

# VARIABILIDAD DE AISLAMIENTOS DE *Curvularia eragrostidis* QUE CAUSAN ATIZONAMIENTO DE LAS HOJAS DE ÑAME (*Dioscorea cayennensis*) EN PERNAMBUCO, BRASIL\*

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

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 sensibility

## RESUMEN

El atizonamiento de las hojas de ñame (*Dioscorea cayennensis*), causado por *Curvularia eragrostidis*, constituye una importante enfermedad en el noreste brasileño, no obstante, no existen estudios acerca de la variabilidad de este patógeno. Con el objetivo de caracterizar la variabilidad de *C. eragrostidis*, se evaluaron 42 aislamientos obtenidos desde cultivos de ñame del Estado de Pernambuco. En el estudio de los componentes epidemiológicos, plantas de ñame (cv. Da Costa), fueron inoculadas con cepas de *C. eragrostidis* ( $1 \times 10^4$  conidios/ml), evaluándose diariamente en presencia y severidad de síntomas de atizonamiento, obteniéndose el periodo de incubación (PI) y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE).

Cada aislamiento fue también evaluado "in vitro" en relación a sus características fisiológicas: tasa de crecimiento micelial (TCM), esporulación (ESP), germinación de conidios (GER) y la sensibilidad al fungicida iprodione, evaluada mediante la dosis del fungicida suficiente para inhibir el 50% del crecimiento micelial ( $DL_{50}$ ) y por el porcentaje de inhibición de la germinación de los conidios (IGC).

Se constataron diferencias significativas ( $P=0,05$ ) entre los aislamientos de *C. eragrostidis* en relación a todas las variables evaluadas, separándolos en diferentes grupos de similaridad por la prueba de Scott-Knott. No se constataron correlaciones significativas ( $P=0,05$ ) entre 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 uniones simples permitió la separación de los 42 aislamientos de *C. eragrostidis* en 7 grupos de similaridad.

Los resultados obtenidos, indican la existencia de variabilidad entre los patógenos que causan 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 not available. In order to characterize the variability of *C. eragrostidis*, 42 strains obtained from yam fields in the Pernambuco State were evaluated. In the epidemiological component study, yam plants, cv. Da Costa, were inoculated with strains of *C. eragrostidis* ( $1 \times 10^4$  conidia/ml) and evaluated daily for occurrence and severity of disease symptoms, to record incubation period (IP) and the area under the disease curve progress (AUDCP). Strains were also analyzed "in vitro" in relation to their

\*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 y Tecnológico (CNPq), Brasília, Brasil.

*physiological characteristics: 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 the micelial growth (DL<sub>50</sub>) 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 evaluated, which permitted their separation in different similarity groups according to the Scott-Knott test. There were no significant correlations (P=0,05) among the variables associated with the disease (IP and AUDPC) and with other variables studied (MGR, SP, GER, DL<sub>50</sub> y ICG). When all variables were analyzed by the Euclidean distance (single linkage), the 42 strains were separated in seven similarity groups. Therefore, there is variability among the strains of C. eragrostidis, which cause leaf blight of yam in different planting areas in Pernambuco.*

## INTRODUCCION

El atizonamiento ("quema") de las hojas, 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, donde ocurre regularmente en las áreas de producción durante el año entero, pudiendo alcanzar elevada incidencia 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 de 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 30 taxa vegetales (Sivanesan, 1990). La principal medida de control del atizonamiento de las hojas se basa en pulverizaciones quincenales, preventivamente o después del apareamiento de los primeros síntomas, empleándose productos en base a Mancozeb (Santos, 1996; Moura, 1997).

En el desarrollo de las estrategias de 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. Aunque, los tipos de variabilidad

más frecuentemente estudiados en poblaciones de patógenos sin adaptación a diferentes genotipos del hospedero y respuesta a fungicidas, los estudios relacionados con la biología del patógeno y componentes epidemiológicos de la enfermedad pueden constituir importantes instrumentos de la investigación (Brown, 1998).

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

Nuestro objetivo fue evaluar la variabilidad de los aislamientos de *C. eragrostidis*, provenientes de áreas de plantaciones de ñame de la región de la Zona da Mata de Pernambuco, basándose en componentes epidemiológicos, características fisiológicas y sensibilidad al fungicida iprodione.

## MATERIALES Y METODOS

**Aislamientos.** Se emplearon 42 aislamientos de *C. eragrostidis*, de hojas de ñame con síntomas del atizonamiento, colectadas en distintas áreas de plantaciones de la Zona da Mata de Pernambuco, durante los años de 1998 y 1999 (Tabla 1). Para la obtención de las cepas, las hojas con síntomas fueron colocadas en cámara húmeda, en una caja tipo gerbox con esponja humedecida en agua destilada y envuelta por tela plástica, y mantenidas a temperatura de 25±2°C bajo alternancia lumínica (12 horas con luz/12 horas sin luz). Después de cinco días, las estructuras del hongo fueron transferidas a placas de Petri conteniendo agar papa dextrosa (PDA), suplementado con 0,01% de tetraciclina. Las estructuras del hongo fueron transferidas a tubos de ensayo conteniendo PDA después de 5 días y posteriormente mantenidas a temperatura de 5°C.

**Variabilidad de los aislamientos de *C. eragrostidis* basada en componentes epidemiológicos.** Plantas de ñame, variedad "Da Costa", con 4 meses de edad y mantenidas en invernadero, fueron inoculadas en la parte aérea con las cepas de *C. eragrostidis*, en una concentración de 1x10<sup>4</sup> conidios/ml. La multiplicación y la preparación del inóculo, así como la inoculación, se realizó según los procedimientos previamente descritos por Michereff *et al.* (1994). Después de la inoculación, las plantas fueron mantenidas en cámara húmeda por 36 horas (bolsas de polietileno) y posteriormente en condiciones normales de invernadero.

Las evaluaciones fueron realizadas diariamente, hasta 15 días después de la inoculación, acorde a la 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% del área foliar lesionada (Michereff, 1998). Las cepas

de *C. eragrostidis* fueron caracterizadas en relación a: período de incubación (PI), determinado por el número de días entre la inoculación y la aparición de los síntomas, y el 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 período 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 las cepas *C. eragrostidis* basada en sus características fisiológicas.** Cada cepa del patógeno fue evaluada según la tasa de crecimiento micelial (TCM) ( $\alpha$ ), esporulación (ESP) y germinación de los conidios (GER). Para la obtención de la TCM, discos de 6 mm de diámetro de PDA, con micelios y/o propágulos de *C. eragrostidis* de 8 días, fueron transferidos al centro de placas de Petri conteniendo PDA. Las placas fueron incubadas a la temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , bajo alternancia luminosa. El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro repeticiones. El crecimiento micelial de cada cepa fue evaluado diariamente en mm, hasta 6 días mediante el diámetro de la colonia en dos sentidos diametralmente opuestos y calculando la media por placa. Los valores de crecimiento micelial ( $y$ ) fueron linearizados para 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 el crecimiento micelial (mm), como 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 adición de 20 ml de agua destilada esterilizada en cada placa utilizada para determinar su crecimiento micelial. Un raspado de las colonias con cepillo de cerdas suaves y la filtración en doble gaza esterilizada, se utilizó para la posterior determinación de la concentración de conidios (conidios/ml) con el auxilio del hematocitómetro.

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 homogenización de la suspensión de conidios por agitación manual, se retiraron 0,2 ml y se depositaron sobre una lámina de vidrio, acondicionada en cámara húmeda, constituida por una placa de Petri con tres capas de papel filtro humedecido en agua destilada. El conjunto fue mantenido a temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  bajo luminosidad continua. Después de seis horas de incubación, se depositó una gota de azul de Aman sobre la suspensión de conidios contenida en la lámina, procediendo al recuento al

microscopio óptico del número de conidios germinados y no germinados. Como conidio germinado se consideraron los que presentaron el tubo germinativo con un largo de dos veces (como mínimo) su ancho. Para el cálculo, se obtuvo la media de 50 conidios con aumentos de  $400\times$ , determinándose el porcentaje de germinación de conidios. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con 4 repeticiones.

**Variabilidad de las cepas de *C. eragrostidis* basada en la sensibilidad al fungicida iprodione.** La sensibilidad de las cepas al iprodione fue evaluada por la dosis del fungicida que inhibió el 50% del crecimiento micelial ( $DL_{50}$ ) ( $\beta$ ) y por el porcentaje de inhibición de la germinación de los conidios (IGC) ( $\beta$ ).

En la determinación de la  $DL_{50}$  se utilizó el método del fungicida incorporado al medio de cultivo (Hickey, 1986). Discos de PDA de 6 mm de diámetro, conteniendo estructuras fúngicas, fueron transferidos a placas con PDA, suplementado con 0,25, 0,5, 1, 5 y 10 ppm de iprodione (Rovral, 50% p.a.; Rhodia Agro). Para el testigo, el crecimiento fúngico fue transferido al medio PDA sin la suplementación del fungicida. Las placas fueron incubadas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , bajo alternancia luminosa (12:12). El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con 4 repeticiones. El crecimiento micelial fue evaluado a los seis días de incubación, midiendo el diámetro de la colonia en dos sentidos diametralmente opuestos. Considerando el crecimiento máximo verificado en el testigo, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial con las distintas dosificaciones, según Edington *et al.* (1971). Con los datos obtenidos, se estimó la  $DL_{50}$  por el análisis de Probit, según Finney (1971), teniendo dosis (ppm) como variable independiente y porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (mm) como variable dependiente.

En la evaluación de la IGC se utilizó el método de la deposición de la gota sobre la lámina (Dhingra & Sinclair, 1995). En cada placa de Petri con estructuras de *C. eragrostidis* con 6 días de cultivo en PDA, se adicionaron 10 ml de suspensión acuosa de iprodione en una concentración de 10 ppm. El testigo consistió en la adición de agua destilada esterilizada, sin la presencia del fungicida. Luego se efectuó el raspado de la superficie del crecimiento fúngico, con el auxilio de cepillo de cerdas suaves y la filtración de la suspensión en doble gaza esterilizada. Después de la homogenización de la suspensión, fueron retirados 0,2 ml, depositándolos sobre una lámina de vidrio y se siguieron los mismos procedimientos de incubación y evaluación descritos en el análisis de la germinación de los conidios. Considerando la germinación de conidios verificada con el testigo, se calculó el porcentaje de inhibición de la germinación de conidios, según la fórmula de Edington *et al.* (1971). El diseño experimental utilizado

fue completamente al azar, con 4 repeticiones.

#### Análisis de los datos.

Los datos de PI, TCM y  $DL_{50}$  se transformaron en  $(x)^{1/2}$ , los de la GER y IGC en  $(x+0,5)^{1/2}$  y los de ABCPE y ESP en  $\log(x)$ . Considerando las variables aisladamente, los datos fueron sometidos a análisis de varianza y las medias de las cepas fueron comparadas por la prueba de Scott-Knott (5%). Adicionalmente, fue evaluada la correlación entre las variables, por el análisis de correlación de Pearson (5%). Considerando el conjunto de las variables, se efectuó agrupamiento de las cepas basándose en los niveles de similaridad, usando análisis de la distancia Euclidiana por uniones simples. Todos los análisis estadísticos fueron efectuados con el auxilio del programa STATISTICA '99 for Windows (StatSoft Inc., Tulsa - OK, USA, 1999).

## RESULTADOS

**Variabilidad de los aislamientos de *C. eragrostidis* basados en componentes epidemiológicos.** Los 42 aislamientos de *C. eragrostidis* al ser inoculados en plantas de ñame (cv. Da Costa), les ocasionaron patogenicidad, expresada por los síntomas típicos del atizonamiento de sus hojas. Se constataron diferencias significativas ( $P=0,05$ ) entre los aislamientos en cuanto al PI y el ABCPE, lo que permitió la separación en dos grupos de similaridad en cada variable, por la prueba de Scott-Knott (Tabla 1). El PI de atizonamiento de las hojas del ñame varió de 5 a 14,5 días (CE-2 y CE-10 en el límite inferior y C-23 en el límite superior), mientras los valores de ABCPE variaron entre 1,38 a 18,00 (CE-23 y CE-2, respectivamente). Se constató una correlación negativa significativa ( $P=0,05$ ) entre PI y ABCPE (Tabla 2).

**Variabilidad de los aislamientos de *C. eragrostidis* basada en características fisiológicas.** Al considerar las características fisiológicas, se constataron diferencias significativas ( $P=0,05$ ) entre los aislamientos de *C. eragrostidis*, en cuanto a las 3 características fisiológicas, lo que permitió la separación por la prueba de Scott-Knott, en dos grupos de similaridad para TCM, en 5 para ESP y 4 para GER (Tabla 1). No se constataron correlaciones significativas ( $P=0,05$ ) entre las diferentes características fisiológicas de los aislamientos de *C. eragrostidis* (Tabla 2).

**Variabilidad de los aislamientos de *C. eragrostidis* basada en la sensibilidad al fungicida iprodione.** Se constataron diferencias significativas ( $P=0,05$ ) entre los aislamientos de *C. eragrostidis* en cuanto a la sensibilidad al fungicida

iprodione, lo que permitió la separación por la prueba de Scott-Knott en 3 grupos de similaridad para  $DL_{50}$  y en 6 para IGC (Tabla 1). Los aislamientos CE-17, CE-24 y CE-38 representaron los mayores valores de  $DL_{50}$ , indicando menor sensibilidad del crecimiento micelial al fungicida, difiriendo significativamente ( $P=0,05$ ) de los demás. En relación a la IGC, los aislamientos CE-18, CE-28 y CE-36 evidenciaron la menor sensibilidad al fungicida, difiriendo significativamente ( $P=0,05$ ) de los demás. No fue constatada correlación significativa ( $P=0,05$ ) entre  $DL_{50}$  e IGC (Tabla 2).

**Agrupamiento general de los aislamientos de *C. eragrostidis*.** No se constataron correlaciones significativas ( $P=0,05$ ) de las variables asociadas a la enfermedad (PI y ABCPE) con las demás variables (TCM, ESP, GER,  $DL_{50}$  e IGC). Utilizando el conjunto de las variables evaluadas, el análisis de la distancia Euclidiana por uniones simples permitió la separación de los aislamientos de *C. eragrostidis* en siete grupos de similaridad, cuando se consideró la distancia de unión 30 (Figura 1). CE-34, CE-10, CE-14, CE-35 y CE-20 constituyeron, individualmente, cinco grupos de similaridad distintos, mientras CE-32, CE-26, CE-22 y CE-12 constituyeron otro grupo. Los demás, constituyeron un mismo grupo de similaridad.

## DISCUSION

La variabilidad entre los aislamientos 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, aún cuando no se ha reportado especialización fisiológica para el patógeno (Sivanesan, 1990).

Considerando que el 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 lo tanto, la correlación negativa entre PI y ABCPE, indica que la cantidad del atizonamiento de las hojas es inversamente relacionada al tiempo de inicio de los síntomas, semejando a lo relatado en otros patosistemas (Parlevliet, 1979; Hau & Vallavieille-Pope, 1998).

La ausencia de correlaciones significativas entre TCM, ESP y GER de los aislamientos de *C. eragrostidis* indican la independencia entre esas variables y semeja a lo verificado en otros estudios (Griffin, 1994).

Tabla 1.- Promedios de las variables epidemiológicas, fisiológicas y de sensibilidad al iprodione, para cada aislamiento de *C. Eragrostidis* analizada

Aislamiento	Origen	Componentes epidemiológicos		Características fisiológicas			Sensibilidad al iprodione	
		PI (días)	ABCPE	TCM (mm/día)	ESP ( $\times 10^5$ con/ml)	GER (%)	DL <sub>50</sub> (ppm)	IGC (%)
CE-1	Goiana	7,25 <sup>d</sup> 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	17,71 c	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
Media		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

Nota: En paréntesis la letra indica el grupo de similaridad respectivo, medias seguidas por la misma letra en la columna no se diferencian significativamente a la prueba de Scott-Knott.

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

ABCPE = Área bajo la curva de progreso de la enfermedad, calculada según Shaner & Finney (1977) (Continúa en la siguiente página)

- ( $\alpha$ ) TCM = Tasa de crecimiento micelial, estimada por el parámetro b de la regresión lineal simples, 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.  
 ESP = Esporulación, evaluada a los 10 días de incubación en medio PDA bajo alternación luminosa.  
 GER = Germinación de conidios, evaluada por el método de la gota sobre lámina (Dhingra & Sinclair, 1995).  
 ( $\beta$ ) DL<sub>50</sub> = 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).  
 IGC = Inhibición de la germinación de conidios, determinada por el método de la gota sobre lámina (Dhingra & Sinclair, 1995), considerando la concentración de 10 ppm de iprodione.

Tabla 2.- Correlación de Pearson por pares entre los promedios por aislamiento de las variables estudiadas

Variable	PI	ABCPE	TCM	ESP	GER	DL <sub>50</sub>
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 <sub>50</sub>	-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 significativo P=0,05.

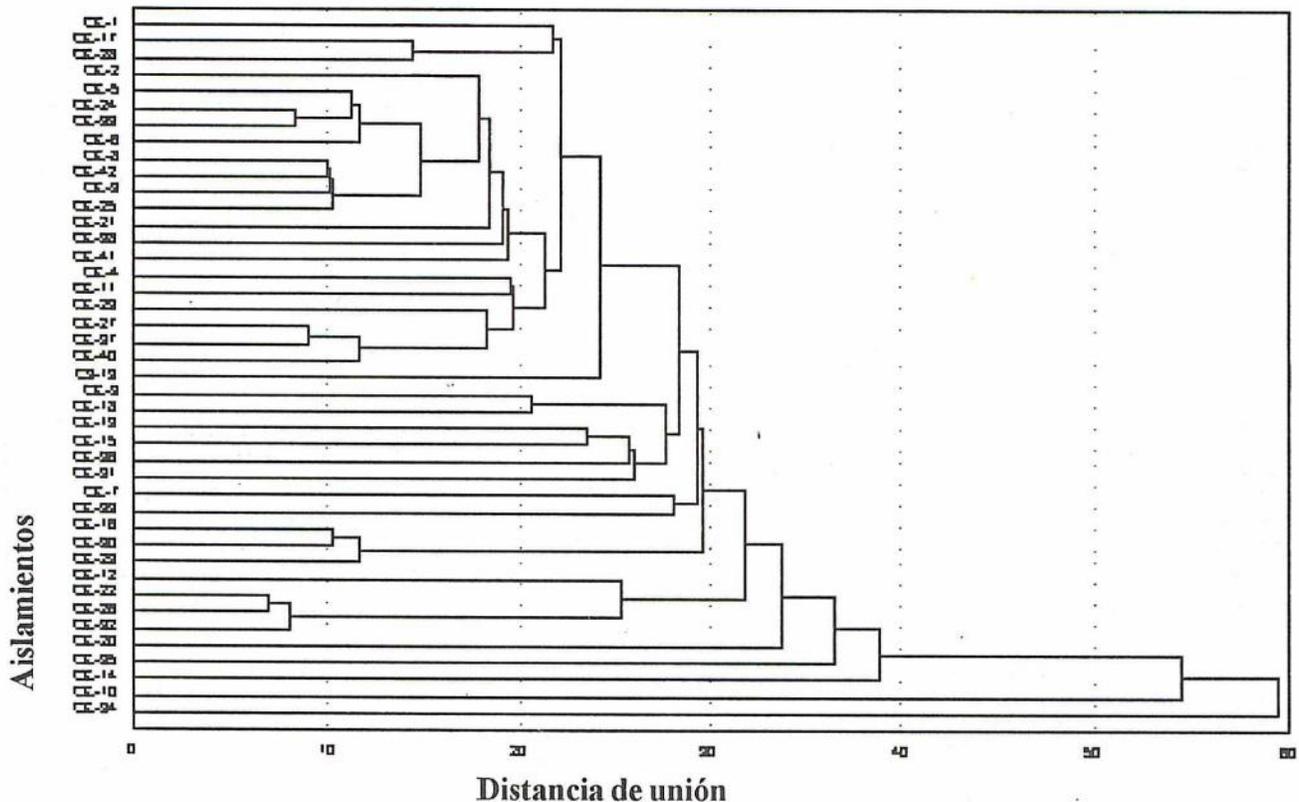


Figura 1.- Agrupamiento de 42 aislamientos de *C. eragrostidis* procedentes de diferentes áreas de plantaciones de ñame del Estado de Pernambuco, basado en el análisis de la distancia Euclidiana por uniones simples, considerando: componentes epidemiológicos (PI y ABCPE), características fisiológicas (TCM, ESP y GER) y la sensibilidad al fungicida iprodione (DL<sub>50</sub> e IGC).

Las variaciones en la sensibilidad a iprodione entre los aislamientos de *C. eragrostidis*, verificada en este estudio, confirman las observaciones de Hau & Vallavieille-Pope (1998), que aunque los aislamientos de un patógeno puedan ser caracterizados por su variabilidad patogénica, también pueden ser definidas sub-poblaciones dentro de sus poblaciones en relación a la resistencia a fungicidas. Los hongos fitopatogénicos que producen conidios multinucleados, como en el caso de *C. eragrostidis* (Sivanesan, 1990), pueden producir micelio heterocariótico, con núcleos sensibles y resistentes al fungicida. Estos heterocarion, son capaces de crecer en la presencia o ausencia del fungicida y, por lo tanto, capacitan al patógeno a mantener núcleos resistentes y sensibles en la población y a adaptarse para cualquier presión de selección dentro del ambiente (Summers *et al.*, 1984).

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

La presencia de cepas de *C. eragrostidis* con baja sensibilidad a iprodione es sorprendente, ya que este fungicida no ha sido utilizado para el control del atizonamiento de las hojas del ñame en la Zona da Mata de Pernambuco (Michereff *et al.*, 1999). 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 validez de las características fisiológicas y de la sensibilidad al fungicida iprodione, en la detección de variabilidad patogénica en poblaciones de *C. eragrostidis*, a pesar del esfuerzo dedicado al estudio de la variabilidad en fitopatógenos basada en características distintas a la patogenicidad (Brown, 1998). Tal como se constató en el presente estudio, Oliveira *et al.* (1998) verificaron gran variabilidad morfológica y fisiológica en cepas de *Bipolaris sorokiniana*, pero sin correlaciones significativas con la virulencia en cultivares de trigo. Al evaluar la variación patogénica y fisiológica de cepas de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, Tanaka & Menten (1992) constataron correlaciones significativas entre esporulación y severidad de la antracnosis en algodón, no así entre crecimiento micelial y severidad.

Aunque el surgimiento de resistencia al iprodione pueda influir en la reducción de la virulencia o agresividad de los aislamientos resistentes (Fuchs & Waard, 1982), no se verificaron correlaciones consistentes entre la velocidad de inducción de los síntomas o intensidad del atizonamiento de las hojas de ñame y la sensibilidad al iprodione entre los aislamientos de *C. eragrostidis*. Además en el presente

estudio, 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 cepas de *Alternaria brassicicola* resistentes al iprodione, ya que la mayoría presentó colonias menores que los tipos salvajes en el medio PDA, así como menor esporulación y cantidad de enfermedad en hojas de brócolis.

Es poco probable que la variabilidad del patógeno esté asociada a la adaptación a los diferentes genótipos del hospedero, ya que en los campos de producción de la Zona da Mata de Pernambuco, predomina un único cultivar, conocido vulgarmente por "Da Costa", con elevado valor económico de los tubérculos y alta susceptibilidad al atizonamiento (Michereff *et al.*, 1999). El hecho que *C. eragrostidis* posee conidios multinucleados (Sivanesan, 1990), puede generar la manifestación de varios fenotipos, así como la ocurrencia de fenómenos como la heterocariosis y el ciclo parasexual pueden explicar, en parte, la variabilidad patogénica y fisiológica de este microorganismo. Además, por la existencia del teleomorfo de *C. eragrostidis* bajo condiciones de laboratorio (Tsuda & Ueyama, 1985), la variabilidad entre los aislamientos puede también ser debida a la ocurrencia del ciclo sexual alternativo.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo indican la existencia de variabilidad entre los aislamientos de *C. eragrostidis*, causando atizonamiento de las hojas del ñame en diferentes áreas de cultivo del Estado de Pernambuco.

## 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 fitopatología: 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.** (1994). Epiphytic bacteria antagonistic to *Curvularia eragrostis* Microbial Ecology 28:101-110.
- Mignucci, J.S.; Garcia, M.C. & Viade, H.C.** (198). Enfermedades, plagas y deficiencias nutricionales de las plantas ñame. Universidad de Puerto Rico, Mayaguez.
- Moura, R.M.** (1997). Doenças do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam. var. *rotundata* Poir). In: **Kimati, H.; Amorim, L.; Bergam Filho, A.; Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M.** eds. Manual 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.; Matt G.S.; Van Der Sand S.** (1998). Variabilidade patogênica morfológica em isolados de *Bipolaris sorokiniana*. Fitopatologia Brasileira 23:349-353.
- Parlevliet, J.E.** (1979). Components of resistance that reduce epidemic development. Annual Review of Phytopathology 17:202-222.
- Santos, E.S.** (1996). Inhame (*Dioscorea* spp.): aspectos básicos cultura. Empresa Paraibana de Pesquisa Agropecuária, João Pessoa.
- Shaner, G. & Finney, R.E.** (1977). The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Kna wheat. Phytopathology 67:1051-1056.
- Sivanesan, A.** (1990). *Cochliobolus eragrostidis*. Mycopathology 111:113-114.
- Summers, R.W.; Heaney, S.P. & Grindle, M.** (1984). Studies a dicarboximide resistant heterokaryon of *Botrytis cinerea*. I Brighton Crop Protection Conference, 1984. Proceedings. Pest and Diseases. pp.453-458.
- Tanaka, M.A.S. & Menten, J.O.M.** (1992). Variação patogênica e fisiológica de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e 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.