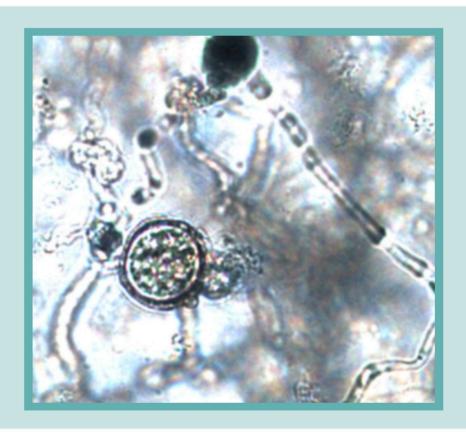
Boletim de Pesquisa 45 e Desenvolvimento ISSN 1981-5980 Setembro, 2007

versão

Monitoramento e caracterização dos grupos de compatibilidade de Phytophthora infestans associados à batata na região sul do Brasil







Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Clima Temperado Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento ISSN 1981-5980 Setembro, 2007



Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 45

Monitoramento e caracterização dos grupos de compatibilidade de *Phytophthora infestans* associados à batata na região Sul do Brasil

Cesar Bauer Gomes
Flávio Martins Santana
Marilice C. Garrastazu
Ailton Reis
Arione de Silva Pereira
Nilceu Ricetti X. de Nazareno
Walter Ferreira Becker

Pelotas, RS 2007 Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado Endereço: BR 392 Km 78

Caixa Postal 403, CEP 96001-970 - Pelotas, RS

Fone: (53) 3275-8199

Fax: (53) 3275-8219 - 3275-8221 Home page: www.cpact.embrapa.br E-mail: sac@cpact.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Walkyria Bueno Scivittaro

Secretária-Executiva: Joseane M. Lopes Garcia

Membros: Cláudio Alberto Souza da Silva, Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro, Isabel Helena Vernetti Azambuja, Cláudio José da Silva Freire, Luís Antônio

Suita de Castro

Suplentes: Daniela Lopes Leite e Luís Eduardo Corrêa Antunes

Revisores de texto: Sadi Macedo Sapper

Normalização bibliográfica: Regina das Graças Vasconcelos dos Santos

Editoração eletrônica: Oscar Castro Arte da capa: Miguel Angelo (estagiário)

Composição e impressão: Embrapa Clima Temperado

1ª edição

1ª impressão (2007): 50 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Monitoramento e caracterização dos grupos de compatibilidade de Phytophthora infestans associados à batata na região Sul do Brasil / Cesar Bauer Gomes... [et al.] -- Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 16 p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 45).

ISSN 1678-2518

Batata - Solanum tuberosum - Doença - Fungo - Lycopersicon esculentum - Requeima - Grupo de compatibilidade. I. Gomes, César Bauer. II. Série.

CDD 635.2194

Sumário

Monitoramento e caracterização dos grupos de compatibilidade de Phytophthora infestans associados à batata na região Sul do Brasil	5
Resumo	5
Abstract	7
Introdução	8
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	13
Conclusões	14
Agradecimentos	14
Referências bibliográficas	14

Monitoramento e caracterização dos grupos de compatibilidade de *Phytophthora infestans* associados à batata na região Sul do Brasil

Cesar Bauer Gomes Flávio Martins Santana Marilice C. Garrastazu Ailton Reis Arione de Silva Pereira Nilceu Ricetti X. de Nazareno Walter Ferreira Becker

Resumo

A requeima, causada por *Phytophthora infestans*, é a doença fúngica foliar da batata mais importante na região Sul do Brasil. Para que ocorra a reprodução sexual deste fungo é necessária a presença dos grupos de compatibilidade (GC) A1 e A2 no mesmo local, os quais permitem a formação dos oósporos. Embora nas condições brasileiras *P. infestans* reproduza-se assexuadamente, recentemente foi detectada a ocorrência de ambos GC no Rio Grande do Sul em um pequeno número de isolados analisados. Desta forma, conduziu-se um monitoramento (2004-2006) de *P. infestans* em diversas lavouras de batata representativas do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, tendo-se por objetivo caracterizar 'Embrapa Clima Temperado, BR 392, Km 78, C.P. 403, 96001-970, Pelotas,RS (cbauer@cpact.embrapa.br)

²Embrapa Trigo, BR 285, Km 174, Cx. Postal 451, 99001-970 - Passo Fundo, RS ³Embrapa Hortaliças, Cx. Postal 218, 70.359-970, Brasília, DF ⁴Instituto Agronômico do Paraná, Cx. Postal 2031, 90011-970, Curitiba, PR

⁵Epagri, Cx. Postal 591, CEP 89500-000, Caçador, SC

e mapear a distribuição dos grupos de compatibilidade das populações do fungo. Alguns isolados provenientes de tomateiro também foram coletados para comparação das populações. Verificou-se que no Paraná e em Santa Catarina 100% dos isolados de batata foram identificados como A2; e as populações obtidas de tomate, pertencentes ao GC A1. Entretanto, no Rio Grande do Sul, 56,16% dos isolados de *P. infestans* foram identificados como A2, e 43,83% destes como A1, o que suporta a hipótese da ocorrência de recombinação sexual do fungo. A confirmação desta hipótese está sendo efetuada por meio de análises moleculares das amostras do fungo, para se ter conhecimento se essas populações são híbridas ou não.

Palavras chave: *Solanum tuberosum*, *Lycopersicon esculentum*, requeima, levantamento, grupos compatibilidade.

Monitoring and characterizing *Phytophthora infestans* mating types associated to potatoes in South Brazil

Abstract

Late blight, caused by Phytophthora infestans, is the most important leaf fungi disease of potatoes in south Brazil. The presence of the two mating types (MT) is necessary, in order to occur sexual reproduction of this fungi, allowing the formation of oospores. Even though under Brazilian environmental conditions, P. infestans is asexually reproduced, recently the occurrence of both MT were detected in the Rio Grande do Sul state in small number of samples. In order to characterize and map the distribution of the MP populations of the fungi, a survey test of P. infestans was carried out during 2004-2006, in several representative crops of Rio Grande do Sul, Paraná and Santa Catarina states. Some isolates from tomatoes were also analysed in order do compare the populations. It was observed that 100% of the potato isolates from Paraná and Santa Catarina states, were identified as A2, whereas the populations obtained from tomatoes belonged to the A1 mating type. However, 56,16% of P. infestans isolates sampled in Rio Grande do Sul were identified as A2, and 43,83% as A1, supporting the hypothesis of occurrence of sexual recombination. In order to confirm this hypothesis, molecular analyses are being performed in the fungi samples, to check for hybrid populations.

Key words: Solanum tuberosum, Lycopersicon esculentum, late blight, survey, mating type.

Introdução

A região Sul está entre as mais importantes produtoras de batata (Solanum tuberosum L.) do Brasil, sendo responsável por quase 40% da produção nacional (IBGE, 2003). Entretanto, problemas de ordem fitossanitária como a "requeima", doença fúngica foliar causada por Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, figuram como um grande limite à produção devido às condições ambientais favoráveis (umidade relativa elevada e temperaturas em torno de 15°C) ao desenvolvimento do patógeno no sul do Brasil. Nessas circunstâncias, em poucos dias, a requeima pode dizimar uma lavoura de batata (Kurozawa & Pavan, 1997). A reprodução do fungo pode ocorrer assexuadamente pela produção de zoosporângios e zoosporangiósporos, ou, por recombinação genética entre isolados dos grupos de compatibilidade A1 e A2, formando esporos sexuais (oósporos), os quais podem originar populações mais agressivas.

Resultados de pesquisa indicam que há uma especialização de *P. infestans* pelo hospedeiro, sendo a batata afetada principalmente por isolados do grupo de compatibilidade A2; e o tomate pelo grupo A1 (Reis *et al.*, 2003; Suassuna *et al.*, 2004).

Atualmente, há relatos de ocorrência dos dois grupos de compatibilidade em diversos países, sendo evidenciada, em alguns casos, a presença de oósporos como inoculo inicial. Apesar de haverem fortes suspeitas da existência de novas populações recombinantes de *P. infestans* no Brasil, o assunto ainda não é conclusivo (Santana, 2006). Bromoschenkel (1988), estudando a variabilidade de populações brasileiras de *P. infestans* provenientes do Sul e Sudeste, verificou a predominância de isolados do grupo de compatibilidade A2

em batata, e A1 em tomate. Em levantamentos realizados nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, vinte anos mais tarde Reis et al. (2003; 2006), foi verificada a mesma relação entre isolados A1 e A2 em tomate e batata, respectivamente, sumarizando que as populações do fungo continuavam se reproduzindo assexuadamente. Entretanto, nesse mesmo levantamento, foi detectada a ocorrência de isolados A1 em batata no Rio Grande do Sul, que mais tarde foi confirmada por Santana et al. (2005).

Considerando-se a ocorrência recente de isolados A1 em batata no Rio Grande do Sul (Reis, 2001; Santana *et al.*, 2005), foi realizado um levantamento nos três Estados do Sul do Brasil com o objetivo de mapear a distribuição e caracterizar os isolados de *P. infestans* que ocorriam nesta região.

Material e Métodos

Entre os anos de 2004 e 2006, foram coletadas amostras de plantas de batata com sintomas de requeima em lavouras provenientes de 28 municípios do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (Figura 1), sendo os pontos de coleta, georreferenciados por GPS (sistema de posicionamento global) marca Garmin, modelo GPS map 76S. Amostras de tomateiros infectadas com *P. infestans* e provenientes de Santa Catarina foram coletadas adicionalmente para comparação dos isolados.

A partir das amostras de folhas, caules e tubérculos de batata e de plantas de tomate infectadas com *P. infestans*, foram realizados isolamentos monosporângicos do fungo em meio de cultura (Forbes *et al.*, 1997), para posterior caracterização dos grupos de compatibilidade (GC) dos diferentes isolados (Santana, 2006). Para confirmação dos GC, estes isolados foram analisados por PCR (Reação de Polimerização em Cadeia) especifico para o grupo A, (Judelson, 1996).

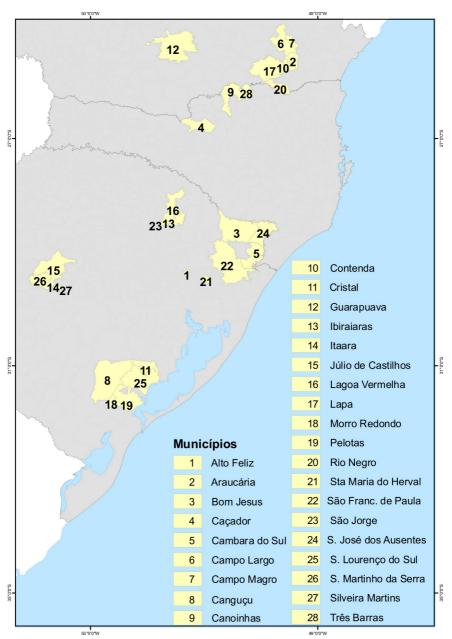


Figura 1. Localização dos municípios correspondentes aos locais de coletas dos isolados A1 e A2 de *P. infestans* na região Sul do Brasil.

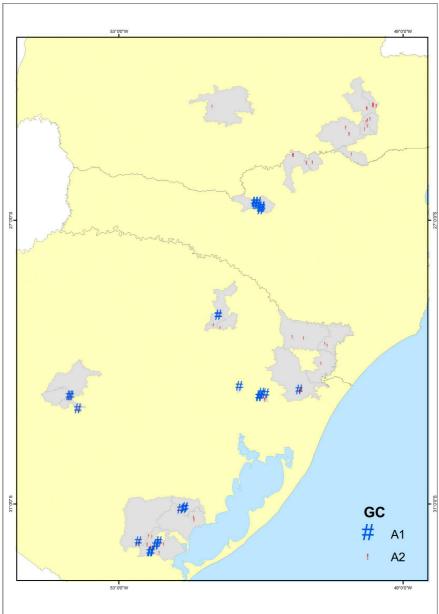


Figura 2. Locais de coletas dos isolados A1 e A2 de *P. intestans* na região Sul do Brasil, que correspondem aos principais municípios produtores de batata e tomate, durante os anos de 2004 a 2006.

Resultados e Discussão

A amplitude de variação de altitude nos locais de coleta variou de 60 m (região de Pelotas) a 1200 m (São José do Ausentes) no Rio Grande do Sul; 760 m (região de Canoinhas) a 1050 m (região de Caçador) em Santa Catarina; e 850 m a 1000 m (entre Curitiba e Guarapuava) no Paraná. O ponto de coleta mais setentrional foi em Castro, PR (24° 46′ Sul) e o extremo meridional foi em Piratini-RS (31° 43′ Sul). De leste a oeste, a amplitude foi de 49° 22′ Leste (região de Curitiba, PR) a 53° 42′ Oeste (região de Santa Maria, RS).

De acordo com os resultados obtidos nos pareamentos in vitro para determinação dos GC das diferentes populações de P. infestans, verificou-se que no Paraná e em Santa Catarina, os isolados de batata pertenciam ao grupo de compatibilidade A2 e os isolados de tomate, ao grupo A1 (Figura 1 e 2). Porém, no Rio Grande do Sul, observou-se a ocorrência de isolados de P. infestans A1 (43,83%) e A2 (56,16%), conforme Figura 2, independentemente do posicionamento geográfico dos locais de coleta. Pelo menos um isolado coletado em cada um dos municípios de Canguçu, Morro Redondo, Júlio de Castillhos, Silveira Martins, Alto Feliz, Ibiraiaras e Cristal foram caracterizados como do grupo A1. Por meio da análise de PCR de isolados selecionados dos três Estados, confirmou-se a presença de uma banda de 1,35 kb, característica do grupo A1 (Figura 3), conforme preconizado por Judelson (1996). Este resultado suporta parcialmente a hipótese de ocorrência de cruzamento sexual e conseqüente surgimento de populações mais agressivas do patógeno.

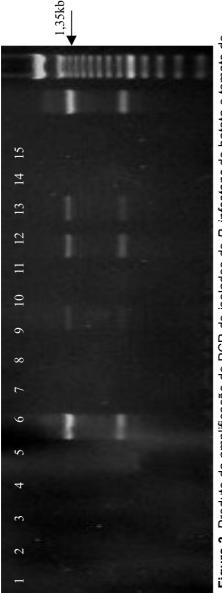


Figura 3. Produto da amplificação de PCR de isolados de *P. infestans* de batata e tomate de RS; 4 = Júlio de Castilhos, RS; 5 = Canguçu, RS; 6 = Pelotas, RS; 7 = Morro Redondo, RS; 8 = diferentes regiões. Colunas 1 = Canoinhas, SC; 2 = Campo Magro, PR; 3 = Morro Redondo, São Lourenço do Sul, RS; 9 = Julio de Castilhos, RS; 10 = Alto Feliz, RS; 11 = Silveira Martins, RS; 12 = Pelotas, RS; 13 = Controle negativo; 14 = Controle positivo; 15 = marcador de peso molecular 100pb Ladder.

Considerando-se a presença de isolados A₁ e A₂ no Rio Grande do Sul, a possibilidade de formação de oósporos (esporo sexual) pode levar, além de uma maior variabilidade do patógeno, a uma maior dificuldade no controle por tratos culturais, pois embora a sobrevivência de esporos de reprodução assexuada seja bastante afetada por fatores como umidade, tipo de solo e profundidade, oósporos podem resistir por até três anos no solo (Porter *et al.*, 2005, Drenth *et al.*, 1993).

As informações obtidas neste trabalho servirão de base, em análises futuras, para verificação da hipótese de ocorrência de novas populações do patógeno, resultantes dos cruzamentos entre isolados dos dois grupos de compatibilidade; o que pode dar suporte a programas de melhoramento genético, visando a obtenção de cultivares de batata e tomate com resistência durável (horizontal). Análises futuras, por meio de marcadores moleculares como RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) e AFLP (Amplified Fragment Lenght Polymorphism Analysis) devem revelar se populações híbridas, provenientes de reprodução sexual, estão ocorrendo na região.

Conclusão

As Populações A1 e A2 de *P. infestam* ocorrem em batata no Rio Grande do Sul, o que suporta a hipótese de recombinação sexual entre isolados deste fungo.

Agradecimentos

Ao apoio da Embrapa/SNT, Canoinhas, IAPAR/CRPA, EPAGRI, EMATER/RS, nas coletas de amostras, e da equipe do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado pelo apoio na condução dos trabalhos.

Referências bibliográficas

BROMMONSCHENKEL, S.H. Patogenicidade, compatibilidade, citogenetica e padrões isoenzimaticos de isolados de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary do Brasil. 1988. 82p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1988.

IBGE. Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA, 2003. Disponivel em: http://www.sidra.ibge.br/bda/ > Acesso em: 10 mar. 2004.

FORBES, G.A.; ESCOBAR, X.C.; AYALA, C.C.; REVELO, J. ORDOÑEZ, M.E.; FRY, B.A. DOUCETT, K.; FRY, W.E. Population genetic structure of *Phytophthora infestans* in Ecuador. Phytopathology, St. Paul, v. 87, p. 375-380, 1997.

JUDELSON, H.S. Chromosomal heteromorphism linked to the mating type locus of the oomycete *Phytophthora infestans*. Molecular and General Genetics, New York, v. 252, p. 155-161, 1996.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A., 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 de plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. vol. 2, p. 690-719.

REIS, A. Caracterização das populações de *Phytophthora infestans* das regiões Sul e Sudeste do Brasil. 2001. 65p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

REIS, A.; RIBEIRO, F.H.S.; MIZUBUTI, E.S.G. Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* do Distrito Federal e de Goiás. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 31, n. 3, p. 270-276, 2006.

REIS, A.; SMART, C.D.; FRY, W.E.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTI, E.S.G. Characterization of isolates of *Phytophthora infestans* from Southern and Southeastern regions of Brazil, from 1998 to

2001. Plant Disease,, St. Paul, v. 87, p. 896-900. 2003.

SANTANA, F.M. et al. Estudos preliminares da diversidade de populações de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary infectando batata na região Sul do Brasil. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 30, suplemento p. 117, 2005.

SANTANA, F.M. Distribuição e caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary associados à batata (*Solanum tuberosum* L.) na região Sul do Brasil. 2006 76p. Tese (Doutorado em Fitossanidade-Fitopatologia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

SUASSUNA, N.D.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTI, E.S.G. Aggressiveness and host specificity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans*. Plant Pathology, London, v. 53, p. 405-413, 2004.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento BR 392 km 78 - 96001-970 Pelotas RS Cx. Postal 403 Fone (53) 3275-8100 Fax (53) 3275-8221 www.cpact.embrapa.br sac@cpact.embrapa.br



