

# Comportamento de híbridos de couve chinesa à isolados de *Plasmodiophora brassicae* \*

Daniel Dias Rosa <sup>1,2</sup>; Ana Carolina Firmino <sup>1,2</sup>; Edson Luiz Furtado <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista – UNESP, Faculdade de Ciências Agrônomicas – FCA, Departamento de Produção Vegetal - Setor Defesa Fitossanitária, CP 237, CEP: 18603-970 Botucatu, SP. <sup>2</sup>Bolsista do CNPq. com \*Auxílio Pesquisa FAPESP: 07/53834-5  
Autor para correspondência: Daniel Dias Rosa (ddrosa@gmail.com)  
Data de chegada: 30/01/2010. Aceito para publicação em: 10/10/2010.

1707

## RESUMO

Rosa, D.D., Firmino, A.C., Furtado, E.L. de. Comportamento de híbridos de couve chinesa à isolados de *Plasmodiophora brassicae*. *Summa Phytopathologica*, v.36, n.4, p.342-345, 2010.

Analisou-se o comportamento de cinco híbridos comerciais de couve chinesa perante a agressividade de 24 isolados de *Plasmodiophora brassicae* provenientes de diferentes regiões do estado de São Paulo. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação e delineado em blocos ao acaso. Verificou-se que os cinco híbridos foram

suscetíveis a todos os isolados de *P.brassicae*, sendo o híbrido 3 com comportamento mais resistente e o híbrido 2 com o comportamento mais suscetível. Dentre os isolados, verificou-se que os isolados de Piedade-SP foram os mais agressivos e os isolados Ribeirão Preto-SP foram os menos agressivos perante os cinco híbridos.

**Palavras-chave adicionais:** hérnia das crucíferas, resistência, variabilidade

## ABSTRACT

Rosa, D.D., Firmino, A.C., Furtado, E.L. Chinese cabbage hybrids behavior to *Plasmodiophora brassicae* isolates. *Summa Phytopathologica*, v.36, n.4, p.342-345, 2010.

We analyzed the performance of five commercial Chinese cabbage hybrids before the aggressiveness of 24 *Plasmodiophora brassicae* isolates from different regions of the state of Sao Paulo. The test was conducted in a greenhouse and set out in blocks. It was found that the five hybrids were

susceptible to all isolates *P.brassicae*, and the hybrid 3 with behavior more resistant hybrid and two with the behavior more likely. Among the isolates, it was found that the Piedade-SP isolates were the most aggressive and Ribeirão Preto-SP isolates were less aggressive towards the five hybrids.

**Keywords:** clubroot of Crucifers, resistance, variability

A família Brassicaceae abriga mais de 3.000 gêneros, que agrupam entorno de 12.000 espécies e variedades botânicas, sendo que muitas dessas são de ampla utilização pela humanidade para alimentação, dentre elas a Couve chinesa (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) destaca-se entre as mais importantes. Cultivada em quase todo o globo, a couve chinesa apresenta um alto consumo no Brasil, sendo que só no estado de São Paulo apresenta 101 hectares de cultivo (1). Inúmeros são os problemas fitossanitários que acometem as espécies da família Brassicaceae, dentre eles se destacam a Hérnia das crucíferas.

Hérnia das crucíferas é uma doença que acomete toda a família Brassicaceae e tem como agente causal o protozoa *Plasmodiophora brassicae*. Dentre seus hospedeiros, a couve chinesa (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) é um dos mais suscetíveis a doença.

*Plasmodiophora brassicae* foi identificado como agente causal da “hérnia das crucíferas” por Woronin em 1878, sendo que existem relatos da doença a partir do século XI, mas somente em 1930, Cook e Swartz relataram o ciclo de vida do patógeno e com isso o ciclo infeccioso da doença (2). A doença apresenta distribuição cosmopolita (3).

A inexistência de dados sobre o impacto econômico, assim como dados de incidência, perdas e prejuízos no Brasil faz com que a doença muitas vezes seja considerada uma doença secundária, mas na cultura da Canola (*Brassica napus* L. var *oleifera*) no Canadá, sabe-se que a

incidência deste patógeno sobre variedades susceptíveis pode causar perdas entre 70 a 98% da cultura, demonstrando assim o grande potencial destrutivo da doença (4). Na Austrália estima-se que 10% da produção das Brassicaceae é perdida devido ao ataque deste patógeno, levando a um prejuízo de US\$ 13 milhões (5).

Em contra partida, o desenvolvimento de cultivares e híbridos resistentes esbarram na problemática de que o patógeno é dotado de uma alta variabilidade genética e, com isso, desenvolve uma ampla variação patogênica, apresentando, assim, patótipos ou raças, fazendo com que seja cada vez mais difícil se obter uma cultivar resistente ao patógeno. (6).

Devido ao potencial destrutivo da *P. brassicae*, a procura por resistência é extremamente importante, visto a alta variabilidade deste patógeno, apesar de muito pouco ser conhecido sobre o mecanismo de variabilidade da espécie e de populações isoladas de *P. brassicae*, mas sabe-se que em apenas uma planta com hérnia é possível existir varias raças infectando o seu sistema radicular.

Segundo Manzanares-Dauleux *et al.* (7) a presença de um “mix” de raças, ou genótipos, de *P. brassicae*, pode ser comprovado quando é efetuado o isolamento de um único esporo, esporos simples, zoósporo primário, e sua inoculação em planta, onde pode-se observar uma grande variabilidade de virulência destes esporos simples, sendo que cada esporo simples se comporta com um índice de infecção acima

ou abaixo do índice observado quando se efetua a infecção utilizando-se do “mix” proveniente da “galha” coletada a campo.

A existência desta variabilidade atrapalha, e muito, os programas de melhoramento das Brassicaceas, visto que a distribuição das raças não é homogênea sobre toda a área e que algumas raças apresentam uma seletividade pelo hospedeiro, fazendo com que se tenha um período muito curto em que a cultivar resistente se apresentem resistentes em condições de campo, levando assim a quebra de resistência e conseqüentemente o abandono da cultivar melhorada (8).

Anualmente as empresas produtoras de sementes, responsáveis pela produção de híbridos resistentes a hérnia das crucíferas, vêm efetuando diversos cruzamentos visando obter novos materiais com resistência a doença, mas sabe-se que em brássicas, poucos genes de resistência são atuantes (9, 10, 11), sendo a combinação de todo processo decisivos para o desenvolvimento e aprimoramento de cultivares resistentes.

Desta forma, estudos sobre resistência de cultivares já existentes e comercializadas, subsidiam de forma rápida a decisão do produtor sobre a escolha das espécies e cultivares a serem plantadas em uma determinada região.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a resistência de cinco híbridos comerciais de couve chinesa (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) a diversos isolados do patógeno *Plasmiodiophora brassica*, proveniente de varias regiões do estado de São Paulo.

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, onde utilizou-se de isolados de *P. brassicae* obtidas de diferentes regiões do Estado de São Paulo (Tabela 1), os quais foram testados perante cinco híbridos de couve chinesa (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) Híbridos 80028(CR Power); Híbrido Pak Choi SC8-104; Híbrido Komachi; Híbrido AF66 e Híbrido Pak Choi Canton SK., com o intuito de se avaliar a suscetibilidade dos hospedeiros e a diversidade de agressividade do patógeno.

Os testes foram compostos por 5 blocos ao acaso, sendo que cada bloco contava com as cinco variedades utilizadas e todos os 24 isolados. Utilizou-se de quatro plantas como repetição dentro de cada bloco. Cada planta foi alocada em uma vaso de plástico de 4 Litros, com pratinho, preenchido de substrato orgânico Plantimax HT®, com pH ajustado para 6.0. Optou-se pelo modelo experimental em blocos para eliminar possíveis variações edáficas comuns a casa de vegetação.

O processo de inoculação das plantas se deu utilizando-se 3 mL de uma suspensão de  $10^6$  esporo/mL distribuídos na região do colo das plantas de 30 dias de idade, esta suspensão foi obtida da trituração de 40 gramas de galhas coletadas no campo, adicionadas a 200 mL de água destilada esterilizada, sendo triturada em um liquidificador por 30 segundos.

O nível de severidade foi analisado utilizando-se a escala de nota descrita por Klewer *et al.* (12). Utilizando-se das notas de 0 a 4, sendo que a nota 0 corresponde a planta sadia, nota 1 até 25% do sistema radicular afetado, nota 2 até 50% do sistema radicular afetado, nota 3 até 75% do sistema radicular afetado e nota 4 onde 100% do sistema radicular foi afetado. De posse das respectivas notas, efetuou-se o cálculo do Índice de Doença (ID), com base na formula  $ID = (n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4) \times 100/4N_t$ , onde  $n_1$  ao  $n_4$  é o número de plantas dentro das respectivas notas e  $N_t$  é o número de plantas testadas.

Com base no índice de severidade, foi possível avaliar a patogenicidade de um isolado em relação a diversos hospedeiros e a resistência, ou suscetibilidade, do hospedeiro em relação aos isolados testado, podendo assim, num futuro, ser utilizado para

avaliar a resistência ou susceptibilidade de cultivares. Pois valores de ID 25 considera-se que a planta é resistente, valores entre 25 e 50 considera-se resistência intermediária e valores de ID maior que 50 considera-se que a cultivar é susceptível, já em relação aos isolados, considerou-se que ID 10 baixa agressividade. Entre 10 e 40 média agressividade e maior que 40 considerou-se o isolado como agressivo (13). Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando-se o teste Tukey a 5% de significância.

Verificou-se diferenças estatísticas nos comportamento dos híbridos testados a resistência a *P. brassicae*, assim como houve diferença na agressividade dos diferentes isolados de patógeno (Tabela 1).

Verificou-se que o híbrido Pak choi SC8-104 apresentou-se como o mais suscetível, com ID igual a 63,5% de suscetibilidade, enquanto que o híbrido Komachi se mostrou como o mais resistente, com ID de 30%. Entre os isolados, verificou-se que isolados provenientes da região de Piedade – SP são os mais agressivos, com um índice de doença acima de 60%, enquanto que os isolados de Ribeirão Preto foram os menos agressivos, com um índice de doença entorno de 30%. Estes resultados demonstram que há variabilidade patogênica entre os isolados do estado de São Paulo, assim como níveis de resistência entre os híbridos avaliados

Quando avaliado o valor médio de cada híbrido perante todos os isolados verifica-se que 3 híbridos apresentam-se com reação intermediárias aos híbridos Pak choi SC8-104 e Komachi, sendo que o híbrido 80028(CR Power) apresentou um ID igual a 54%, o híbrido Pak choi Canton SK com ID igual a 52,9% e o híbrido AF66 com ID igual a 44,8% (Tabela 1).

Com base na escala de resistência utilizada, observa-se que os híbridos testados apresentaram graus de resistência variando de intermediária a suscetível, haja vista que não verificou-se valores de ID abaixo de 25, que conferiria a classificação de resistente as híbridos testada (Tabela 1).

Já em relação ao comportamento dos isolados em relação ao índice de doença, verificou-se que esse variou de 67%, para o isolado PB14-01 até 27% para o isolado PB19-01, ou seja, a agressividade dos isolados variou de alta a média, respectivamente (Tabela 1)

Observa-se que os isolados provenientes de região de Piedade e de São Roque apresentam ID maiores que de outras regiões do estado, entorno de 60%, e os isolados das regiões de Embu-guaçu, Ribeirão Preto e Cabreúva são os que apresentaram os menores índices de doença do estado, variando de 33, 36,5 e 37%, respectivamente (Tabela 1)

Strelkov *et al.* (13), utilizando as linhas diferenciadoras européias, demonstram claramente a existência de variabilidade da agressividade de isolados coletados em regiões distintas e também na mesma região, demonstrando que o isolado selvagem, ou o isolado nativo, que é composto de um mix de genótipos do patógeno, apresenta grande diversidade internamente e externamente a região estudada. Fato esse também observado aqui, haja vista que isolados da mesma região, como PB19-01 e PB19-02, provenientes da região de Embu-guaçu, apresentaram até 30% de diferença dos IDs entre os isolados (Tabela 1).

Wit e van de Weg (14) relatam que no teste de agressividade de isolados de selvagens, perante três variedades de rabanete, a existência de isolados poli-patotipos, ou seja, poli-raças. Esse evento se dá pelo cultivo de hospedeiros susceptíveis a todas as raças, atuando como uma propagação maciça das raças ali existentes, evento esse que pode ser observado nas regiões de intenso cultivo e com hospedeiros suscetíveis, tais como as regiões de Piedade e São roque, já no caso de áreas onde existam poucas raças, essas são selecionadas possivelmente,

**Tabela 1.** Local de origem, índice de severidade e de agressividade de isolados de *Plasmodiophora brassicae* perante cinco cultivares de couve chinesa (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) (1 - Híbrido 80028(CR Power); 2 - Híbrido Pak choi SC8-104; 3 - Híbrido Komachi; 4 - Híbrido AF66; 5 - Híbrido Pak choi canton SK

Local de origem	Isolados	Híbridos de Couve chinesa					ID Médio	C.V. (%)
		1	2	3	4	5		
Piedade	PB13-01	70 Aa	65 Aa	20 Cb	70 Aa	75 Aa	60,0	5,7
Piedade	PB13-02	80 Aa	80 Aa	35 Bc	65 Ab	65 Ab	65,0	6,2
São Roque	PB14-01	80 Aa	80 Aa	40 Ac	60 Ab	75 Ab	67,0	6,4
São Roque	PB14-02	50 Bb	65 Aa	40 Ab	50 Ab	50 Ab	51,0	4,9
Atibaia	PB15-01	45 Bb	75 Aa	45 Ab	55 Ab	55 Ab	55,0	5,2
Atibaia	PB15-02	70 Aa	80 Aa	35 Bb	65 Aa	60 Aa	62,0	5,9
Mairiporã	PB16-01	65 Aa	80 Aa	30 Bb	60 Aa	70 Aa	61,0	5,8
Mairiporã	PB16-02	45 Bb	60 Aa	35 Bb	45 Bb	55 Aa	48,0	4,6
Mogi das Cruzes	PB17-01	55 Bb	75 Aa	45 Ab	50 Ab	80 Aa	61,0	5,8
Mogi das Cruzes	PB17-02	50 Bb	85 Aa	30 Bc	20 Cc	80 Aa	53,0	5,0
Suzano	PB18-01	45 Bb	30 Cc	25 Cc	25 Cc	75 Aa	40,0	3,8
Suzano	PB18-02	55 Ba	65 Aa	25 Cb	35 Cb	65 Aa	49,0	4,7
Embu-guaçu	PB19-01	25 Cb	55 Aa	10 Cb	20 Cb	25 Cb	27,0	2,6
Embu-guaçu	PB19-02	40 Ba	50 Aa	20 Cb	45 Ba	40 Ba	39,0	3,7
Ribeirão Preto	PB20-01	45 Bb	25 Cc	15 Cc	50 Aa	65 Aa	40,0	3,8
Ribeirão Preto	PB20-02	30 Cb	60 Aa	15 Cc	30 Cb	30 Cb	33,0	3,1
Cabreúva	PB21-01	45 Ba	50 Aa	25 Cb	35 Ca	15 Cc	34,0	3,2
Cabreúva	PB21-02	45 Ba	65 Aa	25 Cb	35 Cb	30 Cb	40,0	3,8
São João da boa vista	PB22-01	55 Ba	70 Aa	30 Bb	50 Aa	55 Aa	52,0	5,0
São João da boa vista	PB22-02	70 Ab	65 Aa	25 Cb	60 Aa	60 Aa	56,0	5,3
Botucatu	PB23-01	60 Aa	65 Aa	55 Aa	25 Cb	30 Cb	47,0	4,5
Botucatu	PB23-02	75 Aa	70 Aa	35 Bb	20 Cb	25 Cb	45,0	4,3
Itapeva	PB24-01	55 Ba	40 Ba	30 Ba	40 Ba	45 Ba	42,0	4,0
Itapeva	PB24-02	40 Ba	70 Aa	30 Bc	65 Aa	45 Ba	50,0	4,8
	Média ID	54,0	63,5	30,0	44,8	52,9		
	C.V. (%)	7,41	7,78	5,26	8,02	9,69		

Letras maiúsculas iguais na coluna não diferem estatisticamente a 5% de significância no Teste de Tukey, Letras minúsculas iguais na linha não diferem estatisticamente a 5% de significância no Teste de Tukey.

devido ao uso de hospedeiros resistentes, ou por causa de um cultivo mais ameno ou moderado, como no caso de Embu-guaçu, Ribeirão Preto e Cabreúva.

Com base nas informações obtidas neste trabalho é possível obter uma forte indicação da presença de raças de *P.brassicae* no Brasil, e que novos trabalhos devem ser direcionados para conhecer melhor essas raças existentes e com isso auxilia o processo de seleção e desenvolvimento de novos materiais comerciais resistentes a Hérnia das crucíferas.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem a concessão de bolsa de estudo pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão do Auxílio Pesquisa, proc. N. 07/53834-5 e a empresa Sakata Seeds Co. pelo fornecimento de sementes.

#### REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

- Camargo Filho, W.P.; Mazzei, A.R. Estacionalidade de alcachofra, cogumelo, milho verde e hortaliça condimentares, informações econômicas, São Paulo, v.31, n.3, p.63-69, 2001.
- Tommerup, I.C.; Ingram, D.S. The life cycle of *Plasmodiophora brassicae* Wor. in Brassica tissue cultures and in intact roots. **New Phytologist**, Wageningen, v.70, n.3, p.327-332, 1971.
- Maringoni, A. C. Doenças das crucíferas. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamim Filho, A.; Camargo, L.E.A. (Org.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4ed ed. São Paulo: Editora agrônômica Ceres, 2005, v. 2, p. 285-291.
- Harding, M.W. Howard, R.J. Neeser, C. Strelkov, S.E. Tewari, J.P. Lisowski, S.L.I Slomp, D.L. Xue, S. And Spencer. R.C.J. 2005. Incidence of clubroot on cruciferous vegetables in Alberta in 2005. **Can. Plant Dis. Surv.** 85:98-99.
- Faggian R, Bulman Sr, Lawrie Ac, Porter Ij. Specific polymerase chain reaction primers for the detection of *Plasmodiophora brassicae* in soil and water. **Phytopathology**. 89: 392-397. 1999.

6. Dixon, G. R.; Robinson, D. L. The susceptibility of *Brassica oleracea* cultivars to *Plasmodiophora brassicae* (clubroot). **Plant Pathology**, v. 35, n. 1, p. 101-107, 1986.
7. Manzanares-Dauleux, M. J., I. Divaret, F. Baron, G. Thomas. Assessment of biological and molecular variability between and within field isolates of *Plasmodiophora brassicae*. **Plant Pathol.** 50, 165–173. 2001.
8. Kuginuki, Y.; Yoshikawa, H.; Hirai, M. Variation in virulence of *Plasmodiophora brassicae* in Japan tested with clubroot-resistant cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). **European Journal of Plant Pathology**. Wageningen, v.105, n.4, p. 327-332 May, 1999
9. Suwabe, K.; Tsukazaki, H.; Iketani, H.; Hatakeyama, K.; Fujimura, M.; Nunome, T.; Fukuoka, H.; Matsumoto, S.; Hirai, M. Identification of two loci for resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) in *Brassica rapa* L. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 107, n. 6, p. 997-1002, 2003.
- 10 - Hirai, M.; Harada, T.; Kubo, N.; Tsukada, M.; Suwabe, K.; Matsumoto, S. A novel locus for clubroot resistance in *Brassica rapa* and its linkage markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 108, n. 4, p. 639–643, 2004.
- 11 - Rocherieux, J.; Glory, P.; Giboulot, A.; Boury, S.; Barbeyron, G.; Thomas, G.; Manzanares-Dauleux, M. J.; Isolate-specific and broad-spectrum QTLs are involved in the control of clubroot in *Brassica oleracea*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 108, n. 8, p. 1555-1563, 2004.
- 12 - Klewer, A., H. Luerßen, H. Graf, J. Siemens. Restriction fragment length polymorphism markers to characterize *Plasmodiophora brassicae* single-spore isolates with different virulence patterns. **J. Phytopath.** 149, 121–127. 2001.
- 13 - Strelkov SE, Tewari JP, Smith-Degenhardt E. Characterization of *Plasmodiophora brassicae* populations from Alberta, Canada. **Can J Plant Pathol** v. 28, n. 467–474. 2006.
- 14 - Wit, F., M. van de Weg. Clubroot resistance in turnips (*Brassica campestris* L.). **Euphytica** v. 13, n. 9–18. 1964.