



"SARNA DA BATATA NO BRASIL"

Dra. Suzete A. L. Destéfano
Pesquisador Científico VI
Lab. Bacteriologia Vegetal
CEIB - Instituto Biológico
Campinas - SP

Campinas - SP

27/10/2016

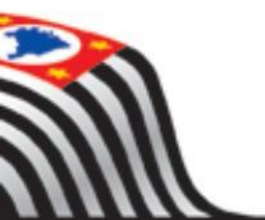
Histórico

Parceria Instituto Biológico e ABBA em 2005 - início do projeto

Tese de Doutorado: 01 - Daniele

Dissertações de Mestrado: 06 - Denise, Daniele, Renata, Alex, Mariana (em andamento) e Marcel (em andamento)

Iniciação Científica: 06 - Daniele, Alex, Gabriela, Mariana, Julia (em andamento) e Alan (em andamento)



Histórico

Parceria Instituto Biológico e ABBA em 2005 - início do projeto

2007 – Defesa de Dissertação de Mestrado/IB – Denise Salomão

Título: “Levantamento e caracterização de *Streptomyces* spp. causadores da sarna em batata nas principais regiões produtoras do Brasil ”

2007-2008 – Iniciação Científica – FAPESP - Daniele B.A. Corrêa

“Isolamento e preservação de linhagens de *Streptomyces* spp. associadas a sarna comum da batata em regiões produtoras do Brasil”



Histórico

2009 – 2011 - Dissertação de Mestrado/UNICAMP

Daniele B.A. Corrêa

Título: “Caracterização morfológica, patogênica e molecular de linhagens de *Streptomyces* associadas à sarna da batata de diferentes regiões produtoras do Brasil”

2011 - Iniciação Científica: PIBIC/CNPq/IB - Alex Augusto Tomaseto

2013 – Iniciação Científica: PIBIC/CNPq/IB – Gabriela Pereira dos Santos

Título: “Desenvolvimento de *primers* espécie-específicos e avaliação da patogenicidade de linhagens de *Streptomyces* associadas à sarna da batata no Brasil”



Histórico

2012 – 2015 - Tese de Doutorado/UNICAMP

Daniele B.A. Corrêa

Título: “Caracterização de novas espécies de *Streptomyces* associadas à sarna da batata no Brasil”

2013 – 2015 - Dissertação de Mestrado/IB - Renata Comparoni

Título: “Caracterização da diversidade genética de linhagens de *Streptomyces scabiei* e avaliação do potencial antagônico de micro-organismos no controle da sarna da batata”



Histórico

2014 – 2016 - Dissertação Mestrado/IB – Alex Augusto Tomaseto

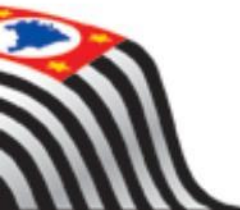
Título: “Investigação do potencial biotecnológico de linhagens fitopatogênicas pertencentes ao gênero *Streptomyces*”

2015 - Iniciação Científica: PIBIC/CNPq/IB – Alan H.S. Araújo

Título: “Caracterização morfológica e bioquímica de linhagens de *Streptomyces* associadas à sarna da batata”

2015 – Iniciação Científica: PIBIC/CNPq/IB – Júlia P. Costa

Título: “Avaliação de *Bacillus subtilis* no controle da sarna”



Histórico

2016 - Dissertação Mestrado/IB – Mariana Pereira Appy

Título: "Avaliação de diferentes estratégias de manejo da sarna da batata no Brasil"

2016 - Dissertação Mestrado/IB – Marcel Alpiste

Título: "Caracterização da fitotoxina taxtomina A produzida por linhagens de *Streptomyces* spp. e avaliação da resistência de cultivares comerciais de batata à sarna da batata"



Sintomas

**Bactérias do gênero *Streptomyces* - diferentes espécies:
13 espécies descritas associadas à doença**

Os sintomas são muito variáveis, dependendo da variedade da batata e da agressividade do patógeno:



Sintomas

- ✓ **Tipo:** superficial, profunda e erumpente;
- ✓ **Aspecto:** lisa, áspera, reticulada ou em forma de estrela;
- ✓ **Coloração:** clara, avermelhada ou escura.



Agentes causais

Sarna Comum

Streptomyces scabiei (Lambert; Loria, 1989): solo seco, neutro a alcalino

Canadá

S. acidiscabies
(Lambert; Loria, 1989): solos ácidos –
pH < 5,2

S. caviscabies
(Goyer et al., 1996): sarna
profunda

S. setonii
(Millard; Burr 1926):
Waksman
1953

Japão

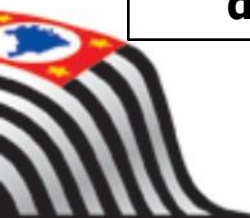
S. turgidiscabies
(Miyajima et al., 1998): lesões
erupentes

França

S. europaeiscabiei* e *S. stelliscabiei (Bouchek-Mechiche et al., 2000):
diferentes sintomas

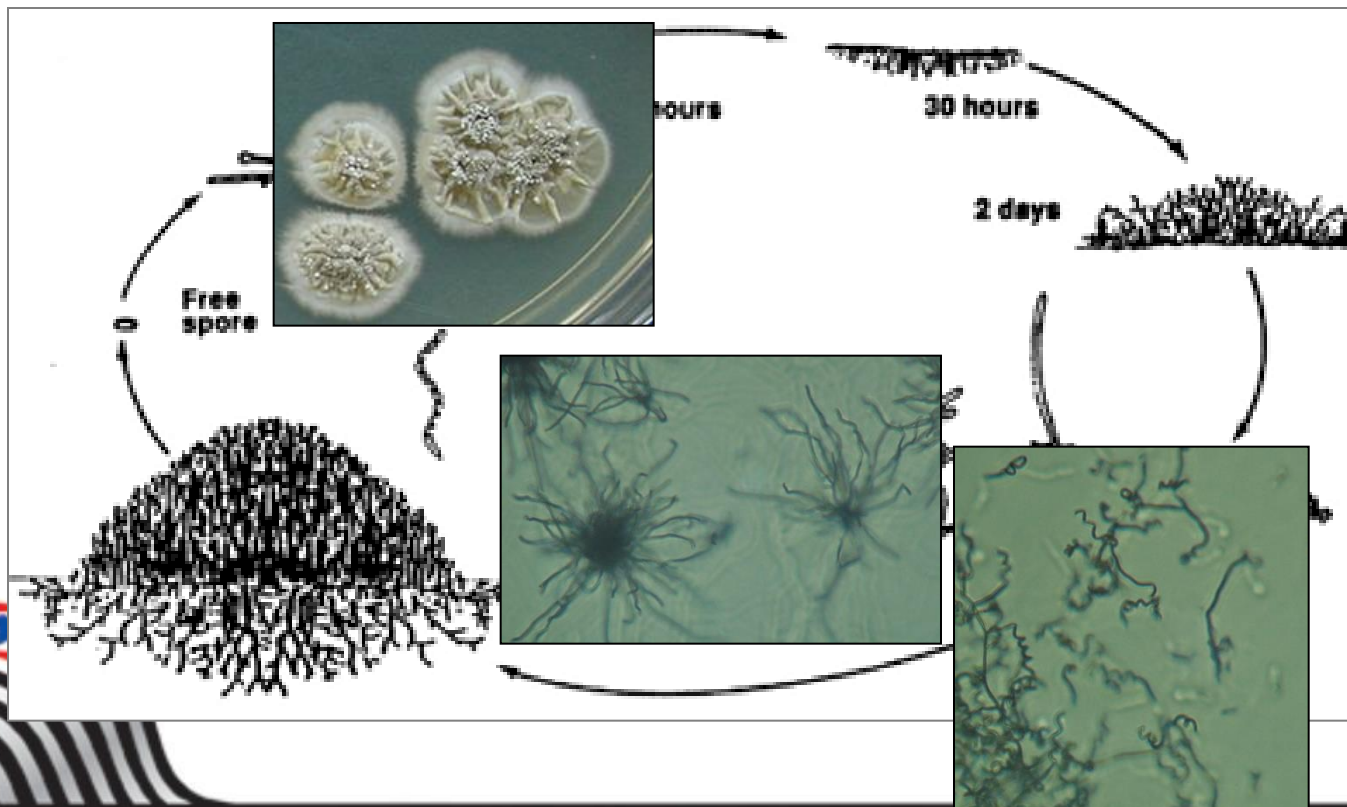
Coréia

***S. luridiscabiei*, *S. puniscabiei*,
*S. niveiscabiei*** (Park et al., 2003): causando
lesões erupentes em solos ácidos



Agentes causais

- Gram positivas, alta proporção de GC (66 a 78%), genoma de 8 a 12 Mb;
- Formação de hifas e micélio – fase vegetativa – metabólitos secundários;
- Hifas aéreas e produção de esporos – reprodução;



Micélio vegetativo
estrutura filamentosa

Micélio aéreo
formação de esporos,
relacionado com
reprodução e dispersão

Agentes causais – *Streptomyces* spp.

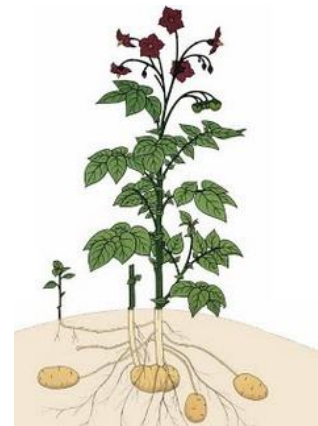
- Micro-organismo de solo: gênero composto por 668 espécies;
- Maior parte são saprófitas presentes no solo – ciclo de carbono;

Saprófitas

- Decompositores;
- Produção de antibióticos e antitumorais;
- Diversidade metabólica: diferentes enzimas;
- Controle biológico de patógenos.

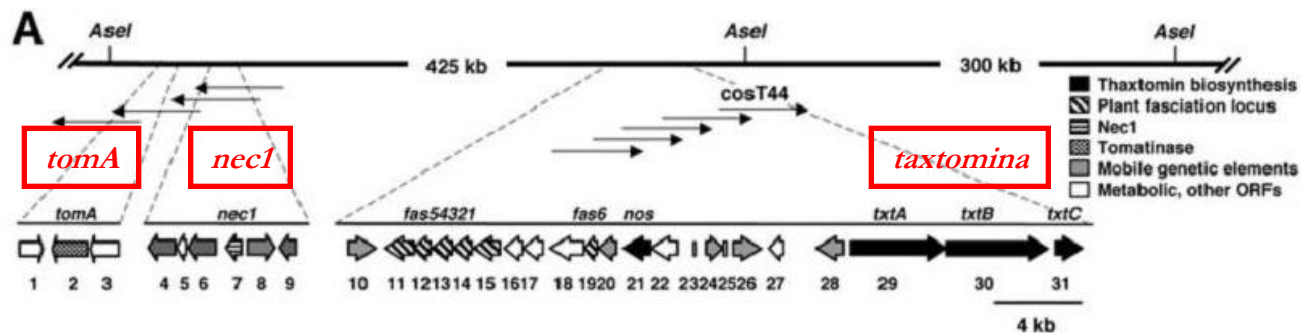


Patogênicas



Patogenicidade

- Mecanismo comum de patogenicidade em algumas espécies de *Streptomyces*



PAI – Ilha de patogenicidade

- fitotoxina taxtomina – penetração, colonização e desenvolvimento das lesões;
- proteína necrogênica Nec1 e tomatinase – atuam reprimindo a resposta de defesa da planta (evasão).

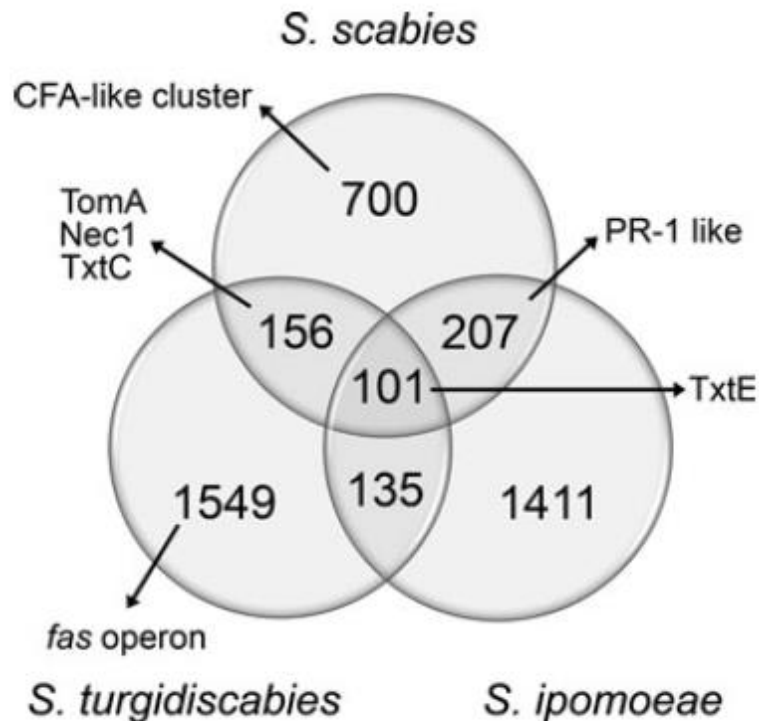
Patogenicidade

PAI

S. scabiei, *S. acidiscabiei*,
S. europaeiscabiei, *S. stelliscabiei*,
S. turgidiscabiei, *S. niveiscabiei* e
S. ipomoeae.

Outras vias

S. luridiscabiei, *S. puniciscabiei*,
S. reticuliscabiei, *S. caviscabies* e *S. setonii*.



Análise da presença de genes *nec1*, *txtAB* e *tomA* (PAI) - avaliação da patogenicidade de linhagens

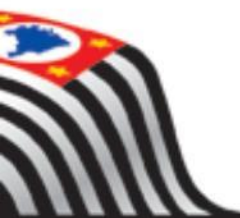
Manejo da doença

“ O levantamento das espécies patogênicas presentes em uma área produtora deve ser o primeiro passo no desenvolvimento de estratégias de controle da sarna”

**Loria et al., 2006
(Evolution of Plant Pathogenicity in *Streptomyces*)**

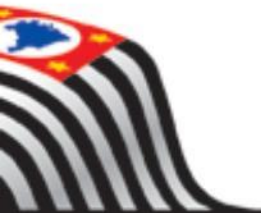
“Estratégia de manejo ideal seria utilização de métodos integrados, especialmente plantando cultivares resistentes em cada região – considerando as espécies patogênicas presentes e mecanismos de patogenicidade”

**Dees e Wanner, 2012
(In search of better management of potato common scab)**



Caracterização de espécies

- **Testes fenotípicos e bioquímicos:** longo tempo e técnicas elaboradas, nem sempre determinam a espécie (ISP);
- **Métodos moleculares (DNA):** menor tempo, maior precisão e sensibilidade de identificação.



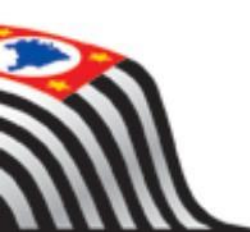
Estudos LBV

Aumento significativo da incidência de sarna no cultivo da batata - fator limitante em algumas regiões produtoras

Corrêa (2011)

- Análises morfológicas;
- Testes de patogenicidade;
- Análises moleculares:
 - PCR-RFLP do gene *atpD*;
 - Sequenciamento (*rpoB*, *atpD*);
 - *Primers* específicos (*S. scabiei*, *S. europaeiscabiei*).

- **Identificação** de linhagens
- Separação em grupos genéticos



Estudos LBV

Corrêa (2011)



Taxonomia polifásica

das linhagens avaliadas:

- *S. scabiei* (57);
- *S. europaeiscabiei* (12);
- *S. cavigabies*/ *S. setonii* (13);
- *S. sampsonii* (2);

57 linhagens diferentes nas características moleculares

Possíveis novas espécies associadas à sarna

Linhagens



Coleção de Culturas de *Streptomyces* IBSBF:

- 162 linhagens no total;
- 13 de material vegetal importado;
- 12 linhagens de Coleções internacionais;
- 137 linhagens Nacionais:
 - São Paulo (39);
 - Santa Catarina (34);
 - Rio Grande do Sul (27);
 - Minas Gerais (20);
 - Paraná (16);
 - Bahia (15);
 - Goiás (12);
 - Procedência desconhecida (2).

**137 linhagens e 37 regiões
produtoras amostradas**

Genes de patogenicidade

150 linhagens

89 linhagens apresentaram os três genes de patogenicidade (**59,3%**)
S. scabiei e *S. europaeiscabiei*

56 linhagens apresentaram variações no conjunto de genes de patogenicidade (**37,3%**)

5 linhagens não apresentaram os genes de patogenicidade (**3,3%**)

Genes de patogenicidade			Total de linhagens
<i>nec1</i>	<i>tomA</i>	<i>txtAB</i>	
+	+	+	89
-	+	+	27
-	+	-	13
-	-	+	9
+	+	-	2
+	-	+	4
+	-	-	1
-	-	-	5
96	131	129	150

Testes moleculares

Application of PCR-RFLP technique to species identification and phylogenetic analysis of Streptomyces associated with potato scab in Brazil based on partial atpD gene sequences

Daniele Bussioli Alves Corrêa, Denise Salomão, Júlio Rodrigues-Neto, Ricardo Harakava & Suzete Aparecida Lanza Destéfano



Testes moleculares

Extração de DNA



YME – 14 dias



Pitcher et al. (1989)

Amplificação por PCR do gene *rpoB*

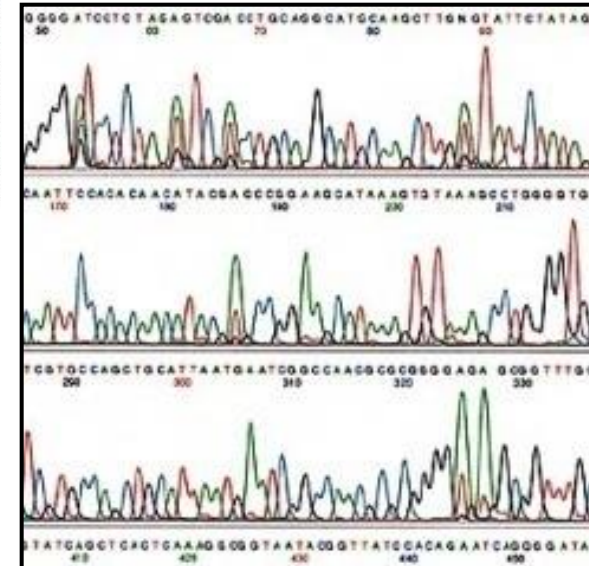
Múltiplas cópias do gene



Alinhamento e análise das sequências

```
g111943599 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
g111720523 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
g113201527 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
g113201527 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
g113438070 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
g113438070 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2049168nev : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2114168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2051168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2106168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2011168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2952168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2812168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2949168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2395168nev : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2931168nev : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2805168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2806168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2955168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2405168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
2958168 : GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
GTGGGCAATCTGCCCTCACTCTGGGACAAGCCCTGCAACCGGGGTCTAATACCGGATACAGACTCTGGGCAAGCTATAGGGGAAAGCTCCGGGGGTGAGCATCAGGC
```

Sequenciamento



Árvore
Filogenética

Matriz de similaridade
das sequências

Identificação das espécies

S. scabiei

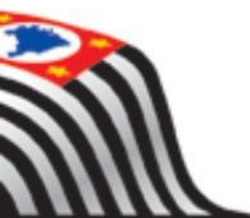
- 57 linhagens identificadas como *S. scabiei*;
 - Espécie mais abundante e amplamente distribuída no país (38%)

**Batatas de diferentes
cultivares e de todos
os estados produtores**

S. europaeiscabiei

- 12 linhagens identificadas como *S. europaeiscabiei*;
- Espécie predominante na Europa (Flores- González et al., 2008);

**Material vegetal
Holanda
Itapetininga - SP**



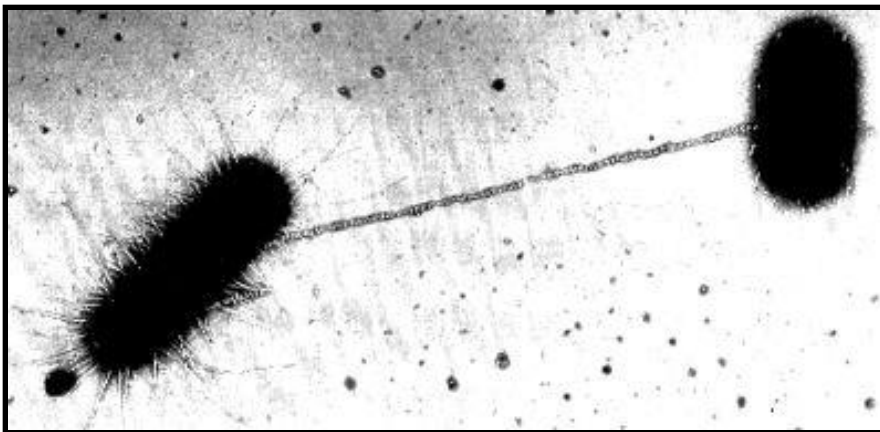
Distribuição



- *S. scabiei*: BA (12), MG (10), SP (10), PR (8), RS (7), GO (5) e SC (4);
- *S. cavigabies*: GO (5), SP (4), MG (2), BA (1) e RS (1);
- *S. europaeiscabiei*: Holanda (11) e SP (1);
- *S. sampsonii*: SP (2);

Novas espécies

- PAI adquirida por transferência horizontal: novas formas patogênicas em sistemas agrícolas (conjugação).



**Espécies adaptadas
a uma determinada
região**



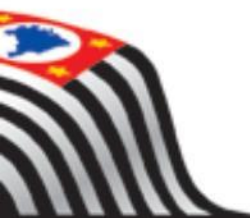
Espécie patogênica

Espécies identificadas

Identificadas (84)

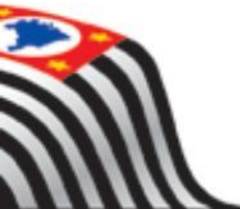
- 57 *S. scabiei*;
- 13 *S. cavigabies/S. setonii*;
- 12 *S. europaeiscabiei*;
- 2 *S. sampsonii*.

Diferenças nos perfis de linhagens causadoras da sarna com relação a outros países



Possíveis novas espécies

- 66 linhagens diferentes das principais espécies associadas à sarna da batata;
- virulência moderada a alta;
- novas espécies de *Streptomyces* associadas à sarna da batata (MLSA e análises do gene 16S RNAr)



In Search of Better Management of Potato Common Scab

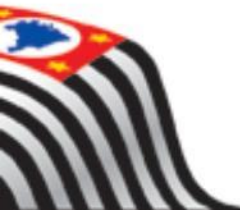
2012

Conhecimento da doença está aumentando consideravelmente

**Detecção do agente causal e
distribuição**

**Entendimento dos
mecanismos de
patogenicidade**

Necessário maior entendimento sobre o patógeno x hospedeiro



Estudos no mundo

In Search of Better Methods for Controlling Common Scab

Conhecimento da doença está aumentando

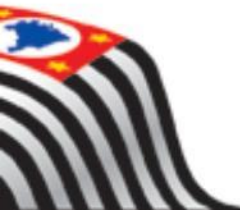
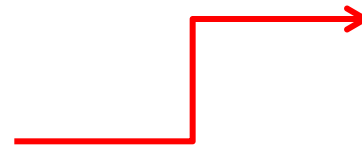
Detecção do agente causal e distribuição

- Necessidade de melhores fontes de resistência;
- Variação genética na população do patógeno;
- Variabilidade na severidade da sarna nos anos e dependendo da localidade.

IDEAL usar todos métodos disponíveis de forma integrada, especialmente plantando cultivares com a melhor resistência para uma região.

Necessário mais entendimento sobre o patógeno x hospedeiro

Desenvolvimento de cultivares resistentes



Pesquisas em andamento

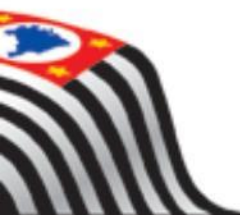
2016 - Dissertação Mestrado/IB – Marcel Alpiste

Título: "Caracterização da fitotoxina taxtomina A produzida por linhagens de *Streptomyces* spp. e avaliação da resistência de cultivares comerciais de batata à sarna da batata"

2015 - Iniciação Científica: PIBIC/CNPq/IB – Alan H.S. Araújo

Título: "Caracterização morfológica e bioquímica de linhagens de *Streptomyces* associadas à sarna da batata"

2016 – "Avaliação da resistência de cultivares comerciais de batata à sarna da batata"



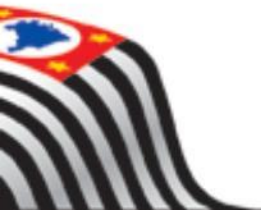
Pesquisas em andamento

2016 - Dissertação Mestrado/IB – Mariana Pereira Appy

Título: "Avaliação de diferentes estratégias de manejo da sarna da batata no Brasil"

Controle Químico

Controle Biológico



OBRIGADA!



PRODUTORES DE BATATA



OBRIGADA!

suzete@biologico.sp.gov.br

Laboratório de Bacteriologia Vegetal

Instituto Biológico

Campinas, SP

Fone: (19) 3253-2112

