

- canas provenientes de material propagativo tratado termicamente. Campinas: Instituto Agrônômico, 1971. 2p.
- MATSUOKA, S. Ratoon stunting disease diagnosis with elephant-grass as a indicator plant. *Sugarcane Pathologist's newsletter*, v. 8, p. 10-1, 1972.
- MATSUOKA, S. Longevidade do efeito do tratamento térmico em canas infectadas pelo raquitismo da soqueira. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 3, 1984. *Anais...* p. 244-9.
- MILLER, J.D., DAVIS, M.J., DEAN, J.L., SHINE, J.M., Jr. Heritability of resistance to ratoon stunting disease in Sugarcane. *Sugar Cane*, v. 1, p. 3-8, 1995.
- ROACH, B.T. Susceptibility to ratoon stunting disease in the *Saccharum* complex and feasibility of breeding for resistance. *Sugar Cane*, v. 3, p. 1-11, 1992.
- ROACH, B.T., JACKSON, P.A. Screening sugar cane clones for resistance to ratoon stunting disease. *Sugar Cane*, v. 2, p. 2-12, 1992.
- STEINDL, D.R.L. Q. 28 disease. *Cane Grow. Q. Bull (Queensl.)*, v. 12, n.4, p. 191-3, 1949.
- STEINDL, D.R.L. Ratoon stunting disease. In: MARTIN, J.P., ABBOTT, E. V., HUGHES, C. G. (Ed.). *Sugar cane diseases of the world*, Amsterdam: Elsevier, 1961. v. 1, p. 433-59.
- TEAKLE, D.S., SMITH, P.M., STEINDL, D.R.L. Association of a small coryneform bacterium with the ratoon stunting disease of sugarcane. *Australian Journal of Agricultural Research*, Collingwood, v. 24, p. 869-74, 1973.
- VALARINI, P.J., TOKESHI, H. Factors that interfere in the evaluation of ratoon stunting disease resistance by water flow in sugarcane stalks. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 7, n.3/4, p. 51-6, 1981.
- WEAVER, L., TEAKLE, D.S., HAYWARD, A.C. Ultrastructural studies on the bacterium associated with the ratoon stunting disease of sugarcane. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 28, p. 843-52, 1977.
- WORLEY, J.F., GILLASPIE Jr., A.G. Electron microscopy in situ of the bacterium associated with ratoon stunting disease in sudangrass. *Phytopathology*, St. Paul, v. 65, p. 287-95, 1975.

Seleção de rizobactérias antagonicas a *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, em tubérculos de batata*

Cleusa M.M. Lucon¹, Itamar S. de Melo²

¹ Seção de Micologia Fitopatológica - Instituto Biológico, C.Postal 12898-12959, CEP 04.010-970, São Paulo-SP.

² Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental - CNPMA/EMBRAPA, C.Postal 69, CEP 13.820-000, Jaguariúna, SP, Brasil, E-mail: itamar@cnpma.embrapa.br.

*Bolsista da CAPES

Aceito para publicação em 13/02/97.

RESUMO

Lucon, C.M.M., Melo, I.S. de. Seleção de rizobactérias antagonicas a *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, em tubérculos de batata. *Summa Phytopathologica*, v. 25, p. 132-136, 1999.

Este trabalho teve por objetivo selecionar isolados rizobacterianos potencialmente capazes de controlar a severidade de podridão mole de tubérculos comerciais de batata causada por *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Eca*), um importante patógeno de plantas.

Isolados obtidos a partir do rizoplano de cenoura foram inicialmente testados quanto à capacidade de inibir *Eca* nos meios BDA, pela produção de substâncias antibióticas, e KB (B de King), pela produção de pigmentos fluorescentes.

Dos 193 isolados bacterianos, testados quanto à antibiose "in vitro", 71 foram antagonicos a *Eca* em meio BDA e 23 em meio KB. Os raios dos halos de inibição variaram de 0,6 a 1,70 cm em meio BDA e de 0,6 a 1,2 cm em meio KB.

Dentre os 94 isolados utilizados para testes de antagonismo "in vivo" a *Eca*, em tubérculos comerciais de batata, 41 foram capazes de reduzir a severidade da doença, sendo que 7 destes reduziram significativamente a porcentagem de perda de peso dos tubérculos comerciais em relação ao controle.

Palavras-chave adicionais: controle biológico, antibiose, podridão mole.

Lucon, C.M.M., Melo, I.S. de. Selection of antagonistic rhizobacteria to *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on potato tubers. *Summa Phytopathologica*, v. 25, p. 132-136, 1999.

This paper deals with the selection of bacterial strains able to control the severity of soft rot in commercial potato tubers, caused by Erwinia carotovora subsp. atroseptica (Eca), an important plant pathogen.

Isolates obtained from the carrot rhizoplane were initially tested "in vitro" against Eca on PDA (potato-dextrose-agar) medium, by producing antibiotic substances, and KB (Kings' B) medium, by producing fluorescent pigments.

Additional keywords: biocontrol, antibiosis, soft rot.

From the 193 bacterial isolates checked by "in vitro" antibiosis, 71 were antagonistic to Eca on PDA medium and 23 in King's B medium. The value of the inhibition zones varied from 0.6 to 1.7 cm on PDA and from 0.6 to 1.2 cm on KB medium.

Of the 94 isolates used for "in vivo" tests against Eca in commercial tubers, 41 reduced disease severity, 7 of which reduced significantly the weight-loss percentage of tubers in relation to the control.

Dentre os patógenos bacterianos, espécies do gênero *Erwinia* ocorrem em várias espécies de plantas hospedeiras, causando doenças como podridão mole, canela preta, talo oco e murcha (18, 20, 21). Estas bactérias podem infectar plantas e seus órgãos vegetais tanto nas fases de crescimento quanto durante o armazenamento, transporte e comercialização dos produtos colhidos (2). As perdas variam bastante, em função da espécie e/ou subespécie, condições climáticas, de cultivo e de pós-colheita. As culturas de batata (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), pimentão (*Capsicum annum* L.) e cenoura (*Daucus carota* L.) estão entre as mais suscetíveis no Brasil (17, 20).

Em tubérculos de batata, por ocasião da colheita, bactérias do gênero *Erwinia*, provenientes do solo e/ou de ramos doentes, penetram facilmente pelos ferimentos ou pelas aberturas naturais do tubérculo. Em todos os órgãos afetados manifesta-se um encharcamento seguido de podridão mole, que é responsável pela rápida deterioração dos mesmos após a colheita (21)

Para o controle de *Erwinia carotovora* (*Ec*) muitos métodos têm sido utilizados, como aplicação de bactericidas, pasteurização de tubérculos, utilização de variedades resistentes e controle biológico. Todavia, nenhum destes métodos têm sido satisfatoriamente efetivo para aplicação em nível comercial (4).

A utilização de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) no controle de *Ec* tem sido bastante estudada; os resultados destas pesquisas apontam perspectivas promissoras (1, 5, 14, 15, 22, 24).

As RPCPs são bactérias isoladas da rizosfera de plantas que são capazes de promover aumento no crescimento e, conseqüentemente, na produção de culturas. Elas podem exercer seus efeitos diretamente através da produção de metabolitos ou indiretamente pela supressão de patógenos de plantas (7).

Este trabalho teve por objetivo inicial, selecionar isolados rizobacterianos potencialmente capazes de inibir o crescimento, "in vitro", do isolado de *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Eca*), IB603, e a severidade de podridão mole, em tubérculos comerciais de batata, com vistas a um possível programa de controle biológico de doenças causadas por este patógeno.

MATERIAIS E MÉTODOS

Isolamento de rizobactérias

Para o isolamento de rizobactérias, sementes de cenoura da cultivar Brasília, foram semeadas em vasos plásticos contendo

500 gramas de amostras de solo coletados em várias regiões de São Paulo e de outros estados. Após um período de 60 dias de crescimento das plantas em casa de vegetação, as raízes foram cuidadosamente retiradas dos vasos e lavadas sob água corrente para remoção do solo aderido.

Amostras de raízes (1 g) foram colocadas em tubos contendo 9 ml de solução salina (0,85%) autoclavada e colocadas por 5 minutos em banho de ultrassom. Aliquotas de 0,1 ml de uma série de diluições foram semeadas, em duplicata, na superfície do meio Agar Nutritente (NA), sendo incubadas por 48 horas a temperatura ambiente. As colônias bacterianas, com diferentes características morfológicas, foram transferidas para tubos de penicilina contendo meio NA e armazenadas em geladeira ($\pm 4^{\circ}\text{C}$).

Triagem de potenciais antagonistas

Produção de antibiótico - A produção de antibióticos foi avaliada pela deposição de alíquotas de 5 μl da suspensão bacteriana (10^9 UFC/ml) em três pontos equidistantes de cada placa, contendo 20 ml de meio BDA, meio este que, segundo GROSS (6), favorece a produção destas substâncias, devido ao fato do mesmo possuir alta concentração de ferro e baixa concentração de fosfatos.

Após incubação a 28°C por 48 h, as superfícies do meio foram pulverizadas com suspensão de *Eca*, isolado IB603, contendo aproximadamente 10^8 UFC/ml.

A avaliação foi realizada após 24 h medindo-se, em centímetros, os raios dos halos de inibição.

Produção de sideróforos - A produção de sideróforos foi avaliada em meio B de King- KB (8), como descrito no item anterior. Nesse experimento, porém, as culturas foram incubadas por 24 horas antes da pulverização com *Eca* e os respectivos raios dos halos de inibição medidos após 24 horas.

O meio KB foi utilizado por possuir baixa concentração de ferro, condição essencial para a produção de sideróforos (5).

Nesses dois experimentos, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 3 repetições.

Triagem de potenciais antagonistas "in vivo"

Tubérculos, de tamanho médio (aproximadamente 70 g) foram pesados, desinfetados por imersão em hipoclorito de sódio (0,5%) por 2 minutos, lavados três vezes em água destilada esterilizada e colocados para secar em câmara de fluxo laminar por 30 minutos.

Os tubérculos desinfetados foram imersos, por 15 a 20 minutos na suspensão rizobacteriana, a uma concentração de aproximadamente 10^9 UFC/ml e incubados, sobre papel jornal esterilizado e umedecido com solução salina, em potes plásticos de 500 ml e vedados com tampa. No tratamento controle, os tubérculos foram imersos em solução salina (0,85%) autoclavada. Após 24 horas de incubação a 22°C os tubérculos foram inoculados com uma suspensão de *Eca* (10^8 ufc/ml). A inoculação foi feita através de ferimentos em ambos os lados da batata com auxílio de um instrumento metálico com 5 pontas perfurantes, previamente imerso na suspensão, atingindo 5 mm de profundidade. Após nova incubação por 96 horas o tecido apodrecido foi removido sob água corrente e foi feita nova pesagem.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 95 tratamentos e três repetições.

A metodologia de avaliação de severidade de podridão mole foi baseada no método utilizado por COLYER & MOUNT (1), modificado. Utilizou-se a porcentagem de perda de peso dos tubérculos de batata antes e depois da inoculação, dividida pelo peso inicial e multiplicada por 100.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seleção de Antagonistas “in vitro”

Dentre os 193 isolados bacterianos, obtidos do rizoplano de plantas de cenoura, 94 demonstraram potencial para inibir o desenvolvimento de *Eca* “in vitro”.

Os raios dos halos de inibição variaram de 0,6 a 1,73 cm em meio BDA e de 0,62 a 1,23 cm em meio KB. Os cinco melhores isolados em BDA foram 13-1, 7-1, 22, 19-3 e 13-2 e em KB 5-0, 7-0, Jag-11 e 15-5.

Dos 193 isolados bacterianos testados para antagonismo “in vitro” 71 (37%) inibiram o crescimento de *Eca* em meio BDA e 23 (12%) em meio KB, embora, neste último meio, 44 (23%) do total testado tenham sido capazes de produzir substâncias fluorescentes sem contudo causar inibição no crescimento do patógeno.

O modo de inibição pela produção de pigmentos fluorescentes foi bacteriostático e não bactericida, uma vez que *Eca* voltou a crescer cinco dias depois, concordando com o observado por XU & GROSS (23).

Dentre os isolados testados, 4 (CHAC-1, 25-5, 7-0 e 14-1) demonstraram capacidade de inibição de *Eca* em BDA e KB, concordando com os resultados observados por XU & GROSS (23), embora os isolados CHAC-1 E 25-5 não tenham apresentado boa inibição em meio BDA.

Embora testes de antagonismo “in vitro” não garantam o mesmo resultado “in vivo” (19), estes são fáceis de realizar e permitem a seleção inicial de grande número de isolados com a obtenção de resultados em curto período de tempo, utilizando-se pouco material e espaço.

Segundo SCHROTH & HANCOCK (19), apenas 2 a 5% das bactérias isoladas do sistema radicular podem vir a produzir algum efeito benéfico sobre plantas. Como exemplo, pode-se citar a promoção de crescimento, geralmente relacionada à inibição do desenvolvimento de patógenos (9, 10). Devido a este fato, é necessário testar grande número de isolados para a seleção de poucos que terão potencial para o biocontrole.

A supressão de microrganismos fitopatogênicos tem sido relacionada à produção de antibióticos e/ou outros metabólitos pelos microrganismos benéficos. Os antibióticos são componentes

de baixo peso molecular que, mesmo em baixas concentrações, são deletérios ao crescimento ou a outras atividades metabólicas de outros organismos (3), já os sideróforos são substâncias produzidas por alguns microrganismos em condições limitadas de ferro. Estas substâncias possuem alta afinidade por Fe^{3+} , privando outros microrganismos, como por exemplo patógenos, deste elemento e inibindo, assim, seu crescimento (11).

Seleção de antagonistas “in vivo”

Nos Quadros 1 e 2 encontram-se listados os 22 isolados que, entre os 94 testados, apresentaram maior atividade antagonista ao desenvolvimento de podridão mole em tubérculos de batata. Dentre estes, 7 isolados (L4/11, 18-3, 23, SBAR-4, SBAR-3, L4/1 e 7-0) apresentaram redução significativa, teste de Tukey, quando comparados ao controle, embora 41 isolados, apesar de estatisticamente não terem apresentado diferença significativa em relação ao controle, aparentemente tenham sido capazes de reduzir a severidade da doença.

Foi observada redução de até 45% na porcentagem de perda de peso de tubérculos de batata entre o melhor tratamento (isolado 23) e o controle, demonstrando o possível potencial deste isolado no biocontrole da podridão mole causada por *Eca* nos tecidos, concordando com os resultados observados por COLYER & MOUNT (1) e RHODES & LOGAN (16), segundo os quais rizobactérias podem reduzir a podridão mole quando aplicadas diretamente em tubérculos de batata.

Os mecanismos através dos quais microrganismos antagonísticos protegem as plantas contra a infecção de patógenos ainda não foram determinados com precisão. São sugeridos mecanismos como competição, antibiose, parasitismo e indução de resistência (13). Segundo FRAVEL (3), os principais mecanismos utilizados por rizobactérias na supressão de patógenos são a competição e a antibiose.

Os testes realizados “in vitro” demonstraram que vários isolados foram capazes de produzir antibióticos e/ou sideróforos, indicando o possível mecanismo da inibição do crescimento de *Eca* nos testes “in vivo”.

Quadro 1. Atividade antagonista de rizobactérias contra *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* avaliada pela porcentagem de perda de peso em batatas comerciais.

Tratamento	perda de peso (%)
CONTROLE	57,83 ¹ abc
28-0	57,58 abc
12-2	56,90 abc
JAG-2	55,89 abc
JAG-3	55,31 abcd
JAG-6	53,35 abcd
24-1	52,47 abcd
15-0	51,04 bcde
19-1	50,13 bcde
CHAC-2	49,63 bcde
CBPN-7	48,29 bcde
CBPN7-1	47,78 bcde
PRC-1	46,12 cde
18-3	42,65 de
L4/11	38,85 e

¹ - Médias de 3 repetições. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%)

Foi observado, ainda, que cerca de 10% do total dos isolados testados aumentaram a porcentagem de perda de peso dos tubérculos de batata, quando comparados ao controle não tratado, concordando com observações feitas por RHODES & LOGAN (16).

Quadro 2. Atividade antagonista de rizobactérias contra *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* avaliada pela porcentagem de perda de peso em batatas comerciais.

Tratamento	perda de peso (%)
CONTROLE	67,69 ¹ a
20-2	66,76 a
CBCO-3	60,96 ab
13-1	57,52 ab
7-0	50,04 bc
L4/1	43,94 cd
SBAR-3	38,53 d
SBAR-4	34,49 d
23	23,17 e

¹- Médias de 3 repetições. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%)

LIAO & WELLS (12), investigando bactérias causadoras de podridão mole em vários tipos de vegetais, constataram que 50% destas não pertenciam ao grupo das *Erwinias*. Sendo assim, sugere-se que o aumento da severidade da podridão mole, observado nestes testes, tenha sido ocasionado por um efeito sinérgico entre *Eca* e o isolado aplicado.

Embora a técnica utilizada nestes testes tenha tido apenas a finalidade de confirmar e refinar a seleção prévia "in vitro", os dados promissores obtidos demonstram que a mesma pode vir a ser melhorada e adaptada para o tratamento pós-colheita de tubérculos de batata. Isto devido ao fato de, até o presente momento, nenhum tratamento ter sido apontado como efetivo ou prático para o controle da podridão mole de tubérculos de batata durante o armazenamento e transporte (22).

Segundo PEROMBELON & KELMAN (14), tubérculos infectados disseminam a bactéria para os tubérculos vizinhos sadios. A técnica de controle utilizada, quando do surgimento de novas infecções durante o armazenamento, é a remoção imediata dos tubérculos infectados e posterior queima.

A aplicação de um protetor biológico antes do armazenamento poderia evitar a disseminação do patógeno para tubérculos sadios ou pelo menos a diminuição da população do mesmo quando as condições forem favoráveis ao desenvolvimento da podridão mole.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COLYER, P.D., MOUNT, M.S. Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on postharvest soft rot diseases. **Plant Disease**, St. Paul, v. 68, p. 703-706, 1984.
- ELPHINSTONE, J.G., PEROMBELON, M.C.M. Contamination of potatoes by *Erwinia carotovora* during grading. **Plant Pathology**, Oxford, v. 35, p.25-33, 1986.
- FRAVEL, D.R. Role of antibiosis in the biocontrol of plant disease. **Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 26, p. 75-91, 1988.
- GANS, P.T. A comparison of methods to evaluate the susceptibility of potato cultivars to blackleg (caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) in the field at different sites. **Plant Pathology**, Oxford, v. 40, p. 238-248, 1991.
- GEELS, F.P., SCHIPPERS, B. Reduction of yield depressions in high frequency potato cropping soil after seed tuber treatments with antagonistic fluorescent *Pseudomonas* spp.. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v. 108, p.207-14, 1983.
- GROSS, D.C. Regulation of syringomycin synthesis in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and defined conditions for its production. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 58, p. 167-74, 1985.
- GUPTA, S., ARORA, D.K., SRIVASTAVA, A.K. Growth promotion of tomato plants by rhizobacteria and imposition of energy stress on *Rhizoctonia solani*. **Soil Biology and Biochemistry**, Exeter, v. 27, p. 1051-58, 1995.
- KING, E. O., WARD, M.K., RANEI, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, St. Louis, v. 44, p. 301-307, 1954.
- KLOPPER, J.W., LEONG, J., TEINTZ, M., SCHROTH, M. N. Enhanced plant growth by plant growth promoting rhizobacteria. **Nature**, London, v. 286, p. 885-886, 1980a.
- KLOPPER, J.W., LEONG, J., TEINTZ, M., SCHROTH, M.N. Pseudomonads siderophores: mechanism explaining disease suppressive soil. **Current Microbiology**, New York, v. 4, p. 317-310, 1980b.
- LEONG, J. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 24, p. 187-209, 1986.
- LIAO, C.H., WELLS, J.M. Diversity of pectolitic fluorescent pseudomonads causing soft rots of fresh vegetables at produced markets. **Phytopathology**, St. Paul, v. 77, p. 673-677, 1987.
- LUZ, W.C. Efeito da microbiolização de sementes no rendimento e controle de podridão comum das raízes e de patógenos de semente de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, p. 144-48, 1994.
- PÉROMBELON, M.C.M., KELMAN, A. Blackleg and other potato disease caused by soft rot *Erwinias*: proposal for revision of terminology. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, p. 283-285, 1987.
- RHODES, D.J., LOGAN, C. Effects of fluorescent pseudomonads on potato blackleg syndrome. **Annual of Applied Biology**, Warwickshire, v. 108, p. 511-518, 1986.
- RHODES, D.J., LOGAN, C. A method for selecting fluorescent pseudomonads inhibitory to seed tuber decay. **Potato Research**, Wageningen, v. 30, 603-611, 1987.
- ROBBS, C.F. *Erwinia chrysanthemi*: agente de uma "podridão mole" de cebolinha. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, p. 453, 1980.
- ROBBS, C.F. Taxonomia, bio-ecologia e principais representantes do gênero *Erwinia* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, 304-305, 1981.
- SCHROTH, M. N., HANCOCK, J.G. Selected topics in biological control. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 35, p. 453-476, 1981.
- TAKATSU, A. *Erwinias* do grupo *carotovora* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 8, p. 535-536, 1983.
- TOKESHI, H., BERGAMIN, F. Doenças da batata - *Solanum tuberosum* L. In: Galli, F. **Manual de fitopatologia**. 2 ed. São Paulo:Ed. Agronômica Ceres, 1980, v. 2, p. 102-120.
- TZENG, K., MCGUIRE, R.G., KELMAN, A. Resistance of tubers from different potato cultivars to soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. **American Potato Journal**,

Orono, v. 67, p. 287-305, 1990.

23. XU, G.W., GROSS, D. C. Selection of fluorescent pseudomonads antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed piece decay. *Phytopathology*, St. Paul, v. 76, p. 414-422,

1986.

24. WELLER, D.M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 26, p. 379-407, 1988.

Caracterização morfológica e esterásica de *Pythium aphanidermatum*, *P. ultimum* e *P. torulosum* e avaliação da patogenicidade a plantas de fumo*

Ani B. Jackisch-Matsuura¹, Maria Menezes²

¹ Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Av. Gal. Rodrigo O.J. Ramos, 3000, Aleixo, CEP 69.070-000, Manaus, AM.

² Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Dois Irmãos, CEP 52.171-900, Recife, PE.

* Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

Aceito para publicação em: 20/01/99.

RESUMO

Jackisch-Matsuura, A.B., Menezes, M. Caracterização morfológica e esterásica de *Pythium aphanidermatum*, *P. ultimum* e *P. torulosum* e avaliação da patogenicidade a plantas de fumo. *Summa Phytopathologica*, v. 25, p. 136-138, 1999.

Sete isolados de *Pythium*, obtidos do solo e da rizosfera de várias plantas usando-se iscas de pepino verde, foram testados quanto a patogenicidade a fumo, e identificados através de características morfológicas e análise eletroforética de esterase em gel de poli(acrilamida). Os isolados de *Pythium* foram agrupados

pela morfologia em três espécies: *P. aphanidermatum* (Edson) Fitzpatrick, *P. torulosum* Coker & Patterson e *P. ultimum* Trow e a sua identificação foi confirmada pelo padrão de esterase. Apenas três isolados de *P. aphanidermatum* foram patogênicos a plantas de fumo.

Palavras-chave adicionais: morfologia, esterase e damping-off.

ABSTRACT

Jackisch-Matsuura, A.B., Menezes, M. Morphologic and esterasic characterization of *Pythium aphanidermatum*, *P. ultimum* and *P. torulosum* and evaluation of their pathogenicity on tobacco. *Summa Phytopathologica*, v. 25, p. 136-138, 1999.

Seven isolates of *Pythium*, obtained from soil and plant rhizosphere using bait of cucumber, were studied for pathogenicity, and identified by morphological characteristics and esterasic pattern in gel of polyacrylamide. On the basis of the results, *Pythium* isolates were grouped in three species: *P.*

aphanidermatum (Edson) Fitzpatrick, *P. torulosum* Coker & Patterson and *P. ultimum* Trow and the identification confirmed by esterasic pattern. Only three isolates of *P. aphanidermatum* were pathogenic to tobacco plants.

Additional keywords: morphology, esterasic and damping-off.

As espécies de *Pythium*, em sua grande maioria, podem atacar uma grande variedade de plantas, sem nenhuma especialização quanto a patogenicidade, causando "damping-off" em qualquer estágio de desenvolvimento das plântulas. Os sintomas são caracterizados por uma podridão mole, marrom e deliquescente na base do caule próximo ao solo o que causa o tombamento das plântulas.

Segundo LUCAS (1975) e FARR et al. (1989) as principais

espécies de *Pythium* que causam "damping-off" e podridão do caule em *N. tabacum* L. são: *P. aphanidermatum* (Edson) Fitzpatrick, *P. debaryanum* Hesse, *P. ultimum* Trow e *P. irregulare* Buisman.

A identificação das espécies do gênero *Pythium* é baseada principalmente na morfologia das estruturas reprodutivas do fungo e é dificultada porque muitas espécies apresentam pequenas diferenças morfológicas. CLARE et al. (1968) estudaram