# Boletim de Pesquisa 327 e Desenvolvimento | ISSN 1676 - 918X | ISSN 0nline 2176-509X | Dezembro, 2015

# Estudo da Epidemiologia da Verrugose-do-Maracujazeiro





ISSN 1676-918X ISSN online 2176-509X Dezembro, 2015

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

### Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 327

## Estudo da Epidemiologia da Verrugose-do-Maracujazeiro

Angelo Aparecido Barbosa Sussel

Embrapa Cerrados Planaltina, DF 2015 Exemplar desta publicação disponível gratuitamente no link: http://bbeletronica.cpac.embrapa.br/versaomodelo/html/2015/bolpd/bold 322.shtml

#### **Embrapa Cerrados**

BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza Caixa Postal 08223

CEP 73310-970 Planaltina, DF

Fone: (61) 3388-9898 Fax: (61) 3388-9879 www.embrapa.br/cerrados

www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

#### Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Claudio Takao Karia

Secretária-Executiva: Marina de Fátima Vilela

Secretárias: Maria Edilva Nogueira
Alessandra S. Gelape Faleiro

Supervisão editorial: *Jussara Flores de Oliveira Arbues* Normalização bibliográfica: *Rejane Maria de Oliveira* Editoração eletrônica: *Leila Sandra Gomes Alencar* 

Capa: Leila Sandra Gomes Alencar Fotos da capa: Fabiano Bastos

Impressão e acabamento: Alexandre Moreira Veloso
Divino Batista de Souza

#### 1ª edicão

1ª impressão (2015): tiragem 50 exemplares

Edição online (2015)

#### Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Embrapa Cerrados

S964e Sussel, Angelo Aparecido Barbosa.

Estudo da epidemiologia da verrugose-do-maracujazeiro / Angelo Aparecido Barbosa Sussel. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2015.

- 33 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Cerrados, ISSN 1676-918X, ISSN online 2176-509X; 327).
  - 1. Maracujá. 2. Doença de planta. 3. Verrugose.
- Temperatura. 5. Condição ambiental. I. Série. II. Embrapa Cerrados.

632.4 - CDD 21

### Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	
Conclusões	30
Agradecimentos	30
Referências	31

## Estudo da Epidemiologia da Verrugose-do-Maracujazeiro

Angelo Aparecido Barbosa Sussel<sup>1</sup>

#### Resumo

Objetivou-se avaliar o progresso temporal da verrugose-domaracujazeiro; correlacionar o progresso da doença com variáveis climáticas; identificar as temperaturas ideais para geminação de esporos do patógeno e infecção do hospedeiro; e determinar o estádio fisiológico do hospedeiro mais susceptível à doença. Na avaliação do progresso temporal, o modelo monomolecular apresentou os maiores índices de determinação e menores quadrados médios do resíduo no ajuste das curvas do progresso da incidência e da severidade. A temperatura e a umidade relativa no campo apresentaram correlações positivas e significativas com o progresso da doença, enquanto o molhamento foliar apresentou correlação significativa negativa, evidenciando não ser necessário o molhamento por longo período para ocorrência de infecção. Em condições controladas, houve efeito significativo da temperatura sobre a germinação dos conídios e infecção das folhas destacadas. Na temperatura de 25 °C, foram observados os maiores percentuais de germinação e o maior número de lesões esporulantes. A incidência e a severidade foram menores na temperatura de 30 °C. Apenas tecidos jovens, sejam eles folhas, flores, ramos ou gavinhas, são infectados tanto natural como inoculados artificialmente. Após a expansão das folhas e a lignificação do caule e gavinha, estes se apresentam menos susceptíveis à infecção. O mesmo foi observado no campo em que a incidência e a severidade foram maiores nos períodos de lancamentos de folhas, ramos, flores e frutos.

Termos de indexação: *Cladosporium* spp., *Passiflora edulis*, infecção, progresso da doença, cultivares.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF.

## Study of Passion Fruit Scab Epidemiology

#### **Abstract**

This study aimed to evaluate the temporal progress of -passion-fruitscab; to correlate disease progress with climatic variables; to identify the optimum temperatures for spore germination and host infection; and to determine the host physiological state in which it is most susceptible to the disease. The monomolecular model presented the highest degree of determination and the lowest residue in the progress curves of disease incidence and severity. The temperature and relative humidity in the field presented significant positive correlations with disease progress. However, the leaf wetness presented significant negative correlation, demonstrating that it is not necessary a long period of wetness for the occurrence of infection. Significant effect of temperature on spore germination and infection of detached leaves was observed in controlled conditions. The highest percentage of germination and the highest number of sporulating lesions were observed at 25 ° C. At 30 ° C the incidence and severity were lower. Only young tissues (flowers, branches and tendrils) are infected by natural or artificial inoculation. Once the leaves are fully expanded and lignification of branches and tendrils is completed, these are less susceptible to infection. The same was observed in the field, where scab incidence and severity were greater during the early stages of leaf, branch, flower and fruit development.

Index terms: Cladosporium spp., Passiflora edulis, infection, disease progress, passion fruit varieties

### Introdução

A cultura do maracujazeiro destaca-se entre as fruteiras comercialmente produzidas no Brasil, ocupando, em 2011, uma área de aproximadamente 57.848 ha (IBGE, 2014). No ano de 2012, foram produzidas 776.907 t de maracujá, com produtividade média de 13,4 t.ha<sup>-1</sup>, o que classifica o Brasil como o maior produtor mundial, em que os estados da Bahia, do Ceará, de Minas Gerais e de Sergipe aparecem como principais produtores (IBGE, 2014).

No Brasil, existem mais de 150 espécies nativas de maracujazeiro, sendo o maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) e o maracujá-roxo (*Passiflora edulis* f. edulis Sims) as mais conhecidas e de maior aplicação comercial (MELETTI et al., 2000). Contudo, observam-se alguns entraves que dificultam uma produtividade que torne o cultivo economicamente viável. Entre os principais fatores responsáveis pela queda de produtividade no Brasil estão os problemas fitossanitários, mudas de baixa qualidade e contaminadas com patógenos, manejo incorreto de solo, da irrigação e a polinização manual (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2007).

As doenças foliares mais importantes do maracujazeiro são a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), o crestamento bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), a verrugose (*Cladosporium* spp.) e a septoriose (*Septoria passiforae*) (LARANJEIRA, 2005). Destas, a verrugose e a antracnose são as principais doenças de frutos do maracujazeiro (MARTINS, 2006). Entretanto, pouca informação existe sobre a epidemiologia e o manejo dessas doenças, principalmente sobre a verrugose.

A verrugose-do-maracujazeiro, também conhecida como cladosporiose, tem como prováveis agentes etiológicos fungos do gênero Cladosporium, sendo descritos na literatura as espécies Cladosporium herbarum, Cladosporium oxysporum e Cladosporium cladosporioides como os agentes predominantes (BARBOSA et al., 2001; BARRETO

et al., 1996; JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2007). Segundo a classificação da forma perfeita do fungo, *Mycosphaerella tassiana* Johanson, esse pertence ao filo Ascomycota, classe Ascomycetes, subclasse Dothydeomycetidae, ordem Mycosphaerellales, família Mycosphaerellaceae (KIRK et al., 2001).

A verrugose possui esta denominação devido ao seu sintoma típico, ou seja, lesões superficiais em frutos, semelhantes a verrugas. As infecções geralmente ocorrem em tecidos jovens, sob condições de alta umidade e temperaturas amenas, podendo ocorrer em folhas, ramos, gavinhas, flores e frutos (SIMMONDS, 1932). Os sintomas nos frutos ocorrem na forma de manchas circulares, translúcidas, diâmetro de 5 mm, que posteriormente tornam-se ásperas e salientes com coloração parda, não causa deterioração da polpa, mas prejudica a aparência e a aceitação do fruto in natura no mercado (GOES, 1998).

A disseminação da doença pode ocorrer por meio de mudas contaminadas ou por conídios do fungo dispersos pelo vento. Em condição de viveiro, com alta densidade de plantas e alta umidade relativa, Barreto et al. (1996) observaram uma evolução muito rápida da queima das mudas, levando à necrose generalizada da parte aérea e posterior morte.

O manejo da verrugose vem sendo feito mediante a aplicação de fungicidas, apesar de serem poucos os trabalhos descrevendo a eficiência do controle químico (BARBOSA et al., 2001). Medidas culturais e de prevenção podem ser tomadas, como a utilização de mudas sadias, poda de ramos doentes com retirada do material infectado, e melhoria na aeração das plantas, evitando assim a formação de ambientes úmidos por longo período. Com relação à utilização da resistência genética, apesar da verrugose ser uma importante doença, disseminada em áreas de cultivo comercial e doméstico, são poucos os trabalhos direcionados à obtenção de genótipos resistentes ao patógeno, apesar da grande variabilidade genética do gênero *Passiflora* (NEGREIROS et al., 2004).

No processo de avaliação da incidência e da severidade da doença, a quantificação da severidade pode ser complexa, principalmente quando o patógeno promove a deformação do tecido vegetal, como no caso da verrugose (LARANJEIRA, 2005). A quantificação de uma variável que expresse a intensidade de doença é necessária para descrever o progresso da epidemia, sua relação com o clima, com medidas de controle, para a validação de modelos de previsão e para a avaliação de medidas de manejo (BERGAMIN FILHO, 1995; CAMPBELL; MADDEN, 1990). A avaliação da verrugose do maracujazeiro tem sido realizada por meio da avaliação da incidência da doença em frutos, folhas e ramos e pela porcentagem de área do fruto coberta pelas lesões (JUNQUEIRA et al., 2003; NEGREIROS et al., 2004, 2007; SANTOS et al., 2008). Para tanto, são citadas na literatura a utilização de chaves descritivas elaboradas por Junqueira et al. (2003) e Negreiros et al. (2004), além de uma sugestão de chave descritiva de Laranjeira (2005), contudo não há nenhum trabalho validando essas ferramentas. Em outros patossistemas, a quantificação da severidade é realizada com o auxílio de escalas que permitem ao avaliador situar sua estimativa num intervalo menor, compreendido entre dois dos níveis representados por seus diagramas (AMORIM, 1995).

O componente ambiente interfere no progresso de uma doença por influenciar as várias fases do ciclo de vida do patógeno, bem como a interação com fases específicas de crescimento com o hospedeiro (CAMPBELL; MADDEN, 1990). Temperaturas em torno de 22 °C a 28 °C e umidade relativa elevada são consideradas as variáveis climáticas que mais se correlacionam com a verrugose do maracujazeiro (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2007). A concentração de conídios no ar, avaliada por Rodríguez-Rajo et al. (2005), apresentou alta correlação com a faixa de temperatura de 23 °C a 29 °C e umidade relativa em torno de 80%, um indicativo das condições favoráveis para a dispersão do patógeno no campo. Nesse sentido, se faz necessário conhecer a dinâmica da epidemia e todas as suas variáveis, como a época de início da epidemia, a quantidade de inóculo inicial, a taxa de progresso da doença, a área abaixo da curva de progresso, a quantidade máxima de doença e a duração da epidemia (BERGAMIN FILHO, 1995). Todas

essas informações são aplicadas no manejo de doenças de plantas, auxiliando na seleção de medidas de controle, nas modificações das técnicas de cultivo, na seleção de genótipos resistentes e uso de defensivos químicos.

Assim, objetivou-se neste trabalho estudar a epidemiologia da verrugose do maracujazeiro em condições controladas e no campo, buscando identificar estádios fenológicos em que o hospedeiro é susceptível e as condições do ambiente favoráveis ao progresso da doença para dar suporte aos melhoristas no processo de avaliação da resistência de acessos, variedades e híbridos, reduzindo a possibilidade de escape por avaliação em ambiente inapropriado ou inoculação em estádio fenológico inadequado.

### Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido em seis etapas, descritas na seguência.

Avaliação do efeito da temperatura na germinação dos conídios de *Cladosporium* spp. em ágar-água e na infecção em folhas destacadas de maracujá.

Amostras de folhas e frutos com sintomas da doença foram coletadas e o isolamento do organismo foi efetuado diretamente das lesões dos frutos e a partir de fragmentos das folhas desinfestadas superficialmente em solução de hipoclorito de sódio (10%) por um minuto. Os fragmentos desinfestados foram transferidos para placas de Petri com meio de cultura seletivo (BDA + estreptomicina 0,03%). A seguir, as placas foram mantidas a 25 °C (fotoperíodo de 12h/12h) e avaliadas diariamente para se detectar a presença de *Cladosporium* spp. Três isolados do fungo foram repicados para placas de Petri, contendo o meio de cultura BDA, e incubados a 25 °C (fotoperíodo de 12h/12h) por sete dias. Foi obtida suspensão de conídios dos fungos a partir da adição de 10 mL de água destilada e autoclavada sobre a colônia fúngica. A suspensão de conídios foi ajustada para concentração de 10<sup>5</sup> conídios.mL<sup>-1</sup> para realização dos testes de germinação. Alíquotas

de 1 mL de suspensão de conídios foram espalhadas em placas de Petri, contendo 15 mL de ágar-água 1,5% e mantidas em incubadoras à 20 °C, 25 °C e 30 °C por 16 horas. Após esse período, foram quantificados os conídios germinados e não germinados. O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições (constituídas pelas placas) em que foi avaliada a germinação de 200 conídios.

Para determinação do efeito da temperatura na infecção de folhas por *Cladosporium* spp., folhas de maracujá jovens foram destacadas das plantas em viveiro, lavadas com água destilada esterilizada, secas com papel toalha e mantidas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, com três folhas de papel filtro umedecidas ao fundo, além de terem o pecíolo envolvido por algodão umedecido. Uma gota de 20  $\mu$ L de suspensão de conídios (5x10<sup>5</sup> conídios.mL<sup>-1</sup>) foi colocada na superfície de cada folha, com posterior fechamento das placas com filme plástico e incubação nas temperaturas de 15 °C, 20 °C, 25 °C e 30 °C. Após 72 horas, foi retirada a vedação das placas e as folhas foram avaliadas diariamente quanto à presença de lesões nos locais de inoculação por dez dias. O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições constituídas pelas folhas destacadas. Tratamentos testemunha constituíram-se de folhas destacadas que receberam água destilada e esterilizada no processo de inoculação.

### Determinação da susceptibilidade do fruto à doença em função de seu estádio fenológico

Flores de maracujá das cultivares Gigante Amarelo foram polinizadas manualmente e protegidas com um saco de papel para que não recebessem inóculo presente naturalmente no ar (Figura 1A). As flores e seus respectivos frutos foram protegidos durante diferentes períodos até o momento da inoculação, possibilitando obter frutos com diferentes idades no momento da inoculação (Figura 1B). O experimento foi realizado em duplicata, em duas casas de vegetação, com temperatura variando de 18 °C a 27 °C, e umidade relativa entre 50% e 80% com irrigação realizada diretamente no vaso, sendo as polinizações realizadas nos períodos de 15 de setembro a 17 de outubro de 2011. Dessa forma,

obtiveram-se frutos com zero dia de idade, ou seja, ovário inoculado no dia de sua fecundação, com 1 dia, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 23 dias de idade.

Os métodos de inoculação utilizados foram: I – aspersão de suspensão de conídios a 5x10<sup>5</sup> conidios.mL<sup>-1</sup>; II – deposição de gota contendo 10 microlitros de suspensão de conídios a 5x10<sup>5</sup> conidios.mL<sup>-1</sup> sobre o fruto; III – discos de micélio do fungo (Figura 1C); IV – inóculo seco obtido a partir de cultura do fungo esporulando (apenas em frutos com zero, um e dois dias de idade); V – inóculo seco obtido a partir de lesões esporulantes de tecidos florais doente (apenas em frutos com zero, um e dois dias de idade) (Figura 1D).

Foram polinizadas aproximadamente 350 flores, contudo houve abortamento de 80%, restando 70 flores com as quais se realizou o experimento.

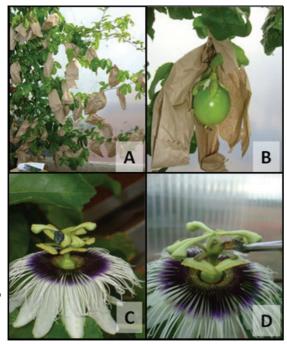


Figura 1. Proteção das flores e métodos de inoculação. (A) flores protegidas após polinização; (B) fruto originário de flor protegida; (C) inoculação com disco de micélio; (D) inoculação com tecido doente esporulando.

Fotos: Angelo A. Barbosa Sussel

# Elaboração de curvas de progresso de incidência e severidade da verrugose nas folhas do maracujazeiro em experimentos de campo

Objetivou-se avaliar o progresso da verrugose-do-maracujazeiro em condição de campo utilizando variedades de Passiflora edulis Gigante Amarelo, Sol do Cerrado, Ouro Vermelho e Rubi, Foram instaladas quatro parcelas em área experimental, cada uma contendo três plantas de cada variedade, em espacamento 2,0 m x 4,0 m conduzidos em espaldeira. O cultivo foi realizado em área de consórcio com anonáceas, acerola e banana, sendo as parcelas dispostas nas entrelinhas das fruteiras perenes. A área recebeu irrigação por aspersão conforme se observou a necessidade de reposição hídrica. Não foi realizada nenhuma pulverização com fungicidas durante o período do experimento, objetivando-se avaliar o comportamento das diferentes cultivares em relação à ocorrência natural da verrugose-do-maracujazeiro. Foram realizadas 15 avaliações, com intervalo de sete dias entre as elas, a partir do florescimento, avaliando-se a incidência e a severidade em todas as folhas de um ramo aleatório selecionado e marcado em cada planta. Com os dados obtidos, foi calculada a área abaixo da curva do progresso da incidência e da severidade, além de ser ajustado um modelo para o progresso da incidência e da severidade ao longo do tempo.

### Avaliação da infecção natural da verrugose-domaracujazeiro em mudas de maracujá

Mudas de maracujá da cultivar Gigante Amarelo foram cultivadas em câmara de crescimento, sem que a irrigação molhasse as folhas, impedindo qualquer tipo de infecção fúngica ou bacteriana. As mudas foram mantidas nessas condições até apresentarem aproximadamente oito folhas totalmente expandidas, quando tiveram sua última folha expandida identificada com uma marca. Essas mudas foram transferidas para uma casa de vegetação, com períodos de irrigação por aspersão de 10 minutos com intervalos de 3 horas entre cada irrigação. Dentro da casa de vegetação, foi mantida uma planta adulta de maracujá da mesma cultivar ocupando o correspondente a 5 m lineares de uma espaldeira em produção, apresentando folhas e flores com sintomas

de verrugose-do-maracujazeiro, com propósito de oferecer inóculo natural para as mudas. As avaliações foram realizadas 15 dias após a transferência das mudas para a casa de vegetação. Foram mensurados o número total de folhas de cada muda, o número de folhas emitidas nestes últimos 15 dias e o número de folhas e entrenós sadios e com sintomas de verrugose (Figura 2).

Como testemunha, mudas de maracujá foram mantidas no mesmo ambiente isolado durante todo o período do experimento e avaliadas da mesma forma que as mudas transferidas para a casa de vegetação. O experimento foi repetido uma segunda vez objetivando reproduzir os mesmos resultados.



Figura 2. Montagem do experimento para quantificação dos sintomas. (A) mudas de maracujá mantidas protegidas em câmara de crescimento e transferidas para casa de vegetação; (B) casa de vegetação contendo mudas em avaliação e planta adulta fonte de inoculo.

### Avaliação de infecção natural em frutos de maracujá no campo

Foi instalada uma área experimental nas dependências da Embrapa Cerrados em abril de 2011 em que se avaliou a incidência da verrugose-do-maracujazeiro em oito cultivares de maracujá-azedo, sendo elas o Gigante Amarelo, Sol do Cerrado, Ouro Vermelho, Rubi, Marilia, IAC 273, IAC 275 e IAC 277 (Figura 3). As cultivares foram distribuídas na área em blocos ao acaso com quatro repetições de três plantas por parcela. Foram coletados 15 frutos por parcela, em dois períodos de frutificação: no início da estação chuvosa em setembro de 2011 e no final da estação chuvosa em marco de 2012, e avaliados quanto à

presença dos sintomas da verrugose, determinando-se também se os sintomas ocorreram nas metades inferiores ou superiores dos frutos.

Foram realizadas análises de variância e teste de médias objetivando identificar diferenças quanto à suscetibilidade das cultivares e o padrão de infecção dos frutos.



Figura 3. Implantação e avaliação de experimento no campo.

Correlação do progresso da verrugose do maracujazeiro com variáveis climáticas determinadas na cultura do maracujazeiro azedo

No período de 29 de outubro até final de março, foram registradas, em intervalos de 5 minutos, a temperatura, a umidade relativa, a radiação solar e a precipitação bem como os valores de quatro sensores de Período de Molhamento Foliar (PMF) instalados no terço mediano das plantas de maracujá.

Inúmeras características da arquitetura das plantas e da superfície das folhas fazem com que o período de molhamento das folhas não ocorra de maneira uniforme entre as plantas e, além disso, a posição das folhas na planta também altera seu período de molhamento. Devido a isto os resultados dos sensores foram calibrados com observações da ocorrência de lâmina de água sobre as folhas no terço médio da planta próximo dos sensores e nas extremidades dos ramos.

O período de molhamento foliar é um parâmetro importante em modelos de alerta para controle fitossanitário, que é normalmente estimado por elementos meteorológicos obtidos da estação meteorológica mais próxima, pois não existem dados disponíveis das condições ambientais

nos pomares. Para iniciar o processo de obtenção de um modelo de estimativa do PMF, a partir dos dados meteorológicos, foram estimadas as correlações entre o período de molhamento foliar diário e os dados obtidos da estação meteorológica mais próxima.

Os elementos climáticos e o período de molhamento foliar são os fatores ambientais que definem a eficiência de infecção e severidade das doenças fúngicas. Dessa forma, para estimar qual o fator mais determinante da ocorrência de doença, foram avaliadas as correlações desses fatores com a incidência e a severidade da doença.

As variáveis meteorológicas, especialmente temperatura do ar e umidade relativa, constituem, na realidade, uma opção extremamente útil para gerar modelos que possibilitem estimar o período de molhamento (REIS, 2004). A partir desse contexto, se faz necessário uma investigação sobre cada um dos elementos meteorológicos fornecidos por estações para que se possam tomar decisões de quais se encontram mais correlacionados com o PMF.

### Resultados e Discussão

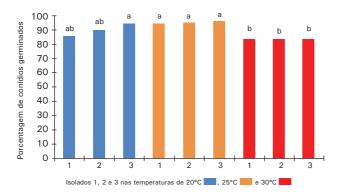
## Avaliação do efeito da temperatura na germinação dos conídios de *Cladosporium* spp. em ágar-água e na infecção em folhas destacadas de maracujá

O efeito da temperatura sobre a germinação dos conídios foi evidente. Sendo, no tratamento de 25 °C, significativa maior porcentagem de conídios germinados em relação ao tratamento de 30 °C (Figura 4). O tratamento de 20 °C apresentou resultados intermediários (Figura 4).

Também houve infecção foliar em todas as temperaturas. Tanto a incidência quanto a severidade foram maiores na temperatura de 25 °C, apesar de não haver diferenças significativas em relação à temperatura de 20 °C. Em relação ao número de lesões esporulantes, a temperatura de 25 °C foi estatisticamente superior aos outros dois tratamentos. Sendo, na temperatura de 30 °C, não observadas lesões com esporulação do fungo (Figuras 5 e 6). Diferentemente do observado neste experimento, Riascos et al. (2012) obtiveram lesões de *Cladosporium* a partir da inoculação de suspenção de esporos depositada

sobre folhas e frutos jovens destacados, com e sem ferimentos, sob temperatura variando entre 17 °C e 19 °C e umidade relativa de 95%.

A identificação da temperatura ideal para o processo de germinação de esporos e de infecção auxilia na elaboração de modelos de infecção e progresso da doença a serem utilizados em sistemas de alerta de epidemias e na padronização de metodologias de inoculação e seleção de plantas resistentes (REIS, 2004).



**Figura 4**. Porcentagem de conídios germinados de três isolados (1, 2 e 3) de *Cladosporium* spp. mantidos nas temperaturas de 20 °C, 25 °C e 30 °C por 16 horas (médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey).

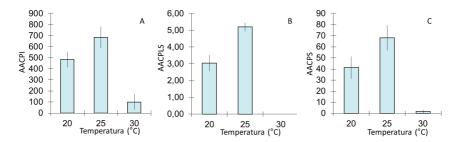


Figura 5. Efeito da temperatura sobre a infecção das folhas de maracujazeiro em dez dias de avaliação. (A) efeito da temperatura na Área Abaixo da Curva do Progresso da Incidência - AACPI; (B) efeito da temperatura na Área Abaixo da Curva do Progresso das Lesões Esporulantes - AACPLS; (C) efeito da temperatura na Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade da verrugose-do-maracujazeiro - AACPS. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

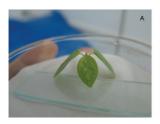






Figura 6. Representação do método de inoculação (A = controle) e dos sintomas de verrugose observados nas folhas de maracujazeiro (B e C).

### Determinação da susceptibilidade do fruto à doença em função de seu estádio fenológico

Observou-se que frutos com 7, 8, 9, 14, 15, 16 e 20 dias de idade não apresentaram nenhum tipo de sintoma, mesmo tendo recebido inoculação por suspensão por duas vezes, inoculados com inóculo seco e com disco de micélio. Apenas os resquícios florais apresentavam-se em processo de senescência com crescimento de colônias fúngicas em sua superfície.

Flores recém-polinizadas e imediatamente inoculadas com aspersão de suspensão de conídios apresentaram necrose dos tecidos 48 horas após a inoculação, impossibilitando o desenvolvimento do fruto para posteriores avaliações (Figura 7). O mesmo foi observado com flores inoculadas com a deposição de um disco de micélio sobre o ovário. Todas as flores com um, dois, três, quatro, cinco e seis dias de idade, inoculadas com aspersão de suspensão de conídios e deposição de disco de micélio, mantiveram o desenvolvimento do fruto por período que variou de dois a dez dias, quando foi abortado. A causa do abortamento dos frutos inoculados deveu-se, na maioria dos casos, à completa necrose dos tecidos florais, ovários e frutos (Figura 8).

Flores com zero, um e dois dias de idade, inoculadas com inóculo seco obtido a partir da cultura do fungo esporulando e de tecidos florais doentes, geraram frutos com pequenas pontuações. Parte dos frutos foi abortada e parte desenvolveu-se normalmente mantendo apenas algumas marcas das pontuações (Figura 9). Não foram observadas

estruturas características dos sintomas da verrugose-do-maracujazeiro (verrugas) nos frutos inoculados. Riascos et al. (2012) inocularam folhas e frutos jovens de maracujá em casa de vegetação, com temperatura média de 20,2 °C, mantendo as plantas em câmara úmida até o surgimento dos sintomas, que ocorreu de 6 a 14 dias após a inoculação. Esses autores observaram a formação de cancros nos frutos 23 dias após a inoculação, sintoma não observado em nossas condições.

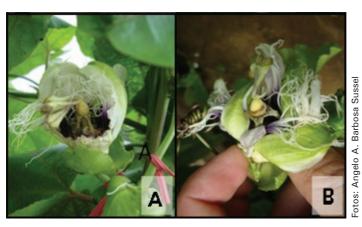


Figura 7. Necrose de tecidos após a inoculação. (A) descoloração 24 horas após inoculação por aspersão; (B) infecção e colonização de flor inoculada.

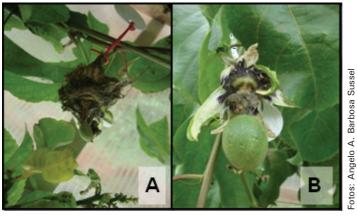


Figura 8. Abortamento de frutos. (A) necrose total de tecidos florais; (B) fruto com pontuações em processo de murcha e abortamento.



Figura 9. pontuações observadas em frutos não abortados.

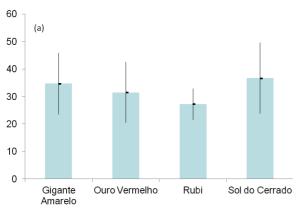
Botões florais inoculados com suspensão de conídios apresentaram sintomas três dias após a inoculação (Figura 10). A infecção e o crescimento do fungo foram observados em todas as estruturas florais das flores inoculadas, desenvolvendo a necrose dos tecidos e produzindo inóculo.



Figura 10. Sintomas em brácteas e botão floral três dias após a inoculação.

# Elaboração de curvas de progresso de incidência e severidade da verrugose nas folhas do maracujazeiro em experimentos de campo

As variedades estudadas não apresentaram diferenças significativas quando comparadas as Áreas Abaixo da Curva do Progresso da Infecção e as Áreas Abaixo da Curva do Progresso da Severidade (Figura 11), o que leva a crer que o nível de resistência das quatro variedades não difere o suficiente para se eleger uma variedade mais resistente. Também se pode inferir que ainda exista a necessidade de buscar novas fontes de resistência para a verrugose-do-maracujazeiro.



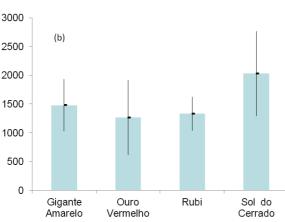
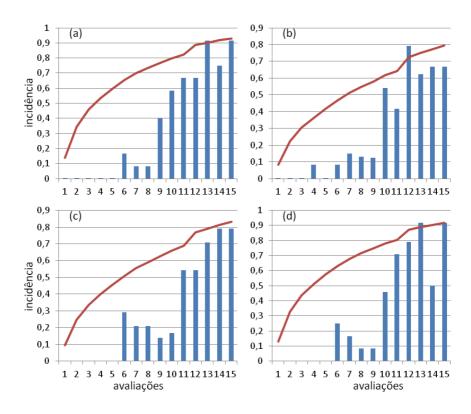


Figura 11. Médias das áreas abaixo da curva do progresso da incidência-AACPI (a) e da severidade AACPS (b) da verrugose-do-maracujazeiro em quatro cultivares de maracujá-azedo. Barras indicam desvio padrão (médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey).

O modelo monomolecular apresentou maiores índices de determinação e menores quadrados médios do resíduo no ajuste das curvas do progresso da incidência e da severidade (Tabela 1). Observou-se um incremento da emissão de folhas, botões florais, flores e frutos ocorrido na segunda metade do período de avaliação, correlacionandose diretamente com o progresso da incidência e da severidade da verrugose-do-maracujazeiro no campo (Figuras 12 e 13). Esses resultados, juntamente com os resultados observados na determinação da idade em que o fruto foi susceptível à infecção, concordam com a informação apresentada por Bergamin Filho e Amorim (2002) que correlacionam o progresso da infecção de tecidos jovens com o modelo monomolecular ajustado nesse experimento. Resultados como esses iá foram observados em outros cultivos, como a clorose variegada do citrus, doença bacteriana cuja taxa de progresso coincide com o período de maior brotação de seu hospedeiro (BARBOSA, 2002), indicando uma alta susceptibilidade de tecidos jovens do maracujazeiro para verrugose, condição esta que se altera com o amadurecimento dos tecidos. A suscetibilidade de tecidos jovens contribui para o aumento de pontos de infecção quando a planta está em pleno desenvolvimento vegetativo, com lançamento diário de ramos, gavinhas e folhas, assim como durante o período de florescimento quando existe contínua emissão de botões florais, flores e frutos, todos susceptíveis à infecção. Dessa forma, em condições favoráveis à infecção e esporulação do fungo, a ocorrência de uma epidemia de verrugose-do-maracujazeiro é altamente favorecida durante o período reprodutivo do maracujazeiro, tornando este o período crítico para o manejo da doença nessa cultura.

**Tabela 1**. Coeficiente de determinação (R²) e quadrado médio do erro (QME) do ajuste de curvas à curva de progresso da incidência e à curva de progresso da severidade da verrugose-do-maracujazeiro em quatro cultivares de maracujá azedo.

		Incidência						
		Exponencial	Logístico	Monomolecular	Gompertz			
Gigante Amarelo	R <sup>2</sup>	52,08	20,45	66,55	51,44			
	QMR	755,39	1085,09	9,82	133,44			
Ouro Vermelho	R <sup>2</sup>	41,74	19,45	74,31	59,47			
	QMR	1054,29	1345,28	3,10	111,51			
Rubi	R <sup>2</sup>	65,05	23,89	72,46	58,35			
	ΩMR	720,96	983,26	4,05	106,21			
Sul do cerrado	R <sup>2</sup>	47,52	19,02	60,31	47,25			
	QMR	744,38	1064,53	10,21	130,15			
		Severidade						
		Exponencial	Logístico	Monomolecular	Gompertz			
Gigante Amarelo	R <sup>2</sup>	16,87	39,12	65,39	59,41			
	QMR	90,10	90,57	0,15	2,60			
Ouro Vermelho	R²	41,84	56,93	83,26	76,30			
	QMR	90,75	91,20	0,04	2,19			
Rubi	R <sup>2</sup>	16,28	28,23	76,74	48,03			
	ΩMR	111,95	114,67	0,04	3,59			
Sul do cerrado	R <sup>2</sup>	12,00	33,64	63,53	50,01			
Sui uo cerrauo	ΩMR	118,73	123,59	0,46	5,18			



**Figura 12**. Médias da incidência da verrugose-do-maracujazeiro nas variedades Gigante Amarelo (a), Ouro Vermelho (b), Rubi (c) e Sol do Cerrado (d); e curva monomolecular do progresso da incidencia (linha), em 15 avaliações semanais.

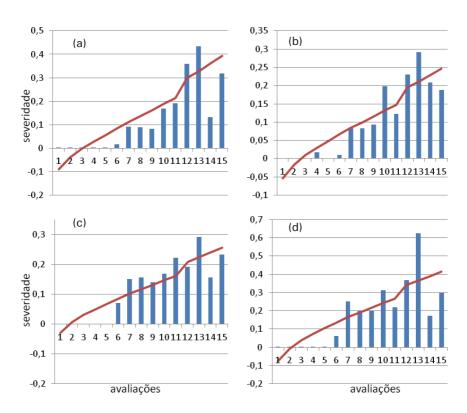


Figura 13. Médias da severidade da verrugose-do-maracujazeiro nas variedades Gigante Amarelo (a), Ouro Vermelho (b), Rubi (c) e Sol do Cerrado (d); e curva monomolecular do progresso da severidade (linha), em 15 avaliações semanais.

### Avaliação da infecção natural da verrugose-domaracujazeiro em mudas de maracujá

No primeiro experimento, das 20 plantas transferidas para casa de vegetação, 70% apresentaram sintomas em pelo menos uma das folhas jovens, sendo a média observada de 1,46 folhas jovens sintomáticas por planta. Dessas 14 plantas sintomáticas, cinco também apresentaram sintomas nas gavinhas e nos entrenós jovens, emitidos após a transferência de local (Figura 14). Nenhuma folha ou entrenó emitido antes da transferência para casa de vegetação apresentou sintomas de verrugose. No segundo experimento, das 20 plantas transferidas, 40% apresentaram sintomas, sendo estes observados apenas em folhas

jovens. Neste segundo experimento, não foram observados sintomas em folhas velhas, gavinhas ou entrenós jovens ou velhos. Este experimento evidencia a dificuldade de se conseguir repetibilidade dos resultados, uma vez que plantas que servem como tratamento testemunha sem inoculação podem ser infectadas naturalmente dentro das casas de vegetação durante o período em que permanecem em câmara úmida ou em avaliação. Não foram encontrados registros de trabalhos citando a contaminação de tratamentos testemunhas em patossistemas que envolvem o gênero *Cladosporium* (BARRETO et al., 1996; JUNQUEIRA et al., 2003; NEGREIROS et al., 2007; RIASCOS et al., 2012; SANTOS et al., 2009).

Fotos: Angelo A. Barbosa Sussel

**Figura 14.** Sintomas de verrugose observados em ramos, folhas e gavinhas jovens, respectivamente.

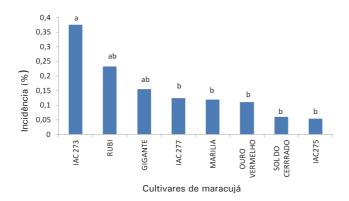
### Avaliação de infecção natural em frutos de maracujá no campo

Do total de frutos avaliados, 27,6% e 44,7% dos frutos colhidos na primeira e na segunda época respectivamente apresentaram sintomas de verrugose, evidenciando que o período chuvoso transcorrido entre setembro de 2011 e março de 2012 corroborou para o aumento da incidência da doença no campo.

Avaliando-se a distribuição das lesões nos frutos, quando as lesões da metade superior foram contadas separadamente das lesões observadas na metade inferior, observou-se diferença significativa com a concentração das lesões na metade superior do fruto. Em virtude de os tecidos das flores serem susceptíveis à infecção por *Cladosporium* spp. e

assim constituir um farto substrato para colonização e reprodução, criouse uma rica fonte de inóculo localizada muito próxima à região superior do fruto, o que contribuiu para este resultado. No patossitema mofo-cinzento do morangueiro, as pétalas podem constituir-se numa fonte efetiva e estável de inóculo de Botritys cinerea, capaz de causar infecção nos frutos, sendo recomendada a remoção e (ou) neutralização dessas pétalas como fonte de inóculo por contribuir substancialmente na redução do mofo-cinzento do morangueiro, mesmo que a porcentagem de retenção de pétalas nos frutos até a colheita seja baixa (BOFF et al., 2003).

Em relação às diferentes cultivares avaliadas, houve diferença significativa na incidência de frutos com sintomas de verrugose-domaracujazeiro entre as cultivares. A cultivar IAC-273 foi a que apresentou maior número de frutos com sintomas da doença, diferindo das cultivares Ouro Vermelho, Sol do Cerrado, Marília, IAC-277 e IAC-275 (Figura 15). Não houve interação significativa entre as cultivares e a distribuição das lesões nos frutos, sendo o maior número de lesões observado na parte superior do fruto. Essa observação de maior ocorrência de sintomas de verrugose na parte superior do fruto pode estar relacionada à ocorrência de verrugose nos tecidos florais, o que serviria como fonte de inóculo para infecção de frutos em início de formação.



**Figura 15**. Incidência média de frutos com lesão de verrugose-do-maracujazeiro em oito cultivares de maracujá-azedo (médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey).

# Correlação do progresso da verrugose do maracujazeiro com variáveis climáticas determinada na cultura do maracujazeiro azedo

Observou-se a correlação entre o período de molhamento foliar (PMF) e todas as variáveis climáticas, sendo menor em valor absoluto para a temperatura mínima e maior para umidade relativa do ar média (Tabela 2). Esses elementos serão alvo de estudo com maior nível de detalhamento.

**Tabela 2**. Correlação entre o período de molhamento foliar e todas as variáveis climáticas.

Correlação	Rad	Prec	Tmax	Tmin	Tmed	URmax	URmin	URmed
PMF	-0,45**	0,29**	-0,56**	0,22**	0,55**	0,60**	0,60**	0,68**

Valores marcados com \*\* indicam correlação (Corr) a 1% de significância.

Apesar da correlação altamente significativa entre umidade relativa (max., min. e med.) e o PMF, a correlação com a incidência de verrugose no maracujá foi negativa, o que indica que esses elementos não expressam um efeito direto na incidência de verrugose. Considerando o comportamento da maioria das doenças causadas por *Cladosporium* spp., em que se observa que, para a ocorrência da infecção do patógeno sobre o hospedeiro, é necessário uma lâmina de água livre sobre a folha por um período suficiente para a germinação e a penetração do esporo, essa correlação negativa permite inferir uma quebra de paradigma, pois verificou-se que, com o aumento da umidade relativa e do período de molhamento foliar, não ocorreu maior incidência da verrugose-domaracujazeiro, ao contrário, a incidência foi menor.

Já a correlação entre a temperatura máxima com a incidência da verrugose-do-maracujazeiro, foi altamente significativa e positiva, ou seja, com o aumento da temperatura máxima ocorreu o aumento da severidade da verrugose. Essa relação é explicável pela existência de um aumento da velocidade de infecção com o aumento de temperatura até a temperatura ótima para esse processo, portanto a temperatura

máxima parece ter sido o principal elemento meteorológico determinante da incidência de verrugose-do-maracujazeiro. Entretanto, essa correlação leva em consideração a temperatura que ocorreu no dia anterior ao dia da avaliação, assim sendo, correlacionar-se-ia melhor com a severidade da doença, permitindo uma maior taxa de crescimento de lesão do que propriamente o processo de infecção, pois um período de 24 horas é muito pequeno para que haja infecção e crescimento da lesão a ponto de ser observável a olho nu sobre as folhas. Os demais parâmetros térmicos acompanhados, temperatura média e temperatura mínima do período, não apresentaram correlações significativas com o progresso da doença, que nos indica que as temperaturas mais elevadas, na faixa de 20 °C, é que estão mais próximas da temperatura ideal para a incidência da doenca.

A umidade relativa do ar não foi limitante para o processo de infecção. No entanto, esse resultado não contradiz a afirmativa de Del Ponte (2012) de que a alta umidade é necessária para que ocorra a infecção de *Cladosporium* spp. no maracujazeiro, porém, indica que o ambiente apresenta um período maior com condições de umidade atmosférica e de molhamento foliar do que de temperatura nas faixas apropriadas para o desenvolvimento da doença. Portanto, durante o período de observações, a temperatura foi o elemento meteorológico que condicionou a ocorrência da doença.

A alta correlação negativa entre temperatura e umidade relativa faz com que esta tenha uma correlação negativa com a incidência da doença, o que não é verdadeiro, porém nos auxilia a identificar que a temperatura máxima é que foi o elemento determinante ao desenvolvimento da doença.

A radiação solar, temperatura mínima e média da atmosfera e as umidades mínima e média da atmosfera não apresentaram relação significativa com a incidência da verrugose-do-maracujazeiro, não sendo, portanto, os fatores ambientais mais determinantes da ocorrência da doença. A correlação da precipitação também não foi significativa para duas das variedades de maracujá testadas (Gigante

amarelo e Sol do Cerrado) e foi negativa com as outras duas variedades não sendo, portanto, o fator mais determinante da ocorrência da doença.

As correlações entre os elementos meteorológicos e os períodos de molhamento foliares com a severidade da verrugose-do-maracujazeiro apresentam o mesmo padrão da incidência, sendo exceção a correlação significativa e positiva entre os períodos de molhamento foliar e a severidade na cultivar Gigante Amarelo.

### Conclusões

- A infecção pelo Cladosporium spp. ocorre em tecidos jovens.
- A epidemia desta doença depende de condições climáticas, sobretudo da temperatura máxima, que favoreçam a esporulação do patógeno em período coincidente com a emissão de novas folhas, ramos, gavinhas, flores e frutos pelo maracujazeiro, não sendo necessário molhamento foliar.
- Os frutos com idade superior a sete dias após polinização não são susceptíveis a infecção de *Cladosporium* spp., nas condições em que o experimento foi realizado.

### **Agradecimentos**

Agradecemos ao Instituto Agronômico de Campinas pelas sementes dos híbridos IAC-273, IAC-275 e IAC-277, recebidas por meio do TTM nº 09/2009, utilizadas neste trabalho.

### Referências

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 647-671.

BARBOSA, F. F. L. Epidemiologia da clorose variegada dos citros no Estado de São Paulo. 2002. 158 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BARBOSA, M. A. G.; REHN, K. G.; MENEZES, M.; MARIANO, R. de L. R. Antagonism of Trichoderma species on *Cladosporium* herbarum and their enzymatic characterization. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 98-104, 2001.

BARRETO, R. W.; REQUIA, A. C.; CASA, R. T. Queima de mudas do maracujazeiro Passiflora edulis causada por *Cladosporium* cladosporioides. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, p. 348, 1996. Suplemento.

BERGAMIN FILHO, A. Epidemiologia: conceitos e objetivos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 5, p. 540-553.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Doenças com período de incubação variável em função da fenologia do hospedeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 24, n. 6, p. 561-565, nov./dez. 2002.

BOFF, P.; KRAKER, J. de; GERLAGH, M.; KÖHL, J. The role of petals in development of grey mould in strawberries. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, n. 1, p. 76-83, ian./fev. 2003.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. Introduction to plant disease epidemiology. New York: J. Wiley, 1990.

DEL PONTE, E. M. (Ed.). **Fitopatologia.net - herbário virtual**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. Disponível em: <a href="http://www.ufrgs.br/agronomia/fitossan/herbariovirtual">https://www.ufrgs.br/agronomia/fitossan/herbariovirtual</a>. Acesso em: 22 ago 2012.

GOES, A. Doenças fúngicas da parte aérea da cultura de maracujá. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 1998. p. 208-216.

IBGE. Indicadores: levantamento sistemático de produção agrícola. Disponível em: <a href="http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/">http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/</a>. Acesso em:10 jan. 2014.

JUNQUEIRA, N. T. V.; ANJOS, J. R. N. dos; SILVA, A. P. de O.; CHAVES, R. da C.; GOMES, A. C. Reação às doenças e produtividade de onze cultivares de maracujá-azedo cultivadas sem agrotóxicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, n. 8, p. 1005-1010, ago. 2003.

JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P. Manejo das principais doenças do maracujazeiro. In: MANEJO integrado de doenças em fruteiras. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. p. 87-105.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**. 9<sup>th</sup> ed. Wallingford, UK: CAB International, 2001.

LARANJEIRA, F. F. Problemas e perspectivas da avaliação de doenças como suporte ao melhoramento do maracujazeiro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 161-181.MARTINS, I. Reação de progênies de maracujazeiro-amarelo ao *Colletotrichum gloeosporioides* e biocontrole da antracnose com *Trichoderma* spp. 2006. 137 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Faculdade de Agronomia e medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

MELETTI, L. M. M.; SANTOS, R. R. dos; MINAMI, K. Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: obtenção do cultivar 'Composto IAC-27'. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 491-498, jul./set. 2000.

NEGREIROS, J. R. da S.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; ÁLVARES, V. de S.; MORGADO, M. A. D. O.; SIQUEIRA, D. L. de. Diversidade genética entre progênies de maracujazeiro amarelo baseado em características morfo agronômicas. **Ceres**, Viçosa, MG, v. 54, n. 312, p. 153-160, mar./abr. 2007.

NEGREIROS, J. R. da S.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; SIQUEIRA, D. L. de; PIMENTEL, L. D. Seleção de progênies de maracujazeiro-amarelo vigorosas e resistentes à verrugose (*Cladosporium* cladosporioides). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 272-275, ago. 2004.

REIS, E. M. (Org.). Previsão de doenças de plantas. Passo Fundo: Ed. da UPF, 2004.

RIASCOS, D.; QUIROGA, I.; GÓMEZ, R.; HOYOS-CARVAJAL, L. *Cladosporium*: causal agent of scab in purple passion fruit or gulupa (Passiflora edulis Sims.). **Agricultural Sciences**, v. 3, n. 2, p. 299-305, 2012.

RODRÍGUEZ-RAJO, F. J.; IGLESIAS, I.; JATO, V. Variation assessment of airborne Alternaria and a *Cladosporium* spores at different bioclimatical conditions. **Mycological Research**, New York, v. 109, n. 4, p. 497-507, Apr. 2005.

SANTOS, C. E. M. dos; PISSIONI, L. L. M.; MORGADO, M. A. D.; CRUZ, C. D.; BRUCKNER, C. H. Estratégias de seleção em progênies de maracujazeiro amarelo quanto ao vigor e incidência de verrugose. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 444-449, jun. 2008.

SIMMONDS, J. H. Powdery spot and fruit scab of the passion vine. **Queensland Agricultural Journal**, Brisbane, v. 38, n. 2, p. 143-152, 1932.



GOVERNO FEDERAL PÁTRIA EDUCADORA