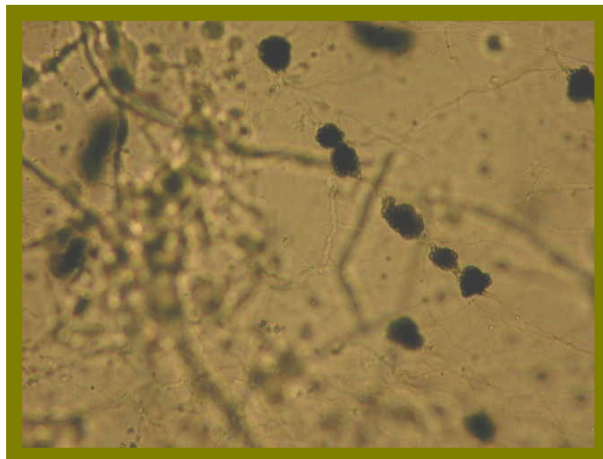




Governo do Estado de São Paulo
Secretaria de Agricultura e Abastecimento
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Instituto Biológico



Documento Técnico 014 – Junho de 2012 – p.1-6



VARIABILIDADE PATOGÊNICA DE ISOLADOS DE *Verticillium* OBTIDOS DE DIFERENTES HOSPEDEIROS

Christiane Ceriani Aparecido¹; Danielle Finatti²

¹Pesquisador Científico — Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal – Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: christianeceriani@biologico.sp.gov.br

²Bolsista Fapesp — Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal – Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil.

1. INTRODUÇÃO

Solanaceae é um gênero abundante em todo o mundo e predominante na América, que engloba plantas herbáceas, arbustivas ou arbóreas, sendo uma família de grande importância para a alimentação da sociedade. Fazem parte dessa família botânica: a batata (*Solanum tuberosum*), o tomate (*S. lycopersicum*), a berinjela (*S. melongena*), o tabaco ou fumo (*Nicotiana tabacum*), entre outras plantas.

Dentre os diversos grupos fúngicos que podem causar problemas em solanáceas encontra-se o gênero *Verticillium*, cujas espécies de importância mundial sob o ponto de vista fitopatogênico são *V. dahliae* e *V. albo-atrum*. Esses patógenos infectam os vasos condutores da planta hospedeira, resultando em murcha, escurecimento de vasos, amarelecimento, subdesenvolvimento e, muitas vezes, morte repentina da planta (KUROZAWA; PAVAN, 1998). Penetram diretamente pelas raízes, através de ferimentos ou, ainda, através dos pelos absorventes. Segundo vários autores, o círculo de plantas hospedeiras tem aumento e, no que se refere à patogenicidade, existe variação do patógeno frente aos diferentes hospedeiros (BHAT; SUBBARAO, 1999; COUTINHO *et al.*, 2001; PASSADOR *et al.*, 2001, 2002). Estes patógenos de solo apresentam ampla distribuição geográfica podendo ser fator limitante à produção. No Brasil, a doença é mais importante nas regiões Sul e no Sudeste e em regiões de microclima de altitude, aonde severos danos vêm sendo relatados (REIS; BOITEUX, 2006a).

Além da família Solanaceae, o gênero *Verticillium* infecta, também, representantes de outras famílias botânicas, como quiabeiro e cacauzeiro (Malvaceae), pepino (Cucurbitaceae), morangueiro (Rosaceae), amendoim (Fabaceae) entre outras.

Os referidos patógenos são polívoros, entretanto, a gama de plantas hospedeiras de *V. dahliae* parece ser mais ampla do que a de *V. albo-atrum* (FRADIN; THOMMA, 2006).

No campo, as murchas provocam perdas diretas e ainda comprometem o terreno para cultivos posteriores, uma vez que o patógeno é capaz de produzir estruturas de resistência (microesclerócios) que podem permanecer viáveis por mais de 10 anos (REIS; BOITEUX, 2006b). Associada à temperaturas amenas (18^o a 24^oC), o sintoma mais característico da infecção é a murcha total ou somente de um lado da planta, normalmente observada a partir do início da frutificação. A murcha é acompanhada de clorose das folhas mais velhas e depois das mais novas, além das bordas foliares muitas vezes adquirirem um amarelecimento intenso. Ao serem expostos os tecidos condutores da base do caule, nota-se um escurecimento de cor marrom clara.

As espécies (*V. dahliae* e *V. albo-atrum*) podem ser diferenciadas, principalmente, por meio de inoculações experimentais em plantas indicadoras, como pepino e alfafa, que apresentam sintomas somente ao serem infectadas por *V. albo-atrum*. Observações microscópicas também são importantes, uma vez que possibilitam a constatação de abundante quantidade de microescleródios (Figura 1), formados por *V. dahliae* (APARECIDO *et al.*, 2002).

Dentre as medidas de manejo e controle recomendadas, a principal é a utilização de variedades resistentes, quando há disponibilidade. Na ausência de material resistente, medidas como controle químico e rotação de

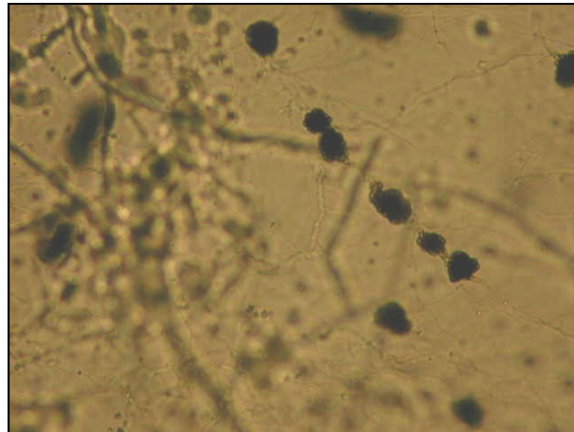


Figura 1 - Microesclerócios produzidos por *V. dahliae*.

culturas têm que ser utilizadas de forma preventiva. Porém, para que as medidas preventivas tenham sucesso, é importante que o círculo de plantas hospedeiras do patógeno seja conhecido.

Assim, este trabalho teve por objetivo caracterizar patogenicamente seis diferentes isolados pertencentes à espécie *V. dahliae* e um à espécie *V. albo-atrum*, por meio de inoculações experimentais no hospedeiro original e em diferentes hospedeiros.

2. INOCULAÇÃO DO PATÓGENO EM PLANTAS

Inicialmente, foram obtidas seis culturas de *V. dahliae* isoladas de amendoim (MMBF 752), berinjela (MMBF 247, MMBF 669 e MMBF 829), jiló (MMBF 09/01), quiabo (MMBF 02/01) e tomate (MMBF 668) e uma de *V. albo-atrum* isolada de batata (MMBF 7/75), todas mantidas na Micoteca “Mário Barreto Figueiredo”, Instituto Biológico, SP. Todas estavam patogênicas, pois haviam sido, previamente, inoculadas nos hospedeiros originais e re-isoladas. Cada um dos isolados obtidos foi inoculado em todos os hospedeiros disponíveis, a saber: quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench), berinjela (*Solanum melongena* L.), jiló (*S. jilo*), pepino (*Cucumis sativus*), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e batata (*Solanum tuberosum*). Tais hospedeiros foram escolhidos devido à disponibilidade de sementes. Para tanto, foram preparadas suspensões de conídios ajustadas para 10^6 conídios/mL, sendo 20 mL dessa suspensão incorporados, separadamente, ao solo onde se desenvolviam as plantas, que estavam com dois pares de folhas verdadeiras. O solo foi revolvido em seguida para que as raízes fossem, brandamente, feridas. Após as inoculações, todas as plantas permaneceram em câmara de inoculação, à temperatura variando entre 20° e 21°C e fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas

de escuro. O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso, com dez vasos para cada tratamento (planta hospedeira x isolado), sendo que em cada vaso havia uma planta. Para as avaliações, realizadas a partir dos 20 dias de inoculação, foi observado o aparecimento de sintomas externos, como: amarelecimento, murcha e necrose de folhas, e internos, como: escurecimento do sistema vascular. Posteriormente, foram realizados re-isolamentos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas de berinjela foram infectadas somente pelas culturas isoladas originalmente a partir de plantas de berinjela (MMBF 247, MMBF 669 e MMBF 829). Porém, estes mesmos isolados foram capazes de infectar plantas de quiabo (MMBF 247, MMBF 669 e MMBF 829) e jiló (MMBF 829). A cultura MMBF 09/01, proveniente de jiló, foi capaz de inocular o próprio hospedeiro e plantas de quiabo. Os isolados MMBF 752 e MMBF 02/01 mostraram-se os mais específicos, pois infectaram somente os hospedeiros originais, ou seja, plantas de amendoim e quiabo. A Figura 2 ilustra os resultados apresentados.



Figura 2— Plantas de jiló (esquerda) e amendoim (direita) exibindo sintomas de murcha inoculadas, respectivamente, com MMBF 829 e MMBF 752.

Todas as culturas foram inoculadas em pepino, porém, somente o isolado MMBF 7/75, identificado como *Verticillium albo-atrum*, foi capaz de induzir sintomas de murcha, conforme esperado. Isto porque o pepino é uma planta diferenciadora, infectada somente por *V. albo-atrum*, o que comprovou a identificação taxonômica do isolado IB 7/75 e possibilitou classificar os demais isolados como *V. dahliae*. Plantas de alfafa desempenham o mesmo papel para a diferenciação das duas espécies fúngicas, porém, neste estudo foram

utilizadas plantas de pepino devido à facilidade em se obter sementes e produzir os hospedeiros (PASSADOR *et al.*, 2002). É importante ressaltar que os re-isolamentos foram positivos em todas as inoculações, embora somente MMBF 7/75 tenha resultado em sintomas característicos.

BHAT; SUBBARAO (1999) constataram especificidade ao hospedeiro de ambas as espécies estudadas. No que se refere a *V. dahliae*, a especificidade foi reconhecida em isolados obtidos de berinjela, tomate, pimenta e crucíferas. No presente estudo, a especificidade também foi reconhecida em isolados obtidos a partir de plantas de tomate (IB668), uma vez FINATTI; APARECIDO (2009) constataram a patogenicidade deste isolado ao hospedeiro original, amendoim (IB752) e quiabo (IB 02/01). Quanto a *V. albo-atrum*, BHAT; SUBBARAO (1999) constataram patogenicidade somente quando os isolados foram inoculados sobre o hospedeiro original, ocorrendo o mesmo neste estudo, uma vez que MMBF 7/75 foi patogênico somente a plantas de batata, hospedeiro do qual foi originalmente isolado.

Com relação aos hospedeiros inoculados, os mais suscetíveis foram as plantas de quiabo e jiló, com maior destaque para o primeiro, uma vez que foram infectadas por maior número de isolados. As plantas de quiabo foram infectadas pelos isolados de berinjela (MMBF 247, MMBF 669 e MMBF 829) e de jiló (MMBF 09/01), além do isolado original (MMBF 02/01). É importante ressaltar que o isolado MMBF 829 proveniente de plantas de berinjela, neste estudo, foi considerado como o mais polígrafo por ter infectado maior número de hospedeiros.

A Tabela 1 ilustra os resultados observados.

Tabela 1 - Resultados observados das inoculações cruzadas.

	MMBF 247	MMBF 829	MMBF 669	MMBF 752	MMBF 7/75	MMBF 02/01	MMBF 09/01
Berinjela	+	+	+	-	-	-	-
Amendoim	-	-	-	+	-	-	-
Batata	-	-	-	-	+	-	-
Quiabo	+	+	+	-	-	+	+
Jiló	-	-	-	-	-	-	+
Pepino	-	-	-	-	-	-	-

Diante destes resultados para alguns isolados pôde ser constatada a natureza polífaga de *V. dahliae*, uma vez que um mesmo isolado foi capaz de infectar plantas de diferentes famílias botânicas, como ocorreu neste estudo, por exemplo, com MMBF829 que infectou plantas das famílias Solanaceae e Malvaceae. Observa-se, portanto, que, de fato, na ausência de variedades resistentes, a rotação de culturas pode ser eficiente por diminuir o potencial de inóculo no solo. Porém, é importante que o círculo de plantas hospedeiras do patógeno

seja determinado com exatidão, incluindo as endêmicas, as de interesse econômico, além das invasoras que também podem ser hospedeiras de *V. dahliae*. Ao mesmo tempo, foi constatada maior especificidade de *V. albo-atrum*.

REFERÊNCIAS

- APARECIDO, C.C.; COUTINHO, L.N.; FIGUEIREDO, M.B. Diferenciação de *Verticillium dahliae* e *V. albo-atrum*. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 69 (Supl.), p. 67, 2002.
- AZEVEDO, J.L. Variabilidade em fungos fitopatogênicos. *Summa Phytopathol.*, Piracicaba, v. 2, p. 3-15, 1997.
- BHAT, R.G.; SUBBARAO, K.V. Host range specificity in *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, Saint Paul, Minnesota, v. 89, n. 12, p. 1218-1225, 1999.
- COUTINHO, L.N.; APARECIDO, C.C., FIGUEIREDO, M.B. *Craspedia* sp. – novo hospedeiro de *Verticillium dahliae*. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 68 (Supl.), p. 73, 2001.
- FINATTI, D.; APARECIDO, C.C. Caracterização fisiológica e comparação de diferentes métodos na preservação, em laboratório, de isolados do gênero *Verticillium*. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.76, n.4, p.715-720, 2009.
- FRADIN, E. F.; THOMMA, B. P. H. J. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. *Molecular Plant Pathology*, Beltsville, v. 7, n. 2, p. 71-86, 2006.
- KUROZAWA, C.; PAVAN, M. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. *Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 3. ed. São Paulo: CERES, 1997. vol. 2, p. 690-719.
- PASSADOR, M.M.; APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, M.B. Isolamento de *Verticillium dahliae* e sua inoculação em três hospedeiros distintos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 68 (Supl.), p. 74, 2001.
- PASSADOR, M.M.; APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, M.B. Isolamento de *Verticillium dahliae* e sua inoculação em dois hospedeiros distintos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 69 (Supl.), p. 214-215, 2002.
- REIS, A.; BOITEUX, L. S. 2006a. *Murcha-de-verticillium: um sério problema para o cultivo de hortaliças no Brasil*. Brasília: Embrapa Hortaliças. Circular Técnica 40. 11p.
- REIS, A.; BOITEUX, L. S. 2006b. Circulo de hospedeiras de *Verticillium dahliae* obtidos de tomateiro, quiabeiro e morangueiro. Brasília: Embrapa Hortaliças. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 21. 17p. Disponível em <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/780293/1/bpd21.pdf>> Acesso em 22 maio 2012.