



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

IV Encontro Nacional de Protecção Integrada



**ACTAS DAS COMUNICAÇÕES
E PAINÉIS APRESENTADOS**

COMISSÃO CIENTÍFICA

Prof. Doutor Álamo Menezes, UA

Prof. Doutor Alfredo Borba, UA

Prof. Doutor António Mexia, DPPF/SAPI

Prof. Doutor João Tavares, UA

Eng.º Passos de Carvalho, EAN

Prof. Doutor Pedro Amaro, DPPF/SAPI

Prof. Doutor Vasco Garcia, UA

COMISSÃO EXECUTIVA

Prof. Doutor Artur Machado

Eng.^a Ana Simões

Eng.º David Horta Lopes

Eng.º Joaquim Rocha

Eng.º Manuel Jorge Melo

Dr. Paulo Borges

COMISSÃO ORGANIZADORA

(Alunos do 3.º, 4.º e 5.º Anos de Curso Eng.º Agrícola)

Armando Neves

João Neves

Susana Ázera

Luisa Gravanita

Ana Vitorino

Luciana Costa

Sandra Branco

Francisco Gateira

UNIVERSIDADE DOS AÇORES
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
IV ENCONTRO NACIONAL DE PROTECÇÃO INTEGRADA

“A IMPORTÂNCIA DA PROTECÇÃO INTEGRADA
NUMA AGRICULTURA SUSTENTÁVEL”



3 e 4 de OUTUBRO de 1997
TEATRO ANGRENSE
ILHA TERCEIRA - AÇORES

As publicações apresentadas são da inteira responsabilidade dos Autores

MEIOS DE LUTA CONTRA A FERRUGEM BRANCA DAS CRUCÍFERAS [*ALBUGO CANDIDA* (PERS.) KUNTZE] UM CONTRIBUTO ¹

Maria de Lurdes Jorge ¹ & João Silva Dias ²

¹ Escola Superior Agrária de Bragança

² Instituto Superior de Agronomia

RESUMO

Estudos realizados no ISA, usando 40 cultivares de *Brassica oleracea* e oito isolamentos portugueses de *A. candida*, de origem geográfica diversa, e provenientes de diferentes hospedeiros (três dos isolamentos colhidos em *B. oleracea*, quatro em *B. rapa* e um em *Raphanus sativus*) levaram à selecção de cultivares de *B. oleracea* com elevados níveis de resistência cotiledonar a *A. candida* de origem homóloga, confirmando uma perspectiva de luta genética para o seu controlo.

A concomitante constatação de ocorrência de infecções cruzadas entre isolamentos de *A. candida* e hospedeiros não homólogos, vem confirmar os inconvenientes da proximidade espacial entre diferentes culturas do género *Brassica*, e da utilização de rotações não adequadas.

O facto de *A. candida*, em situações desfavoráveis para o seu desenvolvimento, sobreviver sob a forma de oósporos no solo, aponta para o recurso a meios de luta que limitem a quantidade de inóculo existente no solo.

INTRODUÇÃO

Albugo candida, um fungo da classe *Oomycetae*, é um parasita obrigatório de plantas da família das crucíferas, onde provoca a doença conhecida por ferrugem branca. É um parasita altamente especializado, tendo-se identificado até hoje a existência de 10 raças fisiológicas: raça 1 em *Raphanus sativus* L., raça 2 em *Brassica juncea* (L.) Czern. & Coss., raça 3 em *Armoracia rusticana* (Gaertn.; Mey. & Scherb.), raça 4 em *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., raça 5 em *Sisymbrium officinale* (L.) Scop., raça 6 em *Rorippa islandica* (Oeder) Borba's, raça 7 em *Brassica rapa* L. (sinónimo de *B. campestris* L.), raça 8 em *Brassica nigra* (L.) Koch, raça 9 em *Brassica oleracea* L. e raça 10 em *Sinapis arvensis* L. (Pound & Williams, 1963; Verma *et al.*, 1975; Delwiche & Williams, 1977; Pidskalny & Rimmer, 1985; Hill *et al.*, 1988).

Embora o parasita, quando sujeito a condições ambientais desfavoráveis, possa sobreviver no solo sob a forma de oósporos, a doença apenas se manifesta a nível da parte aérea das plantas, geralmente pela existência de pústulas brancas (massa de esporângios sob a epiderme)

¹ Este trabalho apresenta parte dos resultados obtidos, no âmbito do Projecto CEE n° AIR-CT920463 "The location and exploitation of genes for pest and disease resistance in european gene bank collections of horticultural brassicas", em colaboração com uma equipa do Horticulture Research International, Reino Unido.

a nível das folhas e caules, mas podendo, em casos de infecção grave, chegar mesmo a causar hipertrofia e distorção dos órgãos florais e frutíferos, inviabilizando a produção de culturas como a couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) e os brócolos (*Brassica oleracea* var. *italica*), e a produção comercial de sementes de brássicas.

A região do Oeste e o litoral Norte e Centro de Portugal são das regiões produtoras de brássicas mais afectadas, devido às condições climáticas existentes (existência de humidades relativas elevadas, ocorrência de maiores níveis de precipitação e existência de uma pequena gama de oscilação de temperaturas), que favorecem o ciclo assexual do fungo (Fig. 1).

Em países como o Canadá e Índia, em que há uma grande importância de produção de brássicas para extracção de óleos (de colza: *B. napus*, e de *B. rapa*), ou como plantas condimentares (diversas mostardas: *B. juncea*, *B. carinata*, *B. nigra*), as quebras de produção registadas na produção de semente chegam a atingir valores de 60% (Bernier, 1972). Apesar da elevada especialização fisiológica do fungo tem-se registado a ocorrência de infecções cruzadas entre isolamentos de *A. candida* e hospedeiros não homólogos. Assim, embora os isolamentos de *A. candida* provoquem, numa forma geral, sintomas mais severos nas espécies dos quais foram provenientes, podem também ser capazes de causar infecções em alguns genótipos de outras espécies da família das crucíferas (Pound & Williams, 1963; Petrie, 1988; Liu & Rimmer, 1991), pelo que a proximidade espacial entre diferentes espécies do género *Brassica* pode constituir um foco de infecção que à partida poderia não estar previsto.

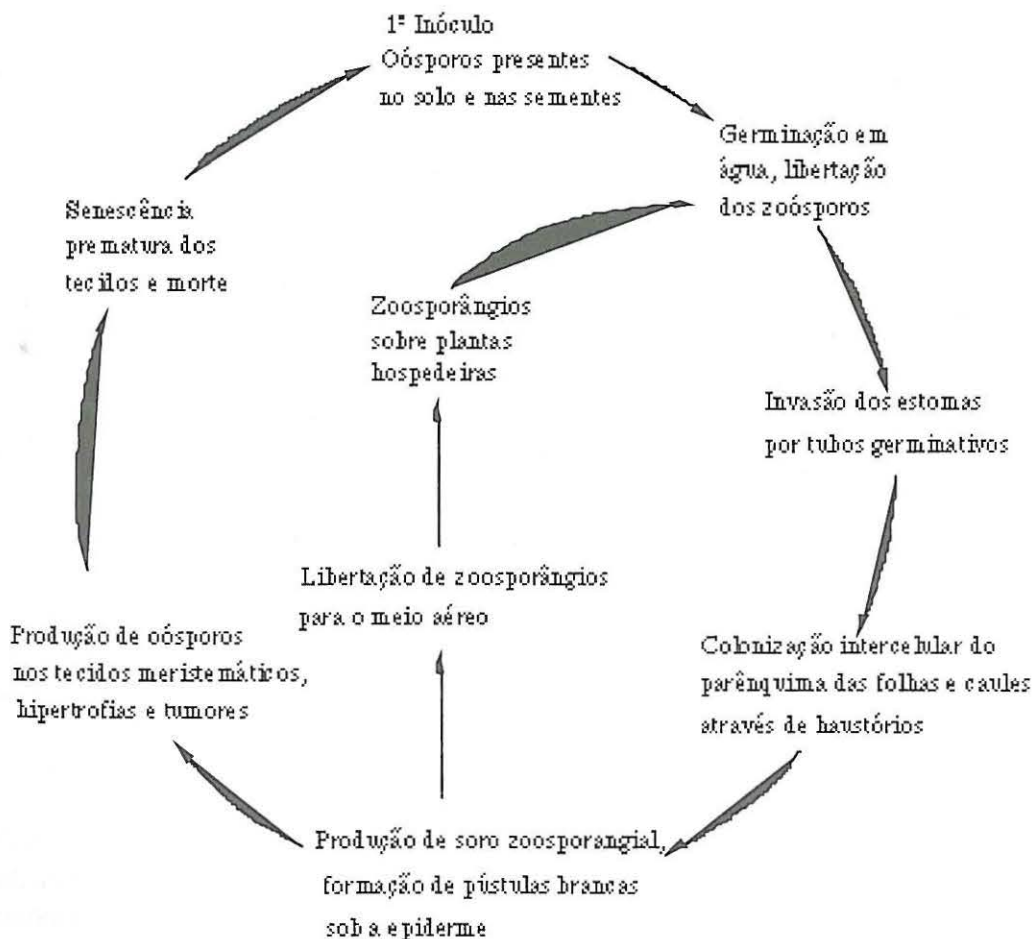


Fig 1 - Ciclo da doença da ferrugem branca das crucíferas. (Williams, 1985). As setas a cheio representam o ciclo sexual, e as a tracejado o ciclo assexual.

O recurso à luta química nem sempre é desejável e nem sempre se tem mostrado eficiente, tendo sido registados inúmeros casos de resistência ao fungicida metalaxil (Liu, 1992).

O recurso ao uso de cultivares resistentes poderá representar uma perspectiva de controlo da doença.

De acordo com o anteriormente referido, este estudo teve como objectivos: i) a identificação e selecção de cultivares de *B. oleracea* resistentes a isolamentos portugueses de *A. candida* de origem homóloga (provenientes de *B. oleracea*); ii) verificar a existência de infecções cruzadas entre cultivares de *B. oleracea* e isolamentos portugueses de *A. candida* de origem não homóloga (provenientes de *B. rapa* e de *Raphanus sativus*).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 40 cultivares de *B. oleracea*, representativas de diversidade genética mundial (Leckie *et al.*, 1996). A lista completa das cultivares sujeitas a avaliação é descrita por Jorge (1997). Para o efeito foram colhidos oito isolamentos portugueses de *A. candida*, provenientes de hospedeiros e regiões geográficas distintas (Quadro 1).

Quadro 1 - Lista dos isolamentos portugueses de *A. candida* utilizados no estudo de patogenicidade

Código ¹	Local de origem	Hospedeiro ²
Ac 501	Esposende	Couve-flor (Bo)
Ac 502	Lourinhã	Couve-flor (Bo)
Ac 503	Costa da Caparica	Couve Portuguesa (Bo)
Ac 506	Portimão	Nabo (Br)
Ac 508	Lourinhã	Nabo (Br)
Ac 509	Costa da Caparica	Nabo (Br)
Ac 510	Póvoa do Varzim	Couve Chinesa (Br)
Ac 513	Portimão	Rábano (Rs)

¹ Número de código do banco de isolamentos de *A. candida* existente na Secção de Horticultura do Instituto Superior de Agronomia.

² Bo = *B. oleracea*; Br = *B. rapa*; Rs = *R. sativus*.

Com o objectivo de identificar germoplasma resistente a *A. candida*, testaram-se as cultivares de *B. oleracea* com os três isolamentos de *A. candida* de origem homóloga (Ac 501, Ac 502, Ac 503). As mesmas cultivares foram testadas com os cinco outros isolamentos de *A. candida* de origem não homóloga (Ac 506, Ac 508, Ac 509, Ac 510 e Ac 513), para verificação da ocorrência de infecções cruzadas. Em ambos os casos testaram-se 30 plantas por cultivar. A inoculação foi feita na fase de cotilédones completamente expandidos. Na página superior de cada cotilédone foram depositadas duas gotas de 10 µl de uma suspensão contendo 1×10^5 zoósporos / ml. As condições de infecção e de incubação são as descritas por Williams (1985). A avaliação dos fenótipos de interacção resultantes foi feita ao 10^o dia após inoculação, de acordo com a escala de avaliação de Leckie *et al.* (1996). Esta escala considera a existência de seis fenótipos de interacção (FI): NN, correspondente à imunidade; (F)N e FN, correspondentes a resistência; S1, representativo de susceptibilidade moderada; S2 e S3, representativos de elevada susceptibilidade. Só nos fenótipos de interacção S1, S2 e S3, se verifica a presença de esporulação do fungo nos tecidos do hospedeiro.

Os resultados foram analisados segundo o método de decomposição em componentes principais, seguido de Classificação Automática, utilizando o programa S.P.A.D.- Systeme Portable pour L'Analyse de Données (LeBart *et al.*, 1984). A Classificação Automática permite a inclusão das variedades testadas em classes, com base nas semelhanças verificadas entre fenótipos de interacção. O grau de significância é dado pelo valor do critério, quando este toma valores absolutos superiores a dois.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1) Interações homólogas *B. oleracea* - *A. candida*

Através da Classificação Automática, as interações homólogas *B. oleracea* - *A. candida* foram separadas em quatro classes (Jorge, 1997). Oitenta e duas destas 120 interações (68.3%) foram incluídas na classe 1, caracterizada por uma elevada frequência (critério=9.936) de FI representativos de elevada susceptibilidade [S2+S3], com percentagens de infecção superiores a 83.3%, atingindo na maior parte dos casos valores que se situam entre os 93.3 e os 100%. Na classe 4, caracterizada por elevada frequência (critério=8.337) de plantas moderadamente susceptíveis [S1], foram incluídas seis interações.

Nas classes 2 e 3, ambas caracterizadas por FI [S2+S3] abaixo da média geral (critérios -6.670 e -4.020, respectivamente), e por elevada frequência de NN (critério=9.261) - classe 3, ou de [(F)N+FN] (critério=8.871) - classe 2, encontram-se incluídas as cultivares mais promissoras em termos de existência de germoplasma resistente a *A. candida* (Quadro 2).

Por análise do Quadro 2, verifica-se que: i) a resistência de uma cultivar pode variar consideravelmente em função do isolamento testado, pelo que é importante, num programa de selecção de cultivares resistentes, testar vários isolamentos para se poderem seleccionar as cultivares que apresentem maiores níveis de resistência no conjunto das interações cultivar/isolamento; ii) mesmo nas cultivares que apresentam algum nível de resistência, não se pode esperar uma resistência de 100%.

Quadro 2 - Resistência¹ de cultivares de *B. oleracea* a *A. candida* de origem homóloga (%).

Cultivar	Origem ²	Isolamento testado		
		Ac 501	Ac 502	Ac 503
<i>B. oleracea</i> var. <i>acephala</i> :				
4 - Kale "Giant Jersey"	GBR	46.7	33.3	16.7
6 - Kale "Jersey"	GBR	37.9	20.6	17.2
8 - Couve galega "Tocha Frisada"	POR	13.3	13.3	13.3
<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> :				
11 - Couve-flor "Romanesco Precoce"	ITA	40.7	36.7	30.0
13 - Couve-flor "Romanesco Medio Precoce"	ITA	42.8	39.3	27.6
17 - Couve-flor "Romanesco"	ITA	26.7	26.7	30.0
<i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i> :				
23 - Couve repolho "Bacalã" (HRI 11490)	POR	33.3	37.9	37.9
24 - Couve repolho "Bacalã" (HRI 11555)	POR	70.0	48.3	58.6
<i>B. oleracea</i> var. <i>costata</i> :				
31 - Couve Glória de Portugal	POR	32.1	53.6	42.3
33 - Couve Algarvia	POR	47.8	43.5	33.3

¹ Não houve esporulação do fungo nos tecidos das plantas. [FI = NN + (F)N + FN].

² GBR = Reino Unido; ITA = Itália; POR = Portugal.

2) Interações não homólogas *B. oleracea* - *A. candida*

As interações não homólogas *B. oleracea* - *A. candida*, foram, por Classificação Automática, separadas em três classes (Jorge, 1997). A nota dominante é a de resistência, com 153 das 200 interações avaliadas (76.5%) a serem incluídas na classe 1, caracterizada um número elevado de FI indicadores de resistência [(F)N+FN] (critério =11.688) e baixos valores dos FI indicadores de elevada susceptibilidade [S2+S3] (critério =-4.507). Na classe 2, com dominância de FI indicadores de imunidade [NN elevado] (critério =12.218), incluem-se 36 interações.

Na classe 3, incluem-se 11 interações reveladoras de susceptibilidade [correspondentes aos FI (S1 elevado) (critério =11.070) e (S2+S3 elevado) (critério =10.557)]. Nesta classe estão incluídas todas as interações da Couve lombarda “Brusselse Winter” (39) com os isolamentos provenientes de *B. rapa* (Ac 506, Ac 508, Ac 509 e Ac 510), cujas infecções percentuais podem ser observadas no Quadro 3. Também as interações da Couve repolho “Large Blood Red” (22), com os isolamentos Ac 508, Ac 509 e Ac 510, estão incluídos nesta classe; a da Couve repolho “L. B. Sel. Smit” (20) com o isolamento Ac 509; os da amostra Kale (7), com os isolamentos Ac 509 e Ac 510. Por último, também a cultivar Cavolo “Verza San Giovanni” (3), quando testada com o isolamento proveniente de *R. sativus* (Ac 513), se inclui nesta classe (Quadro 3).

De entre as variedades testadas, a Cavolo “Verza San Giovanni” (3) revelou-se como a mais susceptível ao isolamento de *R. sativus* (Ac 513), com 20.7% de plantas infectadas.

As cultivares Couve repolho “Large Blood Red” (22) e Couve lombarda “Brusselse Winter” (39) mostraram ser de todas as mais susceptíveis a infecções provocadas por isolamentos de *B. rapa*, especialmente esta última, com médias de infecção que se situam entre os 46.7 e os 56.7%.

Verifica-se que os isolamentos provenientes de *B. rapa* conseguem infectar maior número de plantas em cultivares de *B. oleracea*, causando por norma maiores níveis de infecção do que o de *R. sativus*, o que não é de estranhar visto haver uma maior proximidade genética entre espécies do mesmo género (*B. oleracea* e *B. rapa*) do que entre espécies de géneros diferentes (*B. oleracea* e *R. sativus*), pelo que é natural que os isolamentos oriundos de *B. rapa* causem maior patogenicidade em *B. oleracea*.

Quadro 3 - Percentagens de infecção¹ em cultivares de *B. oleracea* causadas por isolamentos de *A. candida* de origem não homóloga.

Cultivar	Origem ²	Isolamento testado				
		Ac 506	Ac 508	Ac 509	Ac 510	Ac 513
<i>B. oleracea</i> var. <i>acephala</i> :						
3 - Cavolo “Verza San Giovanni”	ITA	0.0	3.3	6.7	3.3	20.7
7 - Kale	GBR	0.0	3.3	13.7	25.0	7.1
<i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i> :						
20 - Couve repolho “L. B. Sel. Smit”	NDL	13.4	6.7	26.7	6.7	3.3
22 - Couve repolho “Large Blood Red”	IND	20.0	40.0	20.0	30.0	6.7
<i>B. oleracea</i> var. <i>sabauda</i> :						
39 - Couve Lombarda “Brusselse Winter”	DNK	46.7	50.0	50.0	56.7	3.3

¹ Houve esporulação do fungo nos tecidos da planta. [FI = S1 + S2 + S3].

² ITA = Itália; GBR = Reino Unido; NDL = Holanda; IND = Índia; DNK = Dinamarca.

CONCLUSÕES

De entre as cultivares testadas há quatro que se destacam pelos níveis de resistência cotiledonar a *A. candida* de origem homóloga: a Couve-flor “Romanesco Precoce” (11), com um mínimo de 30% de plantas resistentes, as Couve Algarvia (33) e Couve Repolho “Bacalã” (HRI 11490) (23), com um mínimo de 33.3%, e a Couve Repolho “Bacalã” (HRI 11555) (24), com um mínimo de 48.3%, parecendo esta última bastante promissora como fonte e resistência ao patógeno, nas condições em que decorreu o ensaio.

As cultivares Couve repolho “Large Blood Red” (22) e Couve lombarda “Brusselse Winter” (39), mostraram ser particularmente sensíveis a infecções cruzadas com isolamentos provenientes de *B. rapa*. Também a cultivar Cavolo “Verza San Giovanni” (3) revelou susceptibilidade ao isolamento proveniente de *R. sativus*, pelo que não é de excluir a hipótese de, em muitos casos, os isolamentos de *A. candida* poderem causar infecções em hospedeiros não homólogos, provocando o alastrar da doença em campos contíguos cultivados com diferentes espécies da família das crucíferas.

BIBLIOGRAFIA

- BERNIER, C.C., 1972. Diseases of rapeseed in Manitoba in 1971. *Can. Plant Dis. Surv.*, **52** (3): 108.
- DELWICHE, P. A. & WILLIAMS, P. H., 1977. Genetic studies in *Brassica nigra* (L.) Koch. *Cruciferae Newsletter*, **2** : 39.
- HILL, C.B.; CRUTE, I.R. ; SHERRIFF, C. & WILLIAMS, P.H., 1988. Specificity of *Albugo candida* and *Peronospora parasitica* pathotypes toward rapid-cycling crucifers. *Cruciferae Newsletter*, **13** : 112-113.
- JORGE, L., 1997. *Caracterização de Isolamentos Portugueses de Albugo candida* (Pers.) Kuntze. Dissertação de Mestrado em Horticultura. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia.(no prelo).
- LEBART, L.; MORINEAU, A. & WARWICK, K.M., 1984. *Multivariate Descriptive Statistical Analysis. Correspondence Analysis and Related Techniques for Large Matrices*. John Wiley & Sons. 229 pp.
- LECKIE, D.; ASTLEY, D; CRUTE, I.; ELLIS, P.; PINK, D.; BOUKEMA, I; MONTEIRO, A. A. & DIAS, J.S. 1996. The location and exploitation of genes for pest and disease resistance in european gene bank collections of horticultural brassicas. *Acta Horticulturae*, **407**: 95 - 102.
- LIU, Q. 1992. *A methodology for genetic studies with Albugo candida*. PhD Thesis, Univ. of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canadá. 96 pp.
- LIU, Q. & RIMMER, S.R., 1991. Inheritance of resistance in *Brassica napus* to an Ethiopian isolate of *Albugo candida* from *Brassica carinata*. *Can. J. Plant Pathol.*, **13** : 197-201.

- PETRIE, G. A., 1988. Races of *Albugo candida* (white rust and staghead) on cultivated cruciferae in Saskatchewan. *Can. J. Plant Pathol.*, **10**: 142 - 150.
- PIDSKALNY, R.S. & RIMMER, S.R., 1985. Virulence of *Albugo candida* from turnip rape (*Brassica campestris*) and mustard (*Brassica juncea*) on various crucifers. *Can. J. Plant Pathol.*, **7** : 283- 286.
- POUND, G. S. & WILLIAMS, P. H., 1963. Biological races of *Albugo candida*. *Phytopathology* , **53** (10): 1146 - 1149.
- VERMA, P. R. & PETRIE, G. A., 1975. Germination of oospores of *Albugo candida*. *Can. J. Bot.*, **53**: 836-842. (cit. Liu, 1992).
- WILLIAMS, P. H., 1985. *Crucifer Genetics Cooperative Resource Book*. Dept. of Plant Pathology, Univ. of Wisconsin, Madison, Wisconsin, EUA. 124 pp.