

**Determinação de espécies e de raças de isolados de *Verticillium* oriundos de diferentes Estados do Brasil**

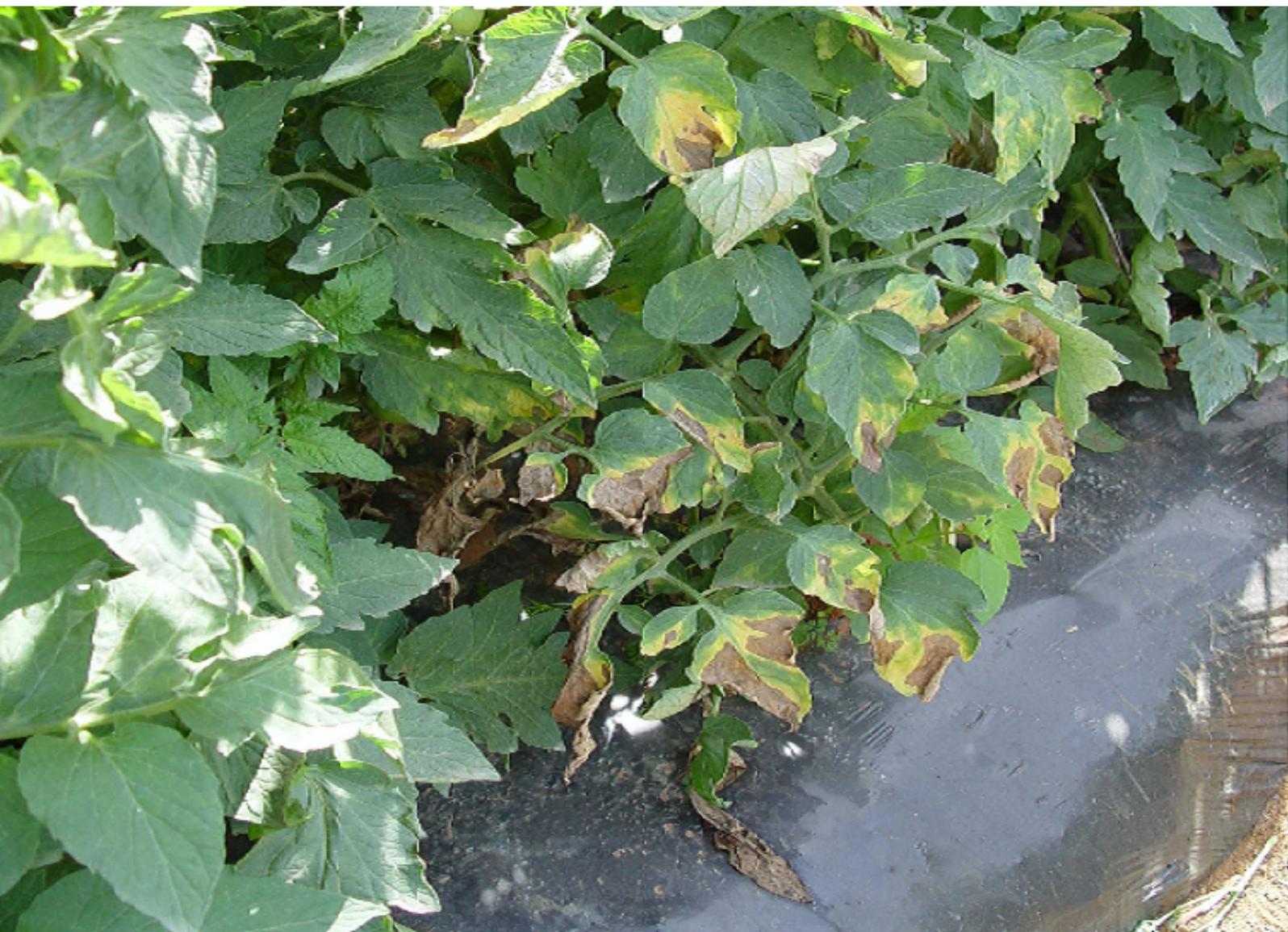


Foto: Ailton Reis

## **República Federativa do Brasil**

*Luiz Inácio Lula da Silva*

Presidente

## **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

*Luis Carlos Guedes Pinto*

Ministro

## **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Conselho de Administração**

*Luiz Gomes de Souza*

Presidente

*Silvio Crestana*

Vice-Presidente

*Alexandre Kalil Pires*

*Hélio Tollini*

*Ernesto Partemiani*

*Cláudia Assunção dos Santos Viegas*

Membros

## **Diretoria-Executiva da Embrapa**

*Silvio Crestana*

Diretor-Presidente

*José Geraldo Eugênio de Franca*

*Kepler Euclides Filho*

*Tatiana Deane de Abreu Sá*

Diretores-Executivos

## **Embrapa Hortaliças**

*José Amauri Buso*

Chefe-Geral

*Carlos Alberto Lopes*

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

*Gilmar Paulo Henz*

Chefe Adjunto de Comunicação, Negócios e Apoio

*Geni Livtin Villas Bôas*

Chefe Adjunto de Administração

*Empresa Brasileira de Pesquisa agropecuária  
Embrapa Hortaliças  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 31***

## **Determinação de espécies e de raças de isolados de *Verticillium* oriundos de diferentes Estados do Brasil**

*Ailton Reis  
Leonardo S. Boiteux  
Hélcio Costa □□*

□□  
□

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Hortaliças  
BR 060 Rodovia Brasília-Anápolis km 9  
Caixa Postal 218  
70359-970 Brasília-DF  
Telefone (61) 3385-9110  
E-mail: [sac@cnph.embrapa.br](mailto:sac@cnph.embrapa.br)

Comitê de Publicações da Embrapa Hortaliças:

Presidente: Gilmar P. Henz  
Secretária-Executiva: Fabiana S. Spada  
Editor Técnico: Flávia A. de Alcântara  
Membros: Alice Maria Quezado Duval  
Edson Guiducci Filho  
Milza M. Lana

Normalização bibliográfica: Rosane Mendes Parmagnani  
Editoração eletrônica: Rafael Miranda Lobo

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).

---

Reis, Ailton

Determinação de espécies e raças de isolados de *Verticillium* oriundos de diferentes Estados do Brasil / Ailton Reis ... [et al.]. -- Brasília : Embrapa Hortaliças, 2007.

13 p. ; (Embrapa Hortaliças ; Boletim de pesquisa e desenvolvimento; ISSN 1677-2229 ; 31)

1. Hortaliça Fungo - Doença. 2. Murcha-de-verticílio - Identificação. I. Boiteux, Leonardo Silva. II. Costa, Helcio. III. Título. IV. Série.

---

CDD 632.4 (21. ed.)

©Embrapa 2007

## Sumário

Resumo .....	1
Abstract .....	2
Introdução .....	3
Material e Métodos.....	3
Resultados e Discussão.....	5
Conclusões .....	6
Referências.....	7

# Determinação de espécies e de raças de isolados de *Verticillium* oriundos de diferentes estados do Brasil

---

**Ailton Reis<sup>1</sup>**

**Leonardo S. Boiteux<sup>2</sup>**

**Hélcio Costa<sup>3</sup>**

## Resumo

O gênero *Verticillium* apresenta duas importantes espécies de fitopatógenos, *V. dahliae* e *V. albo-atrum*, cuja distinção é complicada devido à elevada similaridade morfológica entre elas. A capacidade de produção em cultura de microescleródios dos isolados de *V. dahliae* tem sido empregada como a principal característica para distinção dessas duas espécies. *Verticillium dahliae* apresenta especialização fisiológica em tomateiro tendo sido descritas duas raças. O constante monitoramento das raças do patógeno presentes nas regiões produtoras é importante para os programas de melhoramento. O presente trabalho teve por objetivo a identificação e caracterização de uma coleção de isolados brasileiros de *Verticillium*. Quarenta e seis isolados foram avaliados quanto à capacidade de formarem microescleródios em cultura e quanto à virulência em variedades de tomateiro. Os isolados padrões de *V. dahliae* e todos os isolados em teste formaram microescleródios. O isolado padrão de *V. albo-atrum* não formou microescleródios. Desta forma, todos os isolados coletados no Brasil em tomate e em cinco outras hospedeiras (batata, berinjela, morango, quiabo e cacau) foram classificados como pertencentes à espécie *V. dahliae*. Dez isolados foram classificados como raça 1, 32 isolados como raça 2 e quatro foram avirulentos em tomateiro. A raça 1 parece ter predominado até a década de 1990, enquanto a raça 2 passou a predominar mais recentemente, provavelmente devido a maciça utilização de cultivares no Brasil com o gene *Ve*, que confere resistência à raça 1 do patógeno.

<sup>1</sup> Eng. Agr., DSc., Embrapa Hortaliças, Brasília-DF. E-mail: [ailton@cnph.embrapa.br](mailto:ailton@cnph.embrapa.br)

<sup>2</sup> Eng. Agr., PhD., Embrapa Hortaliças, Brasília-DF. E-mail: [boiteux@cnph.embrapa.br](mailto:boiteux@cnph.embrapa.br)

<sup>3</sup> Eng. Agr., DSc., Incaper, Venda Nova do Imigrante-ES. E-mail: [helciocosta@incaper.es.gov.br](mailto:helciocosta@incaper.es.gov.br)

# Categorization of *Verticillium* isolates from tomato and other hosts into species and races

---

## Abstract

*The genus Verticillium has two important plant pathogen species (V. dahliae and V. albo-atrum), which classification is difficult due to extreme morphological similarities they share. The ability of forming microsclerotia in culture medium has been employed as a quick identification for V. dahliae isolates. Verticillium dahliae has also physiological specialization in tomato with two races being reported so far. The constant survey and monitoring of V. dahliae races in the main producing areas of Brazil provides crucial information for tomato breeding programs aiming to develop cultivars with stable resistance to this fungus. The objective of the present work was to characterize a collection of 46 Verticillium isolates obtained from tomato and other hosts in terms of species and races via inoculation in a set of differential tomato cultivars. All isolates evaluated in the present assay as well as the standard V. dahliae isolates were able to produce microsclerotia in culture medium, whereas the standard V. albo-atrum isolate was not. Therefore, all isolates collected from tomato and other five hosts (potato, eggplant, strawberry, okra and cacao) in Brazil were classified as V. dahliae. Ten isolates were classified as race 1, 32 as race 2 and four were classified as avirulent on tomato. Race 1 isolates were predominant during the 1990s, but nowadays race 2 isolates became the prevalent ones, probably due to the massive employment in Brazil of tomato cultivars carrying the race 1 resistance gene Ve .*

*Index terms: tomato, strawberry, eggplant, okra, cacao, verticillium-wilt.*

## Introdução

O gênero *Verticillium* apresenta duas espécies de importância mundial como fitopatógenos, *V. dahliae* e *V. albo-atrum* (SCHNATHORST, 1981; CARDER; BARBARA, 1991). Estes fungos são bastante polífagos (BHAT; SUBBARAO, 1999), sendo reportados atacando principalmente tomate, berinjela, jiló, algodão, cacau, morango e quiabo. No Brasil, existem relatos da presença das duas espécies em tomateiro e em outras hospedeiras (MENDES *et al.*, 1998). Entretanto, não existe a plena certeza que estes relatos estão totalmente corretos uma vez que, por muito tempo, os isolados de *V. dahliae* foram considerados como sendo variantes/isolados formadores de esclerócio dentro da espécie *V. albo-atrum* (SCHNATHORST, 1981; FRADIN; THOMMA, 2006).

A morfologia de conídios e conidióforos é muito semelhante nas duas espécies, dificultando a pronta classificação dos isolados destes patógenos. A capacidade de produzir microescleródios em cultura por isolados de *V. dahliae* tem sido empregada como a principal característica para distinção destas espécies (JONES *et al.*, 1991; FRADIN; THOMMA, 2006).

Dentre as hortaliças, destacam-se o tomateiro e a berinjela como hospedeiros de espécies de *Verticillium* no Brasil. Este fungo pode ser um patógeno altamente destrutivo para ambas as culturas (KUROZAWA & PAVAN, 1998). No caso do tomate, o controle da doença tem sido feito pelo uso de variedades resistentes, contendo o gene *Ve*, que torna a planta resistente à raça 1 do patógeno (KAUCHUK *et al.*, 2001). Entretanto, em tomateiro, *V. dahliae* apresenta duas raças fisiológicas (raças 1 e 2), sendo a raça 1 amplamente distribuída no país e a raça 2 tendo sido formalmente relatada em Pernambuco (LATERROT *et al.*, 1983), São Paulo (CERESINE *et al.*, 1990) e Distrito Federal (SANTOS; LOPES, 1995). O constante monitoramento das mesmas é importante para os programas de melhoramento genético visando obter variedades resistentes (KUROZAWA; PAVAN, 1998).

Este trabalho teve como objetivo identificar em nível específico e quanto à raça uma coleção de isolados de *Verticillium* oriundos de diferentes hospedeiras em diversas regiões do Brasil.

## Material e Métodos

Quarenta e seis isolados de *Verticillium* da coleção de fungos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Hortaliças (Tabela 1) foram repicados para placas de petri com Batata Dextrose Agar. Foram feitas três placas para cada isolado e estas foram incubadas a 20°C por 30 dias. Após este período, as placas foram observadas a olho nu e sob lupa, para a detecção de microescleródios. Isolados que formaram estas estruturas em meio de cultura foram classificados como *V. dahliae*, os que não os formaram, como *V. albo-atrum*. Foram utilizados, como testemunhas, um isolado padrão de *V. albo-atrum* (Vert.24) e dois de *V. dahliae* (Vert.02 = raça 1 e Vert.03 = raça 2). Os isolados foram também cultivados em meio líquido Batata Dextrose, por 15 dias e uma suspensão de conídios ( $1 \times 10^6$ ) foi inoculada nas seguintes variedades de tomateiro: 'Ponderosa' (suscetível às raças 1 e 2) e 'Floradade' (resistente à raça 1) devido a presença do gene *Ve* (KAWCHUK *et al.*, 2001). As plantas foram inoculadas no estágio de dois pares de folhas verdadeiras. Foram utilizados três vasos (com quatro plantas cada) para cada isolado. A avaliação foi realizada 30 dias após a inoculação. Foi observada a ocorrência de sintomas externos (amarelecimento e murcha de folhas) e internos (escurecimento do sistema vascular). A avaliação foi feita com escala de notas, variando de 1 (sem sintomas) a 5 (sintomas severos ou planta morta) (SANTOS, 1998). Foi considerado virulento sobre uma hospedeira o isolado que apresentou nota média acima de 2. Todos os isolados foram avaliados duas vezes e, para classificação dos mesmos, foi considerada a média das notas das duas avaliações.

**Tabela 1.** Classificação de raças de isolados de *Verticillium* de acordo com a reação de variedades diferenciadoras de tomate.

Isolado	Hospedeira Original	Local de Coleta (Estado)	Ano da Coleta	Reação sobre a diferenciadora		Raça
				Ponderosa	Floridade	
Vert.01	Tomate	São Paulo	1992	3,00 <sup>*</sup>	1,00	1
Vert.02 <sup>a</sup>	Tomate	São Paulo	1992	5,00	1,50	1
Vert.03 <sup>b</sup>	Tomate	São Paulo	1992	3,17	2,17	2
Vert.04	Tomate	São Paulo	1992	1,67	1,00	Avr <sup>**</sup>
Vert.05	Tomate	Distrito Federal	1994	3,33	2,50	2
Vert.06	Tomate	Distrito Federal	1995	2,67	2,17	2
Vert.07	Berinjela	Distrito Federal	1995	2,17	1,00	1
Vert.10	Cacau	Bahia	1997	3,00	1,00	1
Vert.11	Cacau	Bahia	1997	1,84	1,50	Avr
Vert.12	Quiabo	Minas Gerais	1997	3,50	1,17	1
Vert.14	Berinjela	São Paulo	1997	2,67	1,17	1
Vert.16	Berinjela	São Paulo	1997	2,33	1,00	1
Vert.19	Berinjela	São Paulo	1997	2,17	1,33	1
Vert.24 <sup>c</sup>	Batata	USA (Idaho)	1997	1,84	1,17	Avr.
Vert.27	Tomate	Espírito Santo	2003	3,33	2,84	2
Vert.28	Quiabo	Minas Gerais	2003	2,84	2,84	2
Vert.30	Tomate	Espírito Santo	2004	3,84	3,50	2
Vert.32	Tomate	Espírito Santo	2004	2,84	2,50	2
Vert.36	Tomate	Rio de Janeiro	2004	1,50	1,33	Avr.
Vert.38	Tomate	Santa Catarina	2004	3,00	3,17	2
Vert.39	Tomate	Rio Grande Sul	2004	3,50	3,33	2
Vert.43	Tomate	Santa Catarina	2005	3,67	3,33	2
Vert.44	Tomate	Distrito Federal	2005	4,00	4,17	2
Vert.46	Tomate	Distrito Federal	2005	4,17	3,33	2
Vert.48	Morango	Espírito Santo	2005	4,00	4,67	2
Vert.50	Morango	Espírito Santo	2005	4,50	4,17	2
Vert.51	Morango	Espírito Santo	2005	4,50	4,50	2
Vert.52	Tomate	São Paulo	2005	2,17	1,50	1
Vert.53	Tomate	São Paulo	2005	3,67	3,33	2
Vert.54	Tomate	São Paulo	2005	4,00	4,17	2
Vert.56	Tomate	São Paulo	2005	3,17	3,00	2
Vert.57	Tomate	São Paulo	2005	3,33	3,17	2
Vert.58	Tomate	São Paulo	2005	3,50	4,00	2
Vert.59	Tomate	Minas Gerais	2005	3,84	3,33	2
Vert.61	Tomate	São Paulo	2005	4,00	4,00	2
Vert.62	Berinjela	São Paulo	2005	3,84	3,17	2
Vert.63	Tomate	Santa Catarina	2005	3,84	4,17	2
Vert.64	Tomate	Santa Catarina	2005	4,17	3,84	2
Vert.65	Tomate	Santa Catarina	2005	4,00	3,17	2
Vert.67	Tomate	Espírito Santo	2005	3,17	3,00	2
Vert.69	Tomate	Espírito Santo	2005	3,84	3,50	2
Vert.73	Tomate	Espírito Santo	2006	2,50	1,33	1
Vert.74	Tomate	Espírito Santo	2006	3,50	2,84	2
Vert.75	Tomate	Espírito Santo	2006	4,17	3,33	2

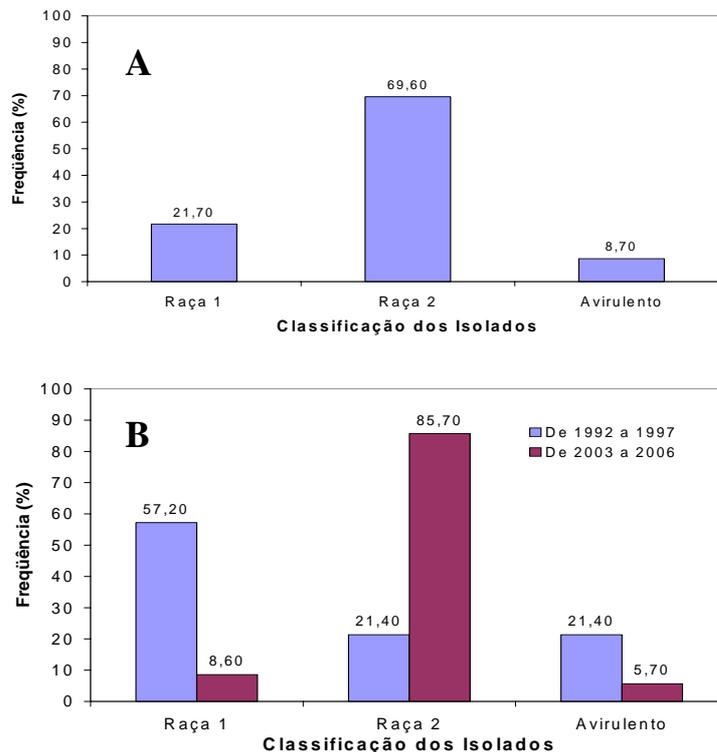
Vert.76	Tomate	Espírito Santo	2006	1,50	1,17	Avr.
Vert.79	Tomate	Distrito Federal	2006	3,00	3,33	2
Vert.87	Berinjela	Rio de Janeiro	2006	2,50	1,17	1
Vert.88	Tomate	Rio de Janeiro	2006	3,00	3,33	2
Vert.90	Tomate	Minas Gerais	2006	3,00	2,50	2

<sup>†</sup>Média de notas, obtidas com uma escala, variando de 1 a 5; <sup>\*\*</sup>Avirulento.

<sup>a</sup>Testemunha, *Verticillium dahliae*, raça 1; <sup>b</sup>Testemunha, *V. dahliae*, raça 2 e <sup>c</sup>Testemunha, *V. albo-atrum*.

## Resultados e Discussão

Todos os isolados avaliados formaram microesclerócios em cultura, bem como os isolados padrões de *V. dahliae*, enquanto o isolado padrão de *V. albo-atrum* não formou estas estruturas. Estes resultados evidenciam que os isolados, coletados no Brasil, pertencem à espécie *V. dahliae*. Isto indica fortemente que os relatos da presença de *V. albo-atrum* no Brasil (Mendes *et al.*, 1998) estejam, provavelmente, equivocados. Trinta e dois isolados (69,6%) infectaram as duas variedades diferenciadoras e foram classificadas como raça 2, enquanto que 10 (21,7%) isolados infectaram apenas a variedade Ponderosa e foram classificados como raça 1. Quatro isolados (8,7%) foram avirulentos sobre as variedades inoculadas (Tabela 1 e Figura 1A).



**Fig. 1.** Frequência de isolados de *Verticillium dahliae* nas diferentes classes de virulência, no período de 1992 a 2006 (A) e separado por períodos: de 1992 a 1997 e de 2003 a 2006 (B).

A predominância da raça 2 entre os isolados avaliados, provavelmente porque a maioria deles foi coletada no período de 2003 até 2006. A maioria dos isolados coletados até 1997 foi classificada como raça 1 (57,2%), enquanto que aqueles coletados mais recentemente (85,7%), no período de 2003 a 2006, eram quase todos da raça 2 (Figura 1B). Este resultado pode ser reflexo da maciça utilização de cultivares com o gene *Ve*, que exerce uma pressão de seleção a favor da predominância da raça 2 do patógeno.

Foram encontrados isolados da raça 2 em seis estados e no Distrito Federal (Tabela 1). Aparentemente, este é o primeiro relato da raça 2 de *V. dahliae* nos Estados do Rio Grande do Sul, de Santa Catarina, do Rio de Janeiro, do Espírito Santo e de Minas Gerais. Esta raça já havia sido relatada em tomate no Brasil apenas em Pernambuco (LATERROT *et al.*, 1983), São Paulo (CERESINE *et al.*, 1990) e no Distrito Federal (SANTOS & LOPES, 1996). É necessário um levantamento ainda mais abrangente, em várias lavouras comerciais dos principais estados produtores de tomate do Brasil, pois é possível que a raça 2 esteja presente em todas as regiões onde ocorram condições favoráveis ao patógeno. Esta informação é muito importante para os sistemas de extensão rural, visando à recomendação de cultivares, bem como para os programas de melhoramento genético, visando a incorporação de resistência a doenças em cultivares de tomate.

Os resultados são preocupantes, pois as cultivares encontradas no comércio brasileiro, não possuem resistência a raça 2 do patógeno. Os resultados claramente indicam que esta doença é um problema que ameaça a tomaticultura do Brasil. Desta forma, os programas de melhoramento de tomate devem devotar mais esforços na busca de fontes de resistência ao patógeno e incorporação de fatores de resistência em novas cultivares de tomate.

## Conclusões

- A espécie *V. albo-atrum* parece não ocorrer no Brasil e *V. dahliae* aparece com a única espécie presente infectando tomate e cinco outras hospedeiras;
- A raça 2 de *V. dahliae* predomina atualmente no Brasil, provavelmente devido a pressão de seleção exercida pelo amplo uso do gene *Ve* (que controla resistência específica à raça 1);
- Pela freqüência de isolados recuperados pode-se supor que a raça 1 possuía maior importância epidemiológica até a década de 1990, ou seja, anterior a adoção, em maior escala, de variedades contendo o gene *Ve*.

## Referências

- BHAT, R. G.; SUBBARAO, K. V. Host range specificity in *Verticillium dahliae*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 89, n. 12, p. 1218-1225, 1999.
- CARDER, J. H.; BARBARA, D. J. Molecular variation and restriction fragment length polymorphism (RFLPs) within and between six species of *Verticillium*. **Mycological Research**, Cambridge, v. 95, n. 8, p. 935-942, 1991.
- CERESINI, P. C.; KUROZAWA, C.; MISCHAN, M. M. Variabilidade patogênica de *Verticillium albo-atrum* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 16, n. 1, p. 28, 1990. Resumo.
- FRADIN, E. F.; THOMMA, B. P. H. J. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 7, n. 2, p. 71-86, 2006.
- JONES, J. B.; JONES, J. P.; STALL, R. E.; ZITTER, T. A. **Compendium of tomato diseases**. St. Paul: APS Press, 1991. 73 p.
- KAWCHUK, L. M.; HACHEY, J.; LYNCH, D. R.; KULCSAR, F.; ROOIJEN, G. van; WATERER, D. R.; ROBERTSON, A.; KOKKO, E.; BYERS, R.; HOWARD, R. J.; FISCHER, R.; PRÜFER, D. Tomato Ve disease resistance gene encode cell surface-like receptors. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, Washington, v. 98, p. 6511-6515, 2001.
- 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: vol. 2: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: CERES, 1997. p. 690-719.
- LATERROT, H.; MELO, P. C. T.; BLANCARD, D. Ocorrência da raça 2 de *Verticillium* em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) industrial no Estado de Pernambuco, Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 1, n. 2, p. 22-25, 1983.
- MENDES, M. A. S.; SILVA, V. L.; DIANESE, J. C.; FERREIRA, M. A. S. V.; SANTOS, C. E. N.; GOMES NETO, E.; URBEN, A. F.; CASTRO, C. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Cenargen, 1998. 569 p.
- SANTOS, J. R. M. Methodology for screening tomato for fusarium wilt, verticillium wilt, gray leaf spot, early blight and septoria leaf blight. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PROCESSING TOMATO, 1.; INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL TOMATO DISEASES, 1., 1996, Recife. **Proceedings...** Alexandria: ASHS/IPA, 1997. p.164-166.
- SANTOS, J. R. M.; LOPES, C. A. Ocorrência de *Verticillium dahliae* raça 2 em tomateiro no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, p. 355, 1995. Suplemento. Resumo.
- SCHNATHORST, W. C. Life cycle and epidemiology of *Verticillium*. In: MACE, E.; BELL, A. A.; BECKMAN, C. H. (Ed.). **Fungal wilt diseases of plants**. New York: Academic Press, 1981. p. 81-111.



---

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
BR 060 Km 09 Brasília/Anápolis  
Caixa Postal 218 CEP 70359-970 Brasília, DF  
Fone: (61) 3385-9110 Fax: (61) 3385-9042  
sac.hortaliças@embrapa.br  
www.cnph.embrapa.br*



**Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento**

