

Comunicado Técnico 11

Embrapa
Hortaliças

PROTOCOLO DE TECNOLOGIA: Seleção para resistência a doenças em hortaliças

Jorge Roland Menezes dos Santos
Engenheiro Agrônomo, M.S. Fitopatologia

4. Tomateiro / Murcha-de-verticílio (*Verticillium dahliae* e *V. albo-atrum*)

Termos para indexação: Tomate; *Lycopersicon esculentum*; doença; resistência; seleção; fungo; murcha-de-verticílio; *Verticillium dahliae*; *V. albo-atrum*

Index terms: Tomatoes; *Lycopersicon esculentum*; diseases; resistance; selection; fungus; *Verticillium dahliae*; *V. albo-atrum*

1. ETIOLOGIA E VARIABILIDADE DO PATÓGENO

A murcha-de-verticílio (Fig. 1) é causada pelo fungo *Verticillium dahliae* Kleb. (CMI, 1970b) e *V. albo-atrum* Reinke & Berthold (CMI, 1970a). Este último ocorre principalmente em regiões de clima temperado. *Verticillium dahliae* é mais cosmopolita e é distinguido de *V. albo-atrum* principalmente por produzir microescleródios negros na superfície do meio de cultura BDA. Existem duas raças de *V. dahliae* descritas no mundo (Baergen *et al.*, 1993). A raça 1 é a mais prevalente no Brasil (Silva, 1978). A raça 2 é mais restrita porém já foi registrada em Pernambuco (Laterrot *et al.*,

1983), São Paulo (Cerezine, 1989) e Distrito Federal (Santos & Lopes, 1995).

2. HERANÇA DA RESISTÊNCIA GENÉTICA

A resistência do tomateiro à raça 1 tem herança simples, monogênica, dominante, regulada pelo gene *Ve* (Bender & Shoemaker, 1984). Todavia, a resistência do tomateiro a isolados que quebram a resistência do gene *Ve* é aparentemente de herança mais complexa, podendo ser quantitativa e/ou até isolado específico (Baergen *et al.*, 1993). Os genótipos Ohio-12 (Berry & Oakes, 1987), IRAT L3 (Laterrot, 1984) e Phillipino 2 (Baergen *et al.*, 1993) previamente reportados como resistentes à raça 2, foram suscetíveis quando inoculados com alguns isolados brasileiros (Santos, 1997). O genótipo LS-3844 mostrou bom nível de resistência a esses isolados locais (Santos, 1997). Os genótipos na Tabela 1 são usados como diferenciadores de raças.

3. PRODUÇÃO DE INÓCULO

Usar isolado novo com virulência alta pre-

viamente avaliada. Cultivar o fungo em BDA (250 g de batata; 16 g de dextrose; 20 g de agar; 1 litro de água). Transferir 5 discos de 3 mm de diâmetro da colônia do fungo para erlenmeyer de 250 ml contendo 150 ml de meio líquido de batata (250 g) e dextrose (16 g). Deixar crescer 15 dias em agitador automático à temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) e fotoperíodo de 12-14 h sob luz natural. Filtrar a suspensão de esporos em gaze dupla e calibrar com hemacitômetro para 10^6 esporos/ml (Santos, 1997). Isolados estocados por muito tempo devem ser reinoculados, reisolados e reavaliados quanto à virulência antes de serem utilizados.

4. METODOLOGIA DE SELEÇÃO DE GENÓTIPOS RESISTENTES

4.1. SELEÇÃO DEFINITIVA

Esse método tem como objetivo fazer uma avaliação definitiva da reação de genótipos. É recomendado, principalmente, para situações em que se tenha poucos acessos genéticos a serem avaliados, principalmente

cultivares comerciais ou linhagens avançadas não segregantes.

4.1.1. Inoculação: Semear os genótipos em vasos contendo 3 litros de solo de terço esterilizado, adubado com nitrato de cálcio (2g de nitrato/vaso) em casa de vegetação (temperatura de 20-25°C). Fazer o desbaste 7 dias após o plantio, deixando apenas 5 plantas/vaso. Inocular as plântulas 15 dias após o semeio, no estágio de 2 folhas verdadeiras. Duas horas antes da inoculação das mudas, molhar bem os vasos até à capacidade de campo. Arrancar as mudas cuidadosamente com os dedos (Fig. 2), procurando retirar todas as raízes. Lavar bem as raízes em balde com água para retirar todo o solo aderido. Juntar as plantas e cortar as raízes a 2 cm do colo com tesoura o mais uniforme possível. Imersar as raízes por 1 minuto na suspensão de 10^6 esporos/ml em Becker de 50-100 ml contendo 25-50 ml da suspensão de esporos. Transplantar as mudas para os mesmos vasos de onde foram arrancadas e adicionar ao colo de cada planta mais 5 ml da suspensão 10^6 esporos/ml, distribuindo uniformemente com Becker ou com auxílio de pipetador automático (Fig. 3). Manter o solo bem úmido durante os três primeiros dias após a inoculação. Depois disso, restringir ao máximo a irrigação dos vasos e molhar apenas o suficiente para não causar murcha irreversível nas plantas. Inocular 3 vasos/repetição e 5 plantas/vaso. Para cada tratamento inoculado deve-se fazer ao lado um tratamento idêntico (Fig. 4), porém sem inóculo (só com água), para servir de controle comparativo na avaliação dos sintomas nas folhas baixas (Santos, 1997). Utilizar o delineamento em blocos ao acaso, com 3 repetições. Fazer também os tratamentos de controle: inoculação das testemunhas-padrão (Tabela 1).

4.1.2. Avaliação: Avaliar aos 30 dias após a inoculação. Comparar com as testemunhas não inoculadas (Fig. 5) e com as variedades padrões diferenciadoras de raças. Genótipos

resistentes apresentam plantas saudáveis (verdes, sem murcha, sem amarelecimento das folhas baixas, sem necrose vascular). Genótipos suscetíveis apresentam, principalmente, amarelecimento (clorose) e/ou necrose em "V" invertido nos bordos e na região internódica dos folíolos das folhas baixas (Fig. 5). Alguns genótipos suscetíveis podem apresentar também pequena redução de crescimento e/ou discreto escurecimento vascular com suave encharcamento dos tecidos da região próxima às raízes, além dos sintomas de clorose e necrose em "V" das folhas baixas. Genótipos segregantes normalmente apresentam plantas saudáveis e doentes no mesmo vaso.

4.2. SELEÇÃO EM MASSA

Esse método tem como objetivo fazer uma triagem rápida para descarte de genótipos altamente suscetíveis e/ou selecionar genótipos altamente resistentes. É recomendado, principalmente, para situações em que se tenha número elevado de materiais genéticos a serem avaliados, tais como seleção de bancos de germoplasma ou avaliação de linhagens oriundas de genótipos segregantes. Embora seja um método para triagem em massa, é muito eficiente. Caso haja necessidade e/ou interesse pode-se reavaliar de forma mais criteriosa os genótipos resistentes selecionados nessa fase, de acordo com o método descrito no item 4.1., para confirmação da resistência.

4.2.1. Inoculação: É semelhante ao descrito no item 4.1.1., todavia as plantas são inoculadas com apenas 10 dias após o semeio e ainda no estágio cotiledonar (Fig. 6). É inoculado apenas um vaso com 5 plantas por tratamento (genótipo) e não é feito o tratamento idêntico sem inóculo.

4.2.2. Avaliação: É feita da mesma forma que no método descrito no item 4.1.2., porém avaliado aos 15-21 dias após a inoculação (Fig. 7).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAERGEN, K.O.; HEWITT, J.D.; STCLAIR, A. Resistance of tomato genotypes to four isolates of *Verticillium dahliae* race 2. *HortScience*, v.28, p.833-836, 1993.
- BERRY, S.Z.; OAKES, G.L. Ohio 11 and 12, *Verticillium* wilt-race 2 resistant greenhouse tomato breeding lines. *HortScience*, v.22, p.167, 1987. Resumo.
- BENDER, C.G.; SHOEMAKER, P.B. Prevalence of *Verticillium* wilt of tomato and virulence of *Verticillium dahliae* race 1 and race 2 isolates in western North Carolina. *Plant Disease*, v.68, p.305-309, 1984.
- CEREZINE, P.C. Murcha de *Verticillium* em tomateiro: variabilidade do patógeno e comportamento de variedades. Botucatu: UNESP, 1989. 80p. Tese Mestrado.
- CMI. *Verticillium albo-atrum*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Kew, n.255, 1970a.
- CMI. *Verticillium dahliae*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Kew, n.256, 1970b.
- LATERROT, H.; MELO, P.C.T.; BLANCARD, D. Ocorrência da raça 2 de *Verticillium* em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) no Estado de Pernambuco, Brasil. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.1, p.22-25, 1983.
- LATERROT, H. Specific resistance of *Verticillium dahliae* race 2 in tomato. *Tomato Genetic Cooperative Reporter*, n.34, p.10-11, 1984.
- SANTOS, J.R.M.; LOPES, C.A. Ocorrência de *Verticillium dahliae* raça 2 em tomateiro no Distrito Federal. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.20, p.355, 1995. Resumo. Suplemento.
- SANTOS, J.R.M. Methodology for screening tomato for Fusarium wilt, *Verticillium* wilt, Gray leaf spot, Early blight and Septoria leaf spot. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL TOMATO DISEASES, 1., 1996, Recife, PE. Proceedings... Recife: IPA, 1997. p.164-166.
- SILVA, G.S. Variabilidade de *Verticillium albo-atrum* e sua patogenicidade em algumas ervas daninhas. Piracicaba: ESALQ, 1978. 41p. Tese Mestrado.

Tabela 1: Genótipos-padrão diferenciadores de raças de *Verticillium dahliae* em tomateiro. (Santos, 1997)

GENÓTIPOS	REAÇÃO* / RAÇA	
	1	2
Ponderosa, Kada, Angela Hiper ou Walter	S	S
Floradade, Marmade V ou Santa Clara	R	S

*S = Suscetível; R = Resistente



Fig. 1 - Murcha-de-verticílio. Amarelecimento e necrose foliar em forma de "V" invertido



Fig. 2 - Arranquio das mudas para inoculação



Fig. 3 - Adição de inóculo com pipetador após a inoculação por imersão e o transplante



Fig. 4 - Mudas inoculadas (à esquerda) e tratamento com água (à direita)



Fig. 5 - Planta suscetível doente (à esquerda) e sadia não inoculada (à direita)



Fig. 6 - Inoculação em massa 10 dias após o plantio



Fig. 7 - Vista geral da seleção em massa para Murcha-de-verticílio



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças**

Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Km 09 - BR 060 - Caixa Postal 218
CEP 70359-970
Fone (0xx61) 385-3000
Fax (0xx61) 556 5744 e 556 2384
e-mail: soc.hortaliças@embrapa.br
www.cnph.embrapa.br

Tiragem: 1000 exemplares

Tratamento editorial: Dione Melo da Silva
Área de Comunicação e Negócios

O Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças da Embrapa, criado em 1981, tem por missão *viabilizar soluções para o desenvolvimento sustentável da agricultura de hortaliças por meio da geração, adaptação e transferência de conhecimentos e tecnologias, em benefício da sociedade.*

Localizado em Brasília, dispõe de um campo experimental de 115 hectares irrigáveis e seus laboratórios e demais instalações ocupam 22.000m² de área construída. O Centro conta com uma equipe técnica composta por 60 pesquisadores e técnicos especializados, atuando em diversas especialidades da pesquisa agrônoma.

A série Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças é destinada principalmente a agentes de assistência técnica, extensão rural, produtores rurais, estudantes, professores, pesquisadores e jornalistas.

