Emater/Ipa. (1985). Sistemas de produção para cará da Costa: Agreste Setentrional, Agreste Meridional e Mata Norte. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Pernambuco/Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, Recife.

Finney, D.J. (1971). Probit analysis. 2. ed. Cambridge University Press, Cambridge.

Fuchs, A. & Waard M.A. (1982). Resistance to ergosterol-biosynthesis inhibitors. I. Chemistry and phenomenological aspects. In: **Dekker, J. & Georgopoulos, S.G.** eds. Fungicide resistance in crop protection. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen. pp.71-86.

Griffin, D.H. (1994). Fungal physiology. 2. ed. Wiley-Liss, New York.

Hau, B. & Vallavieille-Pope, C. (1998). Wind-dispersed diseases. In: **Jones, G.** ed. The epidemiology of plant diseases. Kluwer, Dordrecht. pp.323-347.

Hickey, K.D. (1986). Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, St. Paul.

Huang, R. & Levy, Y. (1995). Characterization of iprodione resistant isolates of *Alternaria brassicicola*. *Plant Disease* 79:828-833.

Kendall, S.J. & Hollomon, D.W. (1998). Fungicide resistance. In: **Hutson, D.H. & Miyamoto, J.** eds. Fungicidal activity. John Wiley & Sons, New York. pp.87-108.

Medeiros, A.G. & Aquino, M.L.N. (1964). Ocorrência de *Curvularia maculans* (Bancroft) Boedijn var. *macrospora*, nova variedade, em folhas de cará (Dioscoreaceae) no Estado de Pernambuco. Instituto de Pesquisas Agronômicas, Recife.

Michereff, S.J. (1998). Queima das folhas do inhame: quantificação, levantamento da intensidade e dinâmica espaço-temporal. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. (Tese de Doutorado).

Michereff, S.J.; Maffia, L.A.; Noronha, M.A.; Pedrosa, R.A. & Coelho, R.S.B. (1999). Levantamento da intensidade da queima das folhas do inhame, causada por *Curvularia eragrostidis*, na Zona da Mata de Pernambuco. Fitopatologia Brasileira 24: 556-560.

Michereff, S.J.; Silveira, N.S.S.; Reis, A. & Mariano, R.L.R. (1994). Epiphytic bacteria antagonistic to *Curvularia eragrostidis*. Microbial Ecology 28:101-110.

Mignucci, J.S.; Garcia, M.C. & Viade, H.C. (1985). Enfermidades, plagas y deficiencias nutricionales de las plantas de ñame. Universidad de Puerto Rico, Mayaguez.

Moura, R.M. (1997). Doenças do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam. var. *rotundata* Poir). In: **Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M.** eds. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. Agronômica Ceres, São Paulo. pp.463-471.

Oliveira, A.M.R.; Matsumura, A.T.S.; Prestes, A.M.; Matos, G.S. & Van Der Sand S. (1998). Variabilidade patogênica e morfológica em isolados de *Bipolaris sorokiniana*. Fitopatologia Brasileira 23:349-353.

Parlevliet, J.E. (1979). Components of resistance that reduce of epidemic development. Annual Review of Phytopathology 17:203-222.

Shaner, G. & Finney, R.E. (1977). The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. Phytopathology 67:1051-1056.

Sivanesan, A. (1990). *Cochliobolus eragrostidis*. Mycopathologia 111:113-114.

Summers, R.W.; Heaney, S.P. & Grindle, M. (1984). Studies of a dicarboximide resistant heterokaryon of *Botrytis cinerea*. In: **Brighton Crop Protection Conference**, 1984. Proceedings. Pests and Diseases. pp.453-458.

Tanaka, M.A.S. & Menten, J.O.M. (1992). Variação patogênica e fisiológica de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em algodoeiro. Summa Phytopathologica 18:138-145.

Tsuda, M. & Ueyama, A. (1985). Two new *Pseudocochliobolus* and a new species of *Curvularia*. Transactions of the Mycological Society of Japan 26:321-330.

Tabla 1.- Variabilidad de aislados de *Curvularia eragrostidis* causando atizonamiento de las hojas de ñame en el Estado de Pernambuco, basada en componentes epidemiológicos, características fisiológicas y sensibilidad al fungicida iprodione.

Aislado	Origen	Componentes epidemiológicos		Características fisiológicas			Sensibilidad al iprodione	
		PI ¹ (días)	ABCPE ²	TCM ³ (mm/día)	ESP ⁴ (x10 ³ con/ml)	GER ⁵ (%)	DL ₅₀ ⁶ (ppm)	IGC ⁷ (%)
CE-1	Goiana	7,25 ⁸ b	7,38 a	0,68 b	40,67 c	24,93 c	0,58 b	59,34 d
CE-2	Goiana	5,00 b	18,00 a	0,77 a	38,67 c	14,31 c	0,47 c	75,65 b
CE-3	Goiana	8,75 b	7,25 a	0,73 a	192,67 a	15,88 c	0,45 c	59,32 d
CE-4	Goiana	7,50 b	8,00 a	0,70 a	85,33 c	20,63 c	0,42 c	61,65 d
CE-5	Goiana	8,00 b	11,25 a	0,75 a	38,00 d	13,38 c	0,50 c	91,76 a
CE-6	Goiana	11,50 a	4,50 b	0,68 b	28,67 d	10,39 c	0,50 c	82,58 b
CE-7	Condado	8,00 b	7,75 a	0,65 b	174,00 a	50,21 b	0,48 c	94,43 a
CE-8	Condado	10,50 a	5,13 b	0,72 a	63,33 c	12,26 c	0,55 b	92,00 a
CE-9	Condado	12,50 a	3,75 b	0,74 a	58,00 c	8,71 c	0,44 c	99,30 a
CE-10	Condado	5,00 b	10,50 a	0,70 a	93,33 b	85,33 a	0,53 c	86,08 b
CE-11	Goiana	7,00 b	10,38 a	0,73 a	68,67 c	17,71c	0,49 c	70,93 c
CE-12	Goiana	6,75 b	9,63 a	0,72 a	166,67 a	17,71 c	0,51 c	77,57 b
CE-13	Goiana	6,00 b	11,13 a	0,70 a	135,67 a	20,94 c	0,46 c	70,21 c
CE-14	Goiana	9,25 b	6,50 b	0,71 a	168,00 a	84,94 a	0,45 c	78,16 b
CE-15	Goiana	14,00 a	1,88 b	0,73 a	147,33 a	15,71 c	0,36 c	54,73 e
CE-16	Goiana	7,25 b	6,75 b	0,73 a	230,00 a	16,62 c	0,49 c	61,25 d
CE-17	Goiana	7,75 b	7,75 a	0,74 a	58,00 c	14,24 c	0,82 a	52,03 e
CE-18	Goiana	7,75 b	4,25 b	0,68 b	172,67 a	13,81 c	0,47 c	46,01 f
CE-19	Aliança	5,75 b	9,25 a	0,69 b	120,00 b	37,48 c	0,59 b	88,55 a
CE-20	Aliança	7,25 b	7,88 a	0,69 b	238,67 a	15,99 c	0,58 b	94,51 a
CE-21	Aliança	5,25 b	12,88 a	0,72 a	15,33 e	13,16 c	0,49 c	91,37 a
CE-22	Aliança	12,50 a	4,88 b	0,66 b	151,67 a	11,29 c	0,47 c	95,39 a
CE-23	Aliança	14,50 a	1,38 b	0,69 b	96,00 b	19,78 c	0,48 c	74,94 b
CE-24	Aliança	13,00 a	2,75 b	0,65 b	33,00 c	15,06 c	0,67 a	92,94 a
CE-25	Goiana	12,00 a	3,75 b	0,59 b	50,00 c	14,93 c	0,53 c	92,38 a
CE-26	Goiana	12,00 a	3,75 b	0,65 b	148,00 a	16,11 c	0,59 b	98,44 a
CE-27	Goiana	9,25 a	6,63 b	0,71 a	106,67 b	16,48 c	0,41 c	88,58 a
CE-28	Condado	7,75 b	7,88 a	0,66 b	69,33 c	23,55 c	0,43 c	43,32 f
CE-29	Condado	5,75 b	9,88 a	0,72 a	220,67 a	20,22 c	0,43 c	56,50 d
CE-30	Condado	7,75 b	8,75 a	0,65 b	238,67 a	21,70 c	0,39 c	61,25 d
CE-31	Condado	11,00 a	4,75 b	0,69 b	112,67 b	21,76 c	0,49 c	52,63 e
CE-32	Condado	11,50 a	3,25 b	0,74 a	146,67 a	5,36 c	0,48 c	94,93 a
CE-33	Condado	10,00 a	5,63 b	0,72 a	147,33 a	46,31 b	0,52 c	87,26 a
CE-34	Goiana	6,75 b	8,50 a	0,70 b	14,00 e	78,35 a	0,52 c	73,73 c
CE-35	Goiana	10,25 a	5,38 b	0,72 a	204,67 a	64,08 b	0,57 b	80,88 b
CE-36	Aliança	10,50 a	6,50 b	0,75 a	132,67 b	24,49 c	0,50 c	36,46 f
CE-37	Aliança	11,00 a	4,75 b	0,71 a	101,33 b	22,63 d	0,59 b	91,50 a
CE-38	Aliança	8,50 b	8,75 a	0,73 a	81,33 c	17,07 d	0,73 a	91,82 a
CE-39	Aliança	13,50 a	2,63 b	0,76 a	27,33 d	9,01 c	0,47 c	93,73 a
CE-40	Goiana	11,00 a	4,75 b	0,74 a	98,67 b	32,84 c	0,59 b	96,40 a
CE-41	Goiana	11,50 a	3,25 b	0,72 a	11,33 e	25,55 c	0,55 b	100,00 a
CE-42	Goiana	9,25 a	4,88 b	0,64 b	58,00 c	19,89 c	0,43 c	95,08 a
Média		9,22	6,76	0,70	109,13	25,02	0,51	78,23
C.V. (%) =		21,47	16,28	3,65	9,68	20,86	10,10	5,99

¹PI = periodo de incubación, número de días entre la inoculación y el apareamiento de los síntomas.

²ABCPE = área bajo la curva de progreso de la enfermedad, calculada según Shaner & Finney (1977).

Tabla 1.- Continuación ...

³TCM = tasa de crecimiento micelial, estimada por el parámetro b de la regresión lineal simple, utilizando los datos del crecimiento micelial (y) diario en medio PDA linearizados para logit ($y = \ln[y/(1-y)]$) (Bergamin Filho, 1995), teniendo tiempo (en días) como variable independiente y crecimiento micelial (mm) como variable dependiente.

⁴ESP = esporulación, evaluada a los 10 días de incubación en medio PDA bajo alternación luminosa.

⁵GER = germinación de conidios, evaluada por el método de la deposición de gota sobre lámina (Dhingra & Sinclair, 1995).

⁶DL₅₀ = dosis de iprodione suficiente para inhibir 50% del crecimiento micelial, determinación por el método del fungicida incorporado al medio de cultivo (Hickey, 1986) y estimada por el análisis de Probit (Finney, 1971).

⁷IGC = inhibición de la germinación de conidios, determinada por el método de la deposición de gota sobre lámina (Dhingra & Sinclair, 1995), considerando la concentración de 10 ppm de iprodione.

⁸Datos originales. Para efecto del análisis, los datos de PI, TCM y DL₅₀ fueron transformados en $(x)^{1/2}$, los datos de la GER y IGC en $(x+0,5)^{1/2}$ y los datos de ABCPE y ESP en $\log(x)$. Medias seguidas por la misma letra en la columna, no se diferencian significativamente entre sí (Scott-Knott 5%).

Tabla 2.- Matriz de correlación del periodo de incubación (PI), área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), tasa de crecimiento micelial (TCM), esporulación (ESP), germinación de conidios (GER), dosis letal 50% (DL₅₀) y inhibición de la germinación de conidios (IGC) de aislados de *Curvularia eragrostidis* causando atizonamiento de las hojas del ñame. Número de observaciones (Tabla 1) = 42.

Variable	PI	ABCPE	TCM	ESP	GER	DL ₅₀
ABCPE	-0,88*	-	-	-	-	-
TCM	-0,13	0,28	-	-	-	-
ESP	-0,13	-0,02	-0,05	-	-	-
GER	-0,26	0,13	-0,03	0,12	-	-
DL ₅₀	-0,01	-0,03	0,04	-0,23	0,04	-
IGC	0,26	-0,15	-0,10	-0,27	0,05	0,21

*Coeficientes de correlación de Pearson seguidos por el asterisco son significativos a P=0,05.

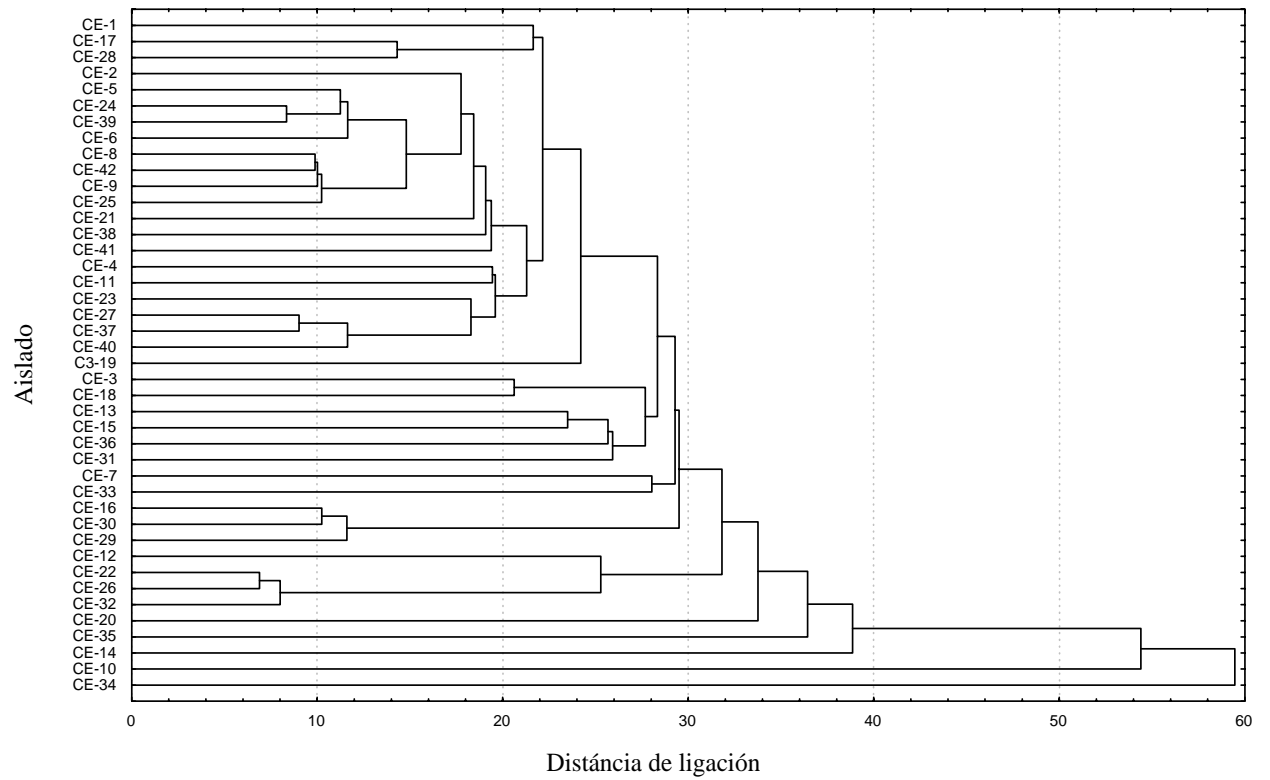


Figura 1.- Agrupamiento de 42 aislados de *Curvularia eragrostidis* procedentes de diferentes áreas de plantio de ñame del Estado de Pernambuco, basado en el análisis de la distancia Euclidiana por ligaciones simples, considerando los componentes epidemiológicos (PI y ABCPE), las características fisiológicas (TCM, ESP y GER) y la sensibilidad al fungicida iprodione (DL_{50} y IGC).

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- Os 42 isolados de *Curvularia eragrostidis* apresentaram variabilidade em relação aos componentes epidemiológicos da queima das folhas do inhame (período de incubação e área abaixo da curva de progresso da doença), características fisiológicas (taxa de crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios) e sensibilidade ao fungicida iprodione (dose do princípio ativo suficiente para inibir 50% do crescimento micelial e porcentagem de inibição da germinação de conídios);
- As variáveis associadas à doença não apresentaram correlações significativas com as variáveis associadas às características fisiológicas e de sensibilidade ao fungicida iprodione;
- Componentes epidemiológicos podem ser utilizados na detecção de variabilidade em isolados de *C. eragrostidis*;
- Características fisiológicas do patógeno comportaram-se como variáveis independentes, não podendo ser feitas correlações entre si;
- Os isolados apresentaram baixa sensibilidade ao fungicida iprodione nas concentrações testadas.