



### Fungos Exóticos Interceptados em Estacas de Uvas Procedentes da Itália

Marta Aguiar Sabo Mendes<sup>1</sup>  
Arailde Fontes Urban<sup>1</sup>  
Milton Luiz Paz Lima<sup>1</sup>  
Vicentina A. Miranda e Silva<sup>2</sup>  
Alaíde Soares de Oliveira<sup>3</sup>

A Estação Quarentenária Nível I (EQVN 1) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia recebeu para análises fitossanitárias mudas de raiz nua de 27 variedades de *V. vinifera* procedentes da Itália, apreendidas pela Delegacia Federal de Agricultura. Para a detecção e identificação de fungos foram empregados os métodos de exame direto sob microscópio estereoscópio, isolamento em meio de cultura BDA e morfológico sob microscópio óptico. As mudas estavam infectadas com *Cylindrocarpon obtusisporum*, espécie não relatada no Brasil e *Macrophoma* sp. não descrita em *Vitis* no

país. As estacas não foram internalizadas, evitando-se assim, a introdução de pragas exóticas ao Brasil.

#### Introdução

Apesar do Brasil ser detentor da maior fonte de biodiversidade do mundo (cerca de 20 %), a maioria dos produtos que fazem parte da dieta da alimentação brasileira, como o arroz, feijão, trigo e milho, é originária de outros países. Graças à introdução de germoplasma vegetal e dos programas de melhoramento genético, que este país obteve novas espécies e variedades mais



<sup>1</sup> Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>1</sup> Eng. Agr., Dr., Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>1</sup> Bióloga, Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

<sup>2</sup> Bióloga, pós-graduanda, Universidade Federal de Lavras – UFLA

<sup>3</sup> Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

produtivas, resistentes a pragas e adaptadas às nossas condições edafoclimáticas. O Brasil passou, então, da condição de importador para exportador de diversos produtos, como por exemplo, soja, milho, ervilha, noz-moscada, canela, pimenta-do-reino, forrageiras, espécies florestais, frutíferas e hortaliças. Porém a introdução de germoplasma e/ou material vegetal comercial deve ser feita de forma controlada, para evitar a entrada pragas não ocorrentes no território brasileiro que se estabelecidas prejudicariam a produção, o meio ambiente e o comércio dos produtos do agronegócio (MENDES et al., 2003).

Visando minimizar estes riscos a execução da quarentena de germoplasma vegetal destinado à pesquisa, em atendimento ao Sistema Nacional de Pesquisa Agrícola - SNPA e de produtos comerciais está sob legislação específica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, de acordo com o Decreto N° 24.114 de 12 de abril de 1934 e de Portarias Complementares. A Portaria N° 11 de 15 de fevereiro de 2002, credencia a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia como Estação Quarentenária Nível I (EQVN 1), para os procedimentos legais exigidos para a

introdução de material vegetativo e/ou reprodutivo no país. A Estação Quarentenária Vegetal Nível 1 (EQVN 1) tem as seguintes atribuições: detectar, identificar e interceptar espécies de pragas quarentenárias, dispendo de instalações adequadas e especialistas renomados nas áreas de acarologia, bacteriologia, cultura de tecidos, entomologia, micologia, nematologia, plantas invasoras e virologia (OLIVEIRA et al., 2003).

A uva (*Vitis vinifera* L.) originária da Europa é uma das frutas mais exportadas e importadas pelo Brasil, aumentando consideravelmente o risco da introdução de pragas exóticas (MENDES et al., 2003). Para diminuir os riscos de introdução de pragas exóticas a EQVN 1 além de analisar todo material importado destinado ao SNPA presta este serviço também ao material apreendido pelo MAPA.

O objetivo deste trabalho foi de detectar, identificar e interceptar fungos exóticas variedades de uva procedentes da Itália.

A EQVN 1 recebeu em 2006, 27 variedades de *V. vinifera* procedentes da Itália na forma de mudas de raiz nua (estacas enraizadas) apreendidas pela Delegacia Federal de

Agricultura de Santa Catarina.. As amostras representativas deste material foram enviadas a EQVN 1 e submetidas a análises para a detecção e identificação de fungos pelos métodos descritos a seguir:

**a) Exame direto sob microscópio**

**estereoscópio:** as estacas foram observadas diretamente sob microscópio estereoscópio sendo verificados os sinais de fungos que em seguida foram depositados em lâminas de vidro para identificação utilizando microscópio de luz.

**b) Isolamento em meio de cultura BDA:**

pequenos fragmentos de tecidos do sistema radicular, haste e parte aérea foram submetidos a esterilização superficial em álcool 50 %, seguido de hipoclorito de sódio a 0,2 %, por 1 a 2 minutos e de três lavagens em água destilada estéril. Os fragmentos de tecidos foram distribuídos sobre meio de cultura BDA e encubados em câmara de luz fluorescente contínua, à temperatura  $28 \pm 2$  °C durante 8 a 14 dias.

**c) Identificação dos fungos:** foram

identificados com base nas características morfológicas e fisiológicas utilizando literatura especializada (ELLIS, 1976; ELLIS,

1971; BARNETT, 1987; SUTTON, 1980).

As espécies de *Cylindrocarpon* foram identificadas utilizando as descrições do CMI 928 e CMI 148.

As mudas de uva estavam

infectadas/contaminadas com 15

gêneros/espécies de fungos (Tabela 1),

sendo que destes a espécie *Cylindrocarpon obtusisporum* (Cook e Harkn) Wollenweb.

não foi relatada em nenhuma cultura e

*Macrophoma* sp. (Sacc.) Berl. e Voglino não relatado nesta cultura no país (EMBRAPA...,

2008; MENDES et al., 1998). No Brasil

foram relatadas sete espécies de

*Macrophoma* em outras hospedeiras, como

segue: *Macrophoma brasiliensis* em

Myrtaceae, *Macrophoma coffeae* var.

*macrospora* em *Coffea arabica*,

*Macrophoma fici* em *Ficus carica*,

*Macrophoma fraxini* em *Calathea tuberosa*,

*Macrophoma graminella* em *Sorghum*

*halepense* e *Talisia esculenta*, *Macrophoma*

*hederacea* em *Trichachne insularis* e

*Macrophoma tabaci* em *Nicotiana tabacum*

(EMBRAPA..., 2008). No mundo foram

registradas sete espécies de *Macrophoma*

causando queima dos ponteiros, manchas

foliares ou outros danos em videira são elas:

*Macrophoma farlowiana* em *Vitis aestivalis*,

*Vitis labrusca* e *Vitis vulpina* nos EUA;  
*Macrophoma flaccida* em *Vitis vinifera* na Índia, Itália, e Portugal e em *Vitis vinifera* var. *vinifera* na Grécia; *Macrophoma longispora* em *Vitis aestivalis* nos EUA; *Macrophoma peckiana* em *Vitis labrusca* nos EUA; *Macrophoma reniformis* em *Vitis labrusca*, nos EUA e em *Vitis vinifera* na Itália; *Macrophoma rimiseda* em *Vitis vinifera* no Marrocos e Turquia, e em *Vitis vinifera* var. *vinifera* na Grécia, e *Macrophoma sicula* em *Vitis vinifera* na Ásia Central (FARR et al., 2008).

As espécies de *Cylindrocarpon* ocorreram com maior incidência, *Cylindrocarpon destructans* com 23,64% e *Cylindrocarpon obtusisporum* com 20,0%, nos acessos analisados (Tabela 1). Alaniz et al. (2007), relataram que *C. destructans* e *C. obtusisporum* como as duas principais espécies de *Cylindrocarpon* que causam podridão do pé ("black foot disease") em *Vitis* spp. *C. destructans* foi registrado no Brasil em mudas de videira do Rio Grande do Sul, relatado por Garrido et al. (2004). *C. obtusisporum* é considerada uma praga exótica, ou seja, não ocorrendo registro em videiras do Brasil. Além de *Vitis* spp. existem outras dez gêneros de plantas

hospedeiras de *C. obtusisporum* no mundo: *Acacia* sp., *Apium* sp., *Beilschmiedia* sp., *Coprosma* sp., *Glyceria* sp., *Malus sylvestris*, *Medicago sativa*, *Pseudotsuga menziesii*, *Pyrus communis*, *Tilia* sp. (INDEX..., 2008).

O gênero *Cylindrocarpon* possui variabilidade morfológica, fisiológica e molecular descritas em literatura. Quanto à variabilidade morfológica e fisiológica estima-se que este gênero possui atualmente 113 espécies e destas existem 27 variedades e 3 formaes speciales identificadas. Em *C. destructans* foram relatadas 3 variedades, var. *coprosmae*, var. *crassum* e var. *destructans* e 1 formaes speciales, f. sp. *panacis* (INDEX..., 2008).

Quanto à diversidade molecular, estudos com isolados de *Cylindrocarpon* oriundos de videira de várias partes do mundo, Hallen et al. (2004) verificaram que além de *C. destructans* e *C. obtusisporum*, havia uma nova espécie que causava a podridão negra do pé da videira, sendo identificada como *Cylindrocarpon macrodidymum*. Mais tarde, esta espécie também foi relatada no Chile (AUGER, 2007) e na Califórnia (PETIT e GUBLER, 2005). Utilizando características morfológicas, seqüências das regiões ITS e

do gene beta tubulina, permitiram verificar similaridades *C. destructans* com isolados oriundos de tulipa, previamente identificado como *C. liriodendri*. Deste modo, Hallen et al. (2006) propuseram que isolados de *C. destructans* oriundos de videiras sejam nomeados como *C. liriodendri*.

Devido às evidências de variações no complexo *Cylindrocarpon-Vitis* verificamos a importância da interceptação não somente de espécies não relatadas no país, como também a preocupação de evitar a

introdução de isolados, cujos os tipos de especializações não estão estabelecidos no território nacional. Neste contexto, as ferramentas moleculares são alternativas importantes para desvendar complexos de espécies e responder questionamentos que a análise morfológica e fisiológica não esclarece.

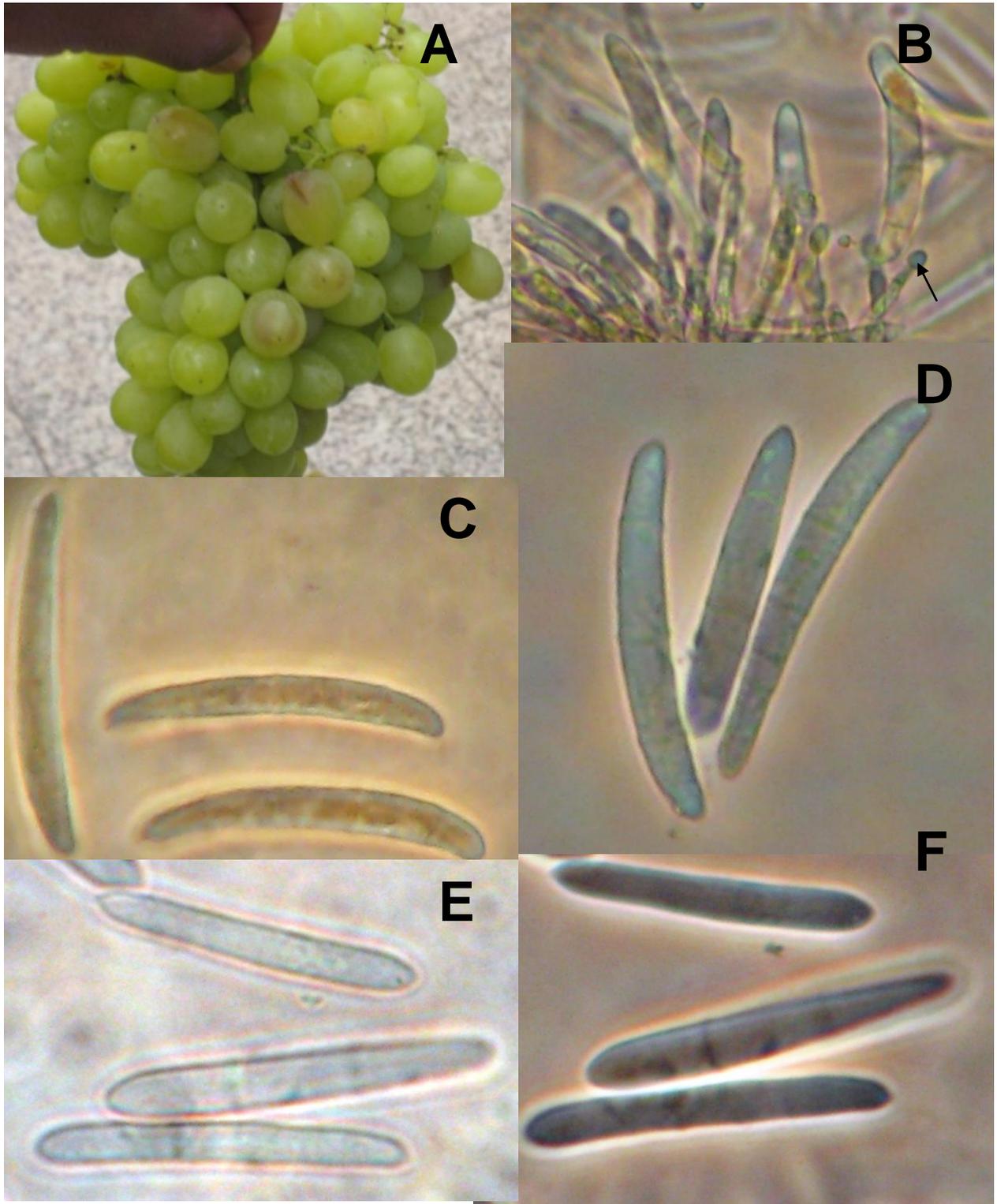
Por meio do trabalho realizado pela EQVN 1 evitou-se a introdução de espécies exóticas e de isolados, que provavelmente possuam características fisiológicas e moleculares diferentes dos que ocorrem no Brasil.

**Tabela 1.** Incidência de fungos identificados em acessos de uva procedentes da Itália em 2006.

Fungos	Incidência (% de acessos infectados)
<i>Alternaria alternata</i>	40,0
<i>Aspergillus flavus</i>	13,3
<i>Bipolaris</i> sp.	6,7
<i>Cladosporium</i> sp.	33,3
<b><i>Cylindrocarpon destructans</i></b>	<b>86,7</b>
<b><i>Cylindrocarpon obtusisporum</i></b> *	<b>73,3</b>
<i>Fusarium</i> sp.	13,3
<i>Fusarium moniliforme</i>	40,0
<i>Fusicoccum viticola</i>	6,7
<i>Gliocladium roseum</i>	6,7
<b><i>Macrophoma</i> sp.**</b>	<b>6,7</b>
<i>Penicilium</i> sp.	13,3
<i>Phomopsis</i> sp.	20,0
<i>Rhizopus</i> sp.	6,7
<i>Trichoderma</i> sp.	6,7

\* Fungos exóticos no Brasil;

\*\* Gênero não relatado em *Vitis* spp. no Brasil.



**Figura 1.** Estruturas morfológicas de espécies de *Cyindrocarpon* identificadas em mudas de uva. **A.** cacho de uva (hospedeira), **B.** Conídio, Conidióforo e célula conidiogênica (seta) de *C. obtusisporum.*, **C. e D.** conídios hialinos e curvados com 2 a 5 septos de *C. obtusisporum*, **E e F,** conídios filiformes, hialinos e multiseptados.

## LITERATURA

- ALANIZ, S.; LEÓN, M.; VICENT, A.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ABAD-CAMPOS, P.; ARMENGOL, J. Characterization of *Cylindrocarpon* species associated with black foot disease of grapevine in Spain. **Plant Disease**, Saint Paul, Minn., US, v. 91 p. 1187-1193, 2007.
- AUGER, J.; ESTERIO, M.; PEREZ, I. First report of black foot disease of grapevine caused by *Cylindrocarpon macrodidymum* in Chile. **Plant Disease**, Saint Paul, Minn., US, v. 91, p. 470, 2007.
- BARNETT, H. L. **Illustrations Genera of imperfect fungi**. 2.ed. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1987. 219 p.
- BATISTA, M. F.; FONSECA, J. N. L.; MENDES, M. A. S.; URBEN, A. F.; MANSO, E. S. B. G. C.; TENENTE, R. C. V.; OLIVEIRA, M. R. V.; GUIMARÃES, P. M.; FREITAS, R. D. L.; MARQUES, A. S. A. Quarentena de germoplasma vegetal. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 11p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Comunicado técnico, 27).
- COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE (CMI). **Descriptions of pathogenic fungi and bacterian**, Kew England , v. 30, p. 1020.
- ELLIS, M. B. **More dematiaceous hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1976. p. 507.
- ELLIS, M. B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971. p. 608.
- EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. Disponível em: <<http://icewall2.cenargen.embrapa.br:84/micweb/michtml/micbanco01a.asp>>. Acesso em: 10 jul. 2007.
- FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y.; PALM, M. E.; MCCRAY, E. B. **Fungal databases, systematic botany e mycology laboratory, ARS, USDA**. Disponível em: <<http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>>. Acesso em: jun. de 2008.
- GARRIDO, L. G.; SÔNEGO, O. R.; URBEN, A. F. *Cylindrocarpon destructans* causador do "pé-preto" da videira no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p. 548-550, 2004.
- HALLEEN, F.; SCHROERS, H. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. *Neonectria liriodendri* sp. nov., the main causal agent of black foot disease of grapevines. **Stud Mycol.**, v. 55, p. 227-234, 2006.
- HALLEEN, F.; SCHROERS, H. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. Novel species of *Cylindrocarpon* (*Neonectria*) and *Campylocarpon* gen. nov. associated with black foot disease of grapevines (*Vitis* spp.). **Stud. Mycol.**, v. 50, p. 431- 455, 2004.
- INDEX FUNGORUM. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp#TopOfPage>>. Acesso em: jan. 2008.
- MALUTA, D. R.; LARIGNON, P. **Piednoir**: mieux vaut prévenir. *Viticulture*, v. 11, p. 71-72, 1991.
- MENDES, M. A. S.; SILVA, V. L. da; DIANESE, J. S.; FERREIRA, M. A. S. V.; SANTOS, C. E. N. dos; GOMES NETO, E.; URBEN, A. F.; CASTRO, C. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 555p. il.
- OLIVEIRA, M. R. V. de; MARTINS, O. M.; MARINHO, V. L. de A.; MENDES, M. A. S.; TENENTE, R. C. V.; FONSECA, J. N. L.; BATISTA, M. de F. **O mandato de quarentena vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 61 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 110).
- PELTI, E.; GUBLER, W. D. Characterization of *Cylindrocarpon* species, the cause black foot disease of grapevine in California. **Plant Disease**, Saint Paul, Minn., US, v. 89, p. 1051-1059, 2005.

SIVANESAN, A. CMI: descriptions of pathogenic fungi and bacteria: *Cylindrocarpon obtusisporum*, Mycopathologia, n. 928 p. 129-130. 1964 – 1990.

SIVANESAN, A. CMI: descriptions of pathogenic fungi and bacteria:

*Cylindrocarpon destructan*, Mycopathologia, n. 148., 1964 – 1990.

SUTTON, B. C. **The coelomycetes**: fungi imperfect with pycnidia acervuli and stromata. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696p.

**Comunicado Técnico, 182**

**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Serviço de Atendimento ao Cidadão Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) – Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 3448-4673 Fax: (61) 3340-3624 <http://www.cenargen.embrapa.br> e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

1ª edição  
1ª impressão (2008):

**Comitê de Publicações**

**Presidente:** Miguel Borges  
**Secretária-Executiva:** Maria da Graça Simões Pires Negrão  
**Membros:** Diva Maria de Alencar Dusi  
Luiz Adriano Maia Cordeiro  
José Roberto de Alencar Moreira  
Regina Maria Dechechi G. Carneiro  
Samuel Rezende Paiva  
**Suplentes:** João Batista Tavares da Silva  
Margot Alves Nunes Dode  
**Supervisor editorial:** Maria da Graça Simões Pires Negrão  
**Normalização Bibliográfica:** Rosameres Rocha Galvão  
**Editoração eletrônica:** Maria da Graça Simões Pires Negrão