

RONILDA LANA AGUIAR

**ETIOLOGIA DA MANCHA AQUOSA (*Cladosporium chlorocephalum*) DA
GUARIROBA (*Syagrus oleracea*)**

**MARINGÁ
PARANÁ-BRASIL
FEVEREIRO- 2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

RONILDA LANA AGUIAR

**ETIOLOGIA DA MANCHA AQUOSA (*Cladosporium chlorocephalum*) DA
GUARIROBA (*Syagrus oleracea*)**

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual de Maringá,
como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em
Agronomia, área de concentração
em Proteção de Plantas para
obtenção do título de Mestre.

**MARINGÁ
PARANÁ-BRASIL
FEVEREIRO- 2008**

RONILDA LANA AGUIAR

**ETIOLOGIA DA MANCHA AQUOSA (*Cladosporium chlorocephalum*) DA
GUARIROBA (*Syagrus oleracea*)**

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual de Maringá,
como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em
Agronomia, área de concentração
em Proteção de Plantas para
obtenção do título de Mestre.

APROVADA em:

Prof. Dr. Álvaro Figueredo dos Santos

Prof. Dr. Dauri José Tessmann

Prof. Dr. João Batista Vida
(Orientador)

Dedico esta dissertação e
mais esta etapa vencida...

Ao meu pai José Gomes,
que sempre acreditou em mim e
sempre, mesmo que a distância,
compartilhou sua coragem
e seu amor incondicional!

Aos meus irmãos Rosângela, Rômulo e Rogério, pelo amor e
compreensão em todos os momentos,
fossem estes de alegria ou de ausência;
por me fazer feliz ...

A todos os meus familiares e amigos
que direta ou indiretamente, sempre
estiveram ao meu lado, incentivando-me.

AGRADECIMENTOS

Muitas são as pessoas a agradecer nesses dois anos em que passei nesta casa, chamada UEM.

Ao orientador, acima de tudo, conselheiro, Dr. João Batista Vida, que durante esta jornada, muito me ensinou.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação, pelos ensinamentos.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela colaboração.

Ao CNPq, pela bolsa concedida para a realização deste estudo.

À funcionária do laboratório de fitopatologia, Sônia e, em especial, ao Mauro, pelos momentos dedicados na condução dos experimentos, como, também, pelas horas de apoio, carinho e compreensão dados em todos os momentos.

Aos amigos do Programa de Pós-Graduação.

BIOGRAFIA

RONILDA LANA AGUIAR, filha de José Gomes de Aguiar e Maria da Conceição Lana Aguiar (in memoriam), nasceu em Ponte Nova, Minas Gerais, no dia primeiro de dezembro de 1980.

Graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, em janeiro de 2004.

Participou, quando estudante de graduação, da Empresa Júnior de Agronomia, de palestras, seminários, congressos, estágios e cursos relacionados à Agronomia.

Em março de 2006, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, na área de Proteção de Plantas, na Universidade Estadual de Maringá, completando, com este trabalho, os requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Pedaços... pedaços,
Tantos pedaços de minha vida.
Espalhados por toda parte
Alguns nem existem mais,
E sei que sozinha jamais
Poderei juntá-los.

Pedaços... pedaços,
Tantos pedaços de minha vida.
Um quebra-cabeça inacabado, Confuso e sem forma.
Quem poderá um dia
Juntar todas as peças?

Numa visão, como quem sonha acordada
Imagens penetrando minha mente
Vi Jesus se aproximando,
Segurando os meus sonhos.
Falou com grande compaixão,
Tocou-se com uma de suas mãos,
Segurando na outra
Algo que eu não podia ver.

E disse: "Pedaços... pedaços,
Eu tenho todos os pedaços de sua vida,
Milhares de fragmentos
De cada dia.
Posso juntá-los todos

Para que nunca mais se percam.

Posso juntá-los todos,

Como ninguém mais pode fazer.

Como ninguém mais”.

(Stormie Omartian)

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	XIII
LISTA DE FIGURAS.....	XV
APÊNDICES.....	XVII
RESUMO.....	XVIII
ABSTRACT.....	XX
1.INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DA GUARIROBA.....	3
1.2 DOENÇAS NA CULTURA DA GUARIROBA.....	4
1.3 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NA INFECÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA.....	5
1.4 OBJETIVOS.....	6
CAPÍTULO I.....	7
‘MANCHA AQUOSA’ DA GUARIROBA: ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO AGENTE CAUSAL.....	7
1. INTRODUÇÃO.....	7
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
2.1 OBTENÇÃO DE CULTURA PURA DO FUNGO ASSOCIADO À ‘MANCHA AQUOSA’.....	10
2.2 IDENTIFICAÇÃO DO ISOLADO ASSOCIADO À ‘MANCHA AQUOSA’ OBTIDO EM CULTURA PURA.....	10
2.3 TESTE DE PATOGENICIDADE EM FOLHAS DE GUARIROBA...	11
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
3.1 SINTOMATOLOGIA DA MANCHA AQUOSA.....	12
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO ISOLADO ASSOCIADO À MANCHA AQUOSA.....	12
3.3 IDENTIFICAÇÃO DO ISOLADO ASSOCIADO À MANCHA AQUOSA.....	13
3.4 TESTE DE PATOGENICIDADE EM FOLHAS DESTACADAS DE GUARIROBA.....	14
4. CONCLUSÕES.....	17
CAPÍTULO II.....	18

PATOGENICIDADE DE <i>Cladosporium chlorocephalum</i> , <i>C. cucumerinum</i> E <i>C. fulvum</i>	18
1. INTRODUÇÃO.....	18
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
2.1 OBTENÇÃO DOS ISOLADOS.....	20
2.2 PREPARO DOS HOSPEDEIROS.....	21
2.3 PRODUÇÃO DO INÓCULO.....	22
2.3.1 DISCOS DE MEIO DE CULTIVO.....	22
2.3.2 SUSPENSÃO DE ESPOROS.....	22
2.4 INOCULAÇÃO.....	23
2.4.1 DISCOS DE MEIO DE CULTIVO.....	23
2.4.2 SUSPENSÃO DE ESPOROS.....	23
2.5 INCUBAÇÃO.....	23
2.6 AJUSTE DA METODOLOGIA DE INOCULAÇÃO.....	24
2.7 PATOGENICIDADE.....	24
2.7.1 PATOGENICIDADE EM PALMÁCEAS.....	24
2.7.2 PATOGENICIDADE EM PEPINO TIPO ‘JAPONÊS’, PEPINO CAIPIRA E TOMATEIRO.....	25
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
3.1 AJUSTE DA METODOLOGIA DE INOCULAÇÃO.....	27
3.2 PATOGENICIDADE.....	29
3.2.1 PATOGENICIDADE EM PALMÁCEAS.....	29
3.2.2 PATOGENICIDADE EM PEPINO TIPO ‘JAPONÊS’, PEPINO CAIPIRA E TOMATEIRO.....	30
4. CONCLUSÕES.....	33
CAPÍTULO III.....	37
INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NA INFECÇÃO DE <i>Cladosporium chlorocephalum</i> E <i>Cladosporium cucumerinum</i> EM HÍBRIDO DE PEPINO TIPO ‘JAPONÊS’ HOKUSHIN.....	37
1. INTRODUÇÃO.....	37
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1 PREPARO DAS MUDAS.....	39
2.2 PRODUÇÃO DE INÓCULO E INOCULAÇÃO.....	39

2.3 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO PERÍODO DE INCUBAÇÃO E PERÍODO LATENTE.....	40
2.4 INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NO PERÍODO DE INCUBAÇÃO E PERÍODO LATENTE.....	40
2.5 AVALIAÇÕES.....	41
2.6 ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	42
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
3.1 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA INFECÇÃO DE <i>Cladosporium chlorocephalum</i> e <i>C. cucumerinum</i>	43
3.2 INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NA INFECÇÃO DE <i>Cladosporium chlorocephalum</i> e <i>C. cucumerinum</i>	44
3.3 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NA ESPORULAÇÃO DE <i>Cladosporium chlorocephalum</i> e <i>C. cucumerinum</i> EM PLANTAS DE HÍBRIDOS DE PEPINO TIPO 'JAPONÊS' HOKUSHIN.....	49
4. CONCLUSÕES.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Hospedeiros de <i>Cladosporium chlorocephalum</i> , de <i>C. cucumerinum</i> e de <i>C. fulvum</i>	21
Quadro 2 - Patogenicidade de isolados de <i>Cladosporium chlorocephalum</i> (G1- folhas de guariroba) e de <i>Cladosporium cucumerinum</i> (R1- folhas de pepino tipo 'japonês') em híbridos de pepino tipo 'japonês', aos oito dias após a inoculação, realizada sem fermento do tecido (+) patogênico, (-) não-patogênico.....	28
Quadro 3 - Patogenicidade de isolados de <i>Cladosporium chlorocephalum</i> (G1- folhas de guariroba) e de <i>Cladosporium cucumerinum</i> (R1- folhas de pepino tipo 'japonês') em folha destacada de guariroba, pupunha, açai e juçara, aos dez dias após a inoculação, realizada com fermento do tecido (+) patogênico, (-) não-patogênico.....	29
Quadro 4 – Patogenicidade de <i>Cladosporium chlorocephalum</i> (isolados de plantas de guariroba e pupunheira), de <i>C. cucumerinum</i> (isolados de plantas de pepino e melão) e de <i>C. fulvum</i> (isolados de plantas de tomate) em híbridos de pepino tipo 'japonês' e variedades de pepino caipira, aos oito dias após a inoculação, realizada sem fermento do tecido (+) patogênico, (-) não-patogênico.....	31
Quadro 1 - Escala de notas para a avaliação da severidade de <i>Cladosporium chlorocephalum</i> e <i>C. cucumerinum</i>	42
Quadro 2 - Equações de regressão da relação de diferentes temperaturas e diferentes períodos de molhamento foliar para <i>Cladosporium cucumerinum</i> e <i>C. chlorocephalum</i>	48

Quadro 3- Esporulação de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum* em híbrido de pepino 'japonês' Hokushin, em diferentes temperaturas..... 50

Quadro 4: Esporulação de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum* em híbrido de pepino 'japonês' Hokushin, em diferentes períodos de molhamento foliar..... 51

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Sintomas de *Cladosporium spp.* em folhas de guariroba (A,B,C e D)..... 15
- Figura 2 -** Conídios (A) e conidióforo (B) de *Cladosporium chlorocephalum*.... 16
- Figura 1–** Sintomas de mancha aquosa em fragmentos de folhas de guariroba inoculados com *Cladosporium chlorocephalum*..... 34
- Figura 2–** Sintomas em folhas de híbrido de pepino tipo ‘japonês’ Hokushin inoculadas com *Cladosporium chlorocephalum* originados de folhas de guariroba, inoculação sem fermento..... 34
- Figura 3–** Sintomas em folhas de híbrido de pepino tipo ‘japonês’ Natsubayashi inoculadas com *Cladosporium fulvum* originados de plantas de tomate, inoculação sem fermento..... 35
- Figura 4–** Sintomas em folhas de tomateiro cv. Santa Clara inoculados com *Cladosporium chlorocephalum* originados de plantas de guariroba, inoculação sem fermento: (A) dois dias após inoculação; (B) sete dias após inoculação; (C) 10 dias após inoculação; (D) 15 dias após inoculação..... 36
- FIGURA 1-** Efeito de diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar na severidade de *Cladosporium cucumerinum*, em híbrido de pepino tipo ‘japonês’ Hokushin. **A-** período de molhamento foliar de 0 hora; **B-** período de molhamento foliar de 4 horas; **C-** período de molhamento foliar de 8 horas; **D-** período de molhamento foliar de 12 horas..... 46
- FIGURA 2-** Efeito de diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar na severidade de *Cladosporium chlorocephalum*, em híbrido de pepino tipo ‘japonês’ Hokushin. **A-** período de molhamento foliar de 0 hora; **B-** período de molhamento foliar de 4 horas; **C-** período de molhamento foliar de 8 horas; 47

D- período de molhamento foliar de 12 horas.....

FIGURA 3- Sintomas em folhas de híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin inoculadas com *Cladosporium cucumerinum* e conídios de *C. cucumerinum* observados em microscópio óptico. **A** - referentes ao período de molhamento foliar de 4 horas; **B** – ao período de molhamento foliar de 8 horas; **C** – ao período de molhamento foliar de 12 horas..... 53

FIGURA 4- Sintomas em folhas de híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin inoculadas com *Cladosporium chlorocephalum* e conídios de *C. chlorocephalum* observados em microscópio óptico. **A₁** - referentes ao período de molhamento foliar de 4 horas; **B₁** – ao período de molhamento foliar de 12 horas..... 54

APÊNDICES

Figura 1A- Efeito de diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar (0 – 4 – 8 e 12 horas) na severidade de *Cladosporium cucumerinum* em híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin.

Figura 2A- Efeito de diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar (0 – 4 – 8 e 12 horas) na severidade de *Cladosporium chlorocephalum* em híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin.

RESUMO

AGUIAR, Ronilda Lana, M.S. Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2008. **ETIOLOGIA DA MANCHA AQUOSA (*Cladosporium chlorocephalum*) DA GUARIROBA (*Syagrus oleracea*)**. Orientador: Professor João Batista Vida.

No Estado do Paraná, observou-se a presença de mancha foliar em alta severidade em viveiros para produção de mudas de guariroba. Essas manchas iniciam-se como diminutas pontuações, evoluindo para pequenas manchas de até 2,0 mm de diâmetro, ambas com aspecto encharcado e formato arredondado. A partir desse ponto, as manchas tomam o formato estriado, paralelinérveas às nervuras, atingindo até 3,0 cm de comprimento e 0,5 cm de largura, com a necrose tornando-se de coloração marrom-escura e com marcante halo aquoso. Em manchas velhas, o tecido central rompe-se e toma a coloração palha e bordas marrom-escuras com abundante esporulação e destacado halo aquoso. A coalescência das manchas resultou em requeima foliar. Os objetivos deste trabalho foram: (i) descrever a sintomatologia, de forma detalhada, da mancha aquosa em guariroba e identificar seu agente causal; (ii) estudar a infecção do agente etiológico da mancha aquosa da guariroba em outras espécies de palmitos: pupunheira, açai e juçara; (iii) estudar a infecção do agente causal da mancha aquosa da guariroba em outros hospedeiros de *Cladosporium* spp: híbridos de pepino tipo 'japonês' e tomate; (iv) avaliar a influência da temperatura e do período de molhamento foliar na infecção de *Cladosporium chlorocephalum* e *Cladosporium cucumerinum* no híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin: no período de incubação e no período latente. Os resultados obtidos mostraram que *Cladosporium chlorocephalum* é o agente causal da mancha aquosa da guariroba. O isolado de *Cladosporium chlorocephalum* proveniente de folhas de guariroba foi patogênico às palmáceas guariroba e pupunha, aos híbridos de pepino tipo 'japonês' (Hokushin, Natsubayashi, Tsuyataro e Toishaky) e ao

tomateiro cv. Santa Clara, mas não foi patogênico ao açaí, a juçara e às variedades de pepino caipira (Safira e Record); já o isolado de *Cladosporium cucumerinum*, proveniente de folhas de híbridos de pepino 'japonês' Natsubayashi, não foi patogênico às palmáceas testadas (guariroba, pupunha, açaí e juçara) e foi patogênico a todos os híbridos de pepino tipo 'japonês' e às variedades de pepino caipira. Foi observado neste trabalho a influência da temperatura e do período de molhamento foliar na severidade e esporulação de *Cladosporium chlorocephalum* e *Cladosporium cucumerinum*. Um modelo matemático foi proposto para a descrição do efeito da temperatura e do período de molhamento foliar na infecção. Na temperatura de 25° C, foi observada a produção de esporos de *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum* e o menor período de incubação para *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*. Já para o período de molhamento foliar, onde se observou menor período de incubação, foi o de 12 horas para *C. cucumerinum* e quatro horas para *C. chlorocephalum*; no período de zero hora de molhamento foliar, o início de produção de esporos foi observado aos 21 dias para *C. cucumerinum* e 22 dias para *C. chlorocephalum*, após a inoculação; no período de molhamento foliar de quatro horas, aos 12 dias para *C. cucumerinum* e aos 17 dias para *C. chlorocephalum*; no período de molhamento foliar de oito horas, aos 21 dias após a inoculação para *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*, e no período de molhamento foliar de 12 horas, o início da esporulação foi observada aos 14 dias após a inoculação para *C. cucumerinum* e aos 19 dias para *C. chlorocephalum*.

Palavras-chave: mancha aquosa, guariroba, *Cladosporium chlorocephalum*, gama de hospedeiros, temperatura, molhamento foliar, infecção.

ABSTRACT

AGUIAR, Ronilda Lana, M.S. Universidade Estadual de Maringá, february of 2008. **ETIOLOGY AQUEOUS SPOT (*Cladosporium chlorocephalum*) IN 'GUARIROBA' PALM (*Syagrus oleraceae*)**. Adviser: Dr. João Batista Vida.

In Parana State, Brazil, occurred a leaf spot with high severity in nurseries for production of 'guariroba' palm of seedlings. The spots, evolving into small of up to 2.0 mm in diameter, began as flecks, with aqueous aspect and round format. After that, the blight take the form striatum, parallel the ribs, reaching up to 3.0 cm in length and 0.5 cm in width, with necrosis becoming dark-brown and marked with aqueous halo. In old stains, the central tissue disrupted and got the coloration straw to dark-brown and edges with abundant sporulation and aqueous halo. The coalescence of spots resulted in blight leaf. The objectives of this study werw: (i) to describe the symptoms, in detail, the aqueous spot in 'guariroba' palm (ii) to identify of the etiologic agent of aqueous stain in 'guariroba' palm and other species of palm: peach palm, 'açai' and 'juçara' palm, (iii) to study the infection of the causal agent of the aqueous stain in 'guariroba' palm to other hosts of *Cladosporium* spp: hybrids of 'japanese' cucumber and tomato, (iv) evaluate the influence of the temperature and period of the wetting leaf in the infection of *Cladosporium chlorocephalum* and *Cladosporium cucumerinum* in hybrid of 'japanese' cucumber 'Hokushin': incubation and latent period. It was identified the fungus *Cladosporium chlorocephalum* as the causal agent of the aqueous stain in 'guariroba'. The isolate of *C. chlorocephalum* from leaf of 'guariroba' was pathogenic to 'guariroba' and 'pupunha' palms, hybrids of 'japanese' cucumber ('Hokushin', 'Natsubayashi', 'Tsuyataro' and 'Toishaky') and the tomato cv. 'Santa Clara', but was not pathogenic to 'açai', 'juçara' and the varieties of yokel cucumber ('Safira' and 'Records'); however, the isolate *C. cucumerinum* from leaves of hybrids of 'japanese' cucumber was not pathogenic in palms tested ('guariroba', 'pupunha', 'açai' and 'juçara') and was pathogenic to all hybrids of 'japanese' cucumber 'Natsubayashi' and the varieties of yokel cucumber. It was observed in this study the influence of temperature and of the period of leaf

wetness in severity and sporulation of *C. chlorocephalum* and *C. cucumerinum*. A mathematical model was proposed in order to describe the effect of temperature and leaf wetness period in infection. At of 25 ° C, it was observed the production of spores of *C. cucumerinum* and *C. chlorocephalum*, and the lower period of incubation for both. The lower period of incubation to *C. cucumerinum* was 12 hours with the minimum of four hours of leaf wetness. In the period from zero hour of leaf wetness, the beginning of production of spores was observed at 21 days for *C. cucumerinum* and 22 days to *C. chlorocephalum* after inoculation, already in the period of wetting leaf of four hours was to 12 days to *C. cucumerinum*, and to 17 days for *C. chlorocephalum*. In the period of wetting leaf of eight hours was to 21 days after inoculation for *C. cucumerinum* and *C. chlorocephalum*, and the period of wetting leaf of 12 hours the beginning of sporulation was observed at 14 days after inoculation for *C. cucumerinum*, and 19 days for *C. chlorocephalum*.

Keywords: aqueous spot, 'guariroba' palm, *Cladosporium chlorocephalum*, hange's host, temperature, wetting leaf, infection.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O palmito é um produto de alto valor nos mercados interno e externo, e o Brasil é o maior produtor, exportador e consumidor mundial. Com raras exceções, sua obtenção exemplifica o imediatismo econômico e traz como consequência a depredação de nossos recursos naturais. A quase extinção do palmiteiro (*Euterpes edulis* Martius) em meados do século XX foi devida à destruição acelerada da Mata Atlântica, que foi acompanhada pela dizimação das populações do palmiteiro, e à eliminação de condições para sua regeneração natural (BOVI, 1998; BOVI, 2000).

Na década de 60, o palmiteiro já estava economicamente exaurido na maioria das áreas de distribuição natural. Isto forçou a migração das maiores empresas palmeiras para o estuário do Rio Amazonas, onde existiam extensos açazais ((*Euterpes oleracea* Martius), na busca de matéria-prima (BOVI, 1998). Cerca de 99% do palmito comercial brasileiro procede do extrativismo, principalmente do açai, na região do estuário do Rio Amazonas, e do juçara (*Euterpes edulis* Martius), na Mata Atlântica das regiões Sul e Sudeste (BOVI, 2000).

Essa é uma atividade predominantemente extrativista e está baseada na exploração de espécies nativas do gênero *Euterpes*, como a juçara e o açai. Nas últimas décadas, o aumento das restrições legais, naturais e econômicas ao extrativismo e a expansão continuada dos mercados interno e externo têm criado um cenário favorável às ações de expansão do segmento palmito cultivado em várias regiões brasileiras. Algumas espécies de palmeiras estão sendo usadas pelos produtores para a exploração permanente de palmito. Dentre elas, destacam-se a pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth var. *gasipaes* Henderson), a palmeira-real (*Archontophoenix* spp.), a guariroba (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.), o híbrido entre *E. oleracea* e *E. edulis*, o indaiá (*Atallea dubia*), o inajá (*Maximiliana regia*), o jerivá (*Arecastrum romanzoffianum*), além do açai e o palmiteiro (BOVI, 1998).

No mundo, são conhecidos em torno de 240 gêneros e 3.500 espécies de palmeiras, sendo a maioria utilizada como ornamental; e no Brasil, existem acima de 300 espécies e híbridos (LORENZI, 1996). A flora brasileira de palmeiras é muito rica e tem sido amplamente caracterizada em termos geográficos. Desta forma, deve-se dar maior atenção para os estudos regionais, sendo que esses representam componentes fundamentais para a catalogação detalhada da distribuição das espécies no País (FERNANDES, 1994). Também, o valor econômico das palmeiras é muito grande, fornecendo diversos produtos, tais como: palmito, óleos, amêndoas, fibras, além de material para construção de habitações rústicas, como folhas e estipes, bem como palmeira ornamental para uso em paisagismo (ALVES e DEMATTÊ, 1987; DINIZ e SÁ, 1995; NOBLICK, 1996).

As palmeiras de maior importância no mercado internacional, em conformidade com o que é produzido economicamente e pelas pesquisas realizadas, são: dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.), como fonte de óleo comestível; o coqueiro (*Cocos nucifera* L.), na produção de óleo comestível e outros produtos como coco ralado, água *in natura* ou processada e a tamareira (*Phoenix dactylifera* L.), como fornecedora de alimento tipo “passa”. Mais recentemente, em plantios comerciais de palmito (doce) para o mercado internacional e no Brasil, tem sido utilizada a pupunheira, sendo a Costa Rica o maior produtor e exportador mundial desta palmeira (BOVI, 1993). Neste contexto, vêm aumentando significativamente os plantios comerciais da guariroba no Estado de Goiás, onde a área plantada, em 1996, era de 2.000 ha e, em 1999, de 4.500 ha. Os municípios que apresentam as maiores áreas plantadas com a cultura da guariroba, em Goiás, são Itapuranga, Aurilândia, Goiás, São Luiz de Montes Belos e Piracanjuba (NASCENTE & PEIXOTO 2000). AGUIAR et al. (1996) demonstraram a viabilidade do plantio da guariroba em consórcio com o arroz e o milho na região de cerrado.

De acordo com o IBGE (2006), a produção anual de palmito no Brasil foi de 6.524 toneladas, sendo a maioria, cerca de 70%, produzida em regime extrativista na floresta amazônica, notadamente no Estado do Pará.

Os principais importadores de palmito do Brasil são: França, Espanha, EUA, Argentina, Itália, Canadá e Uruguai (BOVI, 1993).

A guariroba, palmeira nativa da região do cerrado, presente nos Estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Tocantins e Minas Gerais (triângulo mineiro), é caracterizada pelo sabor amargo de seu palmito. Sua exploração comercial vem intensificando-se nos últimos anos, com implantação de lavouras comerciais para o consumo *in natura* e industrializado (CARNEIRO et al.,2003).

1.1 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DA GUARIROBA

A guariroba (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.) é uma espécie da família Arecaceae, sendo conhecida também como gueiroba, pati-amargosa e jaguaroba. É uma palmeira que pode atingir até 8 metros de altura, encontrada nas matas secas e cerrados e também em agrossistemas. Utilizam-se, desta planta, o seu palmito e os frutos maduros, que amadurecem o ano todo. É uma palmeira de estipe ereto, copa crispada e deflexa. A raiz é do tipo fasciculado, originando-se na zona rizogênica (base do estipe), tendo ramificações primária e secundária, cilíndrica e espessada (ALVES e DEMATTÊ, 1987). Possui folhas grandes, em número de 15 a 20, com 2,0 a 3,0 metros de comprimento, sendo moderadamente arqueadas, de coloração verde-escura brilhante, dispostas em espiral, com 100 a 150 folíolos, e com bainhas estreitas. Floresce e frutifica praticamente o ano todo. O seu fruto é produzido em cachos, com uma amêndoa branca oleaginosa comestível, apesar de a frutificação ser mais abundante entre os meses de agosto e fevereiro, produzindo cachos com 20 a 40 cm de comprimento e com 60 a 120 frutos, de coloração verde-amarelada. A multiplicação desta palmeira é por sementes, encontrada espontaneamente nas matas do Sudeste do Brasil, preferindo regiões de clima quente e solos bem drenados (LORENZI, 1996).

Entre seus produtos, destaca-se o palmito ou broto terminal, considerado por muitos como verdura de sabor amargo - o que de fato o é, quando comparado aos palmitos doces das espécies da Mata Atlântica, o palmito da guariroba é uma iguaria de largo aproveitamento culinário,

especialmente em algumas regiões de Minas Gerais e de Goiás (INFORME NEWS, 2007).

Nos campos, sua ocorrência é indício seguro de solo de excelente fertilidade. Sua amêndoa, que contém mais de 60% de matérias graxas, é utilizada na produção de doces caseiros e óleos comestíveis (INFORME NEWS, 2007).

1.2 DOENÇAS NA CULTURA DA GUARIROBA

Existem apenas dois relatos de doenças na cultura da guariroba: a antracnose e a mancha aquosa da guariroba. A antracnose foi relatada em guariroba por CHARCHAR et al. (2002), em Brasília-DF. Os sintomas caracterizam-se por lesões necróticas pequenas, circulares ou irregulares, de coloração marrom para preta, que geralmente coalescem quando os sintomas progridem. O agente causal é o fungo *Colletotrichum gloesporioides* (Penzig) Penzig & Sacc.

Recentemente, foi publicado o primeiro relato da ocorrência da mancha aquosa da guariroba por AGUIAR et al. (2007). Os autores descreveram, resumidamente, a sintomatologia da doença caracterizada pela formação de manchas, inicialmente encharcadas, oliváceas, que evoluíram para o secamento do tecido necrosado, sendo causada pelo fungo *Cladosporium chlorocephalum*.

1.3 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E PERÍODO DE MOLHAMENTO NA INFECÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA

A frequência e a intensidade da doença são significativamente influenciadas pelo grau de desvio de cada condição ambiental do ponto no qual o progresso da doença é máximo. A temperatura e a umidade na superfície da planta são os fatores ambientais que afetam mais intensamente o início e o progresso de doenças infecciosas em plantas. Os patógenos diferem em suas preferências por alta ou baixa temperatura, uma vez que a mesma afeta a germinação de esporos e o número de esporos formados. A umidade, na forma de água livre, por sua vez, é essencial para a germinação da maioria dos esporos fúngicos e para a penetração do tubo germinativo no hospedeiro, além de aumentar a suscetibilidade do hospedeiro a certos patógenos, influenciando a incidência e na severidade da doença (AGRIOS, 1997).

BERGAMIN FILHO (1996) descreve o fenômeno da utilização de períodos intermitentes de orvalho por fungos que necessitam de água livre na folha, seja para infectar o hospedeiro, seja para esporular, por um período maior do que o disponível em condições normais. Por exemplo, *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici*, em tomate, necessita de um período superior a 24 horas de água livre na folha para causar infecção. Como isso raramente ocorre em condições tropicais ou subtropicais, o fungo desenvolveu a habilidade de utilizar diversos períodos de orvalho, mesmo que interrompidos por intervalos secos, de muitas horas de duração.

Dados que explicam o desenvolvimento da epidemia no campo podem ser obtidos através do estudo dos parâmetros monocíclicos da doença em condições controladas. A influência da temperatura, da umidade e da luz no processo de infecção e colonização de patógenos foliares, em câmara de crescimento, permite o isolamento dos efeitos ambientais específicos. Estudos realizados em condições controladas indicaram que os fatores climáticos, tais como: a temperatura, a umidade e a luz, são os principais determinantes no processo de infecção e desenvolvimento das ferrugens nas plantas (MARTINS, 1999).

1.4 OBJETIVOS

- (i) Descrever a sintomatologia da ‘mancha aquosa’ em guariroba;
- (ii) Identificar o agente causal da ‘mancha aquosa’ da guariroba;
- (iii) Estudar a infecção do agente causal da ‘mancha aquosa’ da guariroba em outras espécies de palmitos: pupunheira, açai e juçara, e em híbridos de pepino tipo ‘japonês’ e tomate cv. Santa Clara;
- (iv) Avaliar a influência da temperatura e do período de molhamento foliar na infecção de *Cladosporium chlorocephalum* e *Cladosporium cucumerinum* no híbrido de pepino tipo ‘japonês’ Hokushin: período de incubação e período latente.

CAPÍTULO I

'MANCHA AQUOSA' DA GUARIROBA: ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO AGENTE CAUSAL

1. INTRODUÇÃO

A guariroba [*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.], família Arecaceae, sub-família Coccoideae, produz palmito com sabor amargo, tem grande importância econômica, notadamente na área de cerrado, sendo encontrada em Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Tocantins e Minas Gerais. É conhecida como gariroba, gueiroba, gueroba e coqueiro amargoso, e possui sabor amargo, característico de seu palmito (NASCENTE, 2000).

O Brasil é o maior produtor e exportador de palmito em conserva do mundo. Até a década passada, a exploração, na sua maioria, era resultante de uma atividade extrativista das reservas naturais, ainda existentes (BOVI, 1993). Ainda segundo a autora, o Brasil participa com 95% da exportação mundial de palmito, com receitas médias anuais de 30 milhões de dólares e com tendência de expansão constante. Além de o mercado interno de palmito em conserva ser estimado em, pelo menos, seis vezes maior do que o internacional (Brasil - 180 milhões de dólares), ainda assim o preço para comercialização tem sido idêntico nos mercados interno e externo.

Dentre os diversos problemas que são apresentados no cultivo da guariroba, aqueles relacionados à propagação constituem os de maior importância. Para produção de mudas, tem sido utilizados somente frutos. Estes apresentam inúmeros problemas, como a existência de praga destruidora do embrião e endosperma, a perda rápida do poder germinativo e a baixa percentagem de germinação. Ainda não existe domínio da propagação assexuada, por propagação *in vitro*. Isto se deve ao fato de um alto índice de oxidação no embrião, alta incidência de fungos no fruto semente, contaminação

durante a retirada do embrião, ausência de perfilhamento natural, dificuldade no enraizamento natural *in vitro*, falta de informes a respeito de meio de cultura adequado com relação à concentração de macro e microelementos, e também de reguladores de crescimento na propagação *in vitro* (LORENZI, 1996).

De acordo com ANDRADE (2007), para patógenos com uma grande diversidade fenotípica, com influência de fatores ambientais na estabilidade dos caracteres morfológicos e culturais, com existência de formas intermediárias, ausência de padronização de condições culturais empregadas nos diferentes estudos das espécies, diversas dificuldades são encontradas para a identificação. O autor cita, como exemplo, as espécies de *Colletotrichum*, que são tradicionalmente diferenciadas com base em caracteres morfológicos e culturais. Características como morfologia de conídios, presença de setas e do teleomorfo, coloração de colônia, produção de pigmentos e taxa de crescimento têm sido usadas para diferenciar espécies morfológicamente próximas, como *Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum*. Também cita que a diferenciação entre espécies, com base no círculo de hospedeiros ou hospedeiros de origem, também não é um critério confiável para espécies como *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, que infectam diferentes hospedeiras. É freqüente a ocorrência de mais de uma espécie de *Colletotrichum* associada a uma mesma hospedeira, e uma mesma espécie pode infectar múltiplas hospedeiras.

AGUIAR et al. (2007) relataram que no Estado do Paraná, observou-se a presença de mancha foliar em alta severidade em viveiros para produção de mudas de guariroba causada por patógeno pertencente ao gênero *Cladosporium*. Essas manchas iniciam-se como diminutas pontuações, evoluindo para pequenas manchas de até 2,0 mm de diâmetro, ambas com aspecto encharcado e formato arredondado. A partir desse ponto, as manchas tomam o formato estriado, paralelinérveas às nervuras, atingindo até 3,0 cm de comprimento e 0,5 cm de largura, com a necrose tornando-se de coloração marrom-escura e com marcante halo aquoso. Em manchas velhas, o tecido central rompe-se e toma a coloração palha e bordas marrom-escuras com abundante esporulação e destacado halo aquoso. A coalescência das manchas resultou em requeima foliar. Segundo ELLIS (1971), *Cladosporium* spp. é um patógeno de baixa especialização para espécies de hospedeiros.

De acordo com as dificuldades encontradas na identificação de determinados patógenos e a observação de sintomas de mancha foliar em alta severidade, na cultura da guariroba, em viveiros para produção de mudas, o presente trabalho objetivou caracterizar e identificar, a nível de espécie, um isolado de *Cladosporium* proveniente de folhas de guariroba com sintomas de 'mancha aquosa' e comprovar sua patogenicidade no hospedeiro de origem.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DE CULTURA PURA DO FUNGO ASSOCIADO À 'MANCHA AQUOSA'

Folhas de guariroba provenientes de viveiro para produção de mudas da Universidade Estadual de Maringá apresentaram-se com sintomas típicos de 'mancha aquosa', para a obtenção da cultura pura do fungo associado à 'mancha aquosa' adotou-se o seguinte procedimento: utilizou-se a técnica de isolamento direto (MENEZES e HANLIN, 1997). Os esporos presentes nas lesões do tecido necrosado foram transferidos com auxílio de alça de repicagem para placas de Petri contendo meio de cultura de batata-dextrose-ágar; 200 g de batata, 20 g de dextrose, 17g ágar, 1.000 mL de água destilada esterilizada (BDA). As placas de Petri foram mantidas na temperatura de 25 ± 2 °C, sob alternância de luminosidade fluorescente (fotoperíodo de 12 horas), durante cinco dias, quando houve formação de colônia micelial. Após este período, discos de meio de cultivo contendo micélio e esporos do patógeno de 7 mm de diâmetro foram retirados da extremidade da colônia formada e transferidos para tubos de ensaio contendo meio BDA e incubados nas mesmas condições anteriores.

2.2 IDENTIFICAÇÃO DO ISOLADO ASSOCIADO À 'MANCHA AQUOSA' OBTIDO EM CULTURA PURA

Para a identificação da espécie, ocorreu o preparo da microcultura. Blocos de 1x1 mm de meio BDA foram depositados sobre lâminas e, em seguida, com o auxílio de uma alça de repicagem, depositaram-se fragmentos de micélio do fungo presentes em placas de Petri. Os blocos de meio BDA contendo micélio do fungo foram cobertos por lamínulas. Essas lâminas foram colocadas em placas de Petri grandes, com uma camada de água no fundo.

Depois, as placas de Petri foram incubadas à temperatura de 25 ± 2 °C, sob alternância de luminosidade fluorescente (fotoperíodo de 12 horas), durante 24 horas.

Após o preparo da microcultura, retiraram-se as lamínulas que apresentaram estruturas do fungo em sua superfície, e estas foram depositadas sobre lâminas de microscopia que continham uma gota do corante lactofenol.

Observações de estruturas vegetativas e reprodutivas de colônias miceliais formadas foram realizadas ao microscópio óptico com aumento de 400 vezes, e consultas à literatura (ELLIS, 1971) foram utilizadas para a identificação da espécie.

O isolado está sendo preservado pelo método Castellani na coleção de fungos do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Maringá.

2.3 TESTE DE PATOGENICIDADE EM FOLHAS DE GUARIROBA

Folhas destacadas de guariroba foram desinfetadas com hipoclorito de sódio a 2%, por um minuto, em seguida lavadas com água destilada esterilizada e cortadas em fragmentos de 10 cm de comprimento. Depois, transferiram-se dois fragmentos para placas de Petri de 150 mm de diâmetro contendo papel absorvente, tipo 'germitest' umedecido com água destilada esterilizada. Na região mediana de cada fragmento, fez-se um ferimento com 10 mm de diâmetro na superfície superior com um conjunto de seis agulhas espaçadas, afixadas em rolha de cortiça. Um disco de meio de cultivo contendo micélio e esporos de 5 mm de diâmetro do fungo obtido em cultura pura foi depositado sobre cada ferimento. Após a inoculação, as placas de Petri foram mantidas sob regime de luz fluorescente, fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25 ± 2 °C. A avaliação foi realizada diariamente através da observação visual de aparecimento de lesão na superfície de inoculação, até 20 dias após a inoculação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 SINTOMATOLOGIA DA MANCHA AQUOSA

Os sintomas de 'mancha aquosa' apresentavam-se inicialmente nas folhas, na forma de diminutas pontuações, evoluindo para pequenas manchas de até 2 mm de diâmetro, ambas com aspecto encharcado e formato arredondado. Em seguida, as manchas evoluíam para um formato estriado, paralelinérveas às nervuras, atingindo até 3 cm de comprimento e 0,5 cm de largura, com a necrose tornando-se de coloração marrom-escura e com marcante halo aquoso. Nas manchas velhas, o tecido central rompia-se e adquiria a coloração palha e bordas marrom-escuras com abundante esporulação e destacado halo aquoso. A coalescência das manchas resultava em requeima foliar. Também em manchas velhas, era observada a presença de abundante esporulação.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO ISOLADO ASSOCIADO À MANCHA AQUOSA

O isolado de *Cladosporium chlorocephalum* apresentou, em meio BDA, a formação de abundante crescimento micelial, com coloração verde-olivácea levemente clara ou escura, hifas imersas e espalhadas no meio. Essas características estão de acordo com as descritas por ELLIS (1971), que relata que *Cladosporium chlorocephalum* apresenta colônias espalhadas, oliváceas a marrom-escuras sob substrato natural e verde-oliváceas em meio de cultura.

3.3 IDENTIFICAÇÃO DO ISOLADO ASSOCIADO À MANCHA AQUOSA

A classificação do fungo deu-se baseada nas características morfológicas e comparadas com chaves de identificação e literaturas específicas relatadas por ELLIS (1971).

Foram realizadas a visualização e a medição de 50 estruturas reprodutivas formadas por este isolado em microcultura. O isolado apresentou a formação de conídios, ramoconídios e conidióforos. Os conidióforos mediram em torno de 540 - 680 μ , tendo sua base medições que variaram de 14 - 19 μ , pouco pigmentados, com parede lisa ou pouco rugosa. Os ramoconídios mediram em torno de 15 - 27 μ de comprimento e 4 - 5 μ de largura. Os conídios apresentaram, em média, 6 - 8 x 3 - 5 μ (comprimento x largura), e alguns apresentaram formato elipsoidal a limoniforme, raramente subgloboso, de parede geralmente lisa, com pigmentação verde-oliva ou marrom-clara, formando longas cadeias.

ELLIS (1971) relata que os conídios *Cladosporium chlorocephalum* são oliváceos ou marrom-claros, lisos ou verrugosos, sem septo, e quando proximais ou intermediários, são elipsoidais ou limoniformes com 6 - 14 x 4 - 9 μ , e quando distais ou terminais, são esféricos com 3 - 5 x 7 μ . Em cultura jovem, os conídios apresentam de 0 - 2 septos, seu ramo-conídio é longo e mede em torno de 8 - 34 x 4 - 6 μ , suas ramificações apresentam conídios elipsoidais ou esféricos com 4 - 8 x 3,5 - 6 μ ou 3 - 6 μ de diâmetro e formados abundantemente.

Com base nas características estruturais observadas neste isolado e comparadas com as descritas por ELLIS (1971), a espécie fúngica foi identificada como *Cladosporium chlorocephalum*.

A identificação da espécie, com base nas dimensões dos conídios e conidióforos, foi dificultada pela sobreposição dos valores descritos por ELLIS (1971), pois a maioria das espécies de *Cladosporium* spp. descritas apresenta dimensões dentro da faixa de variação descrita para a espécie de *Cladosporium chlorocephalum*.

3.4 TESTE DE PATOGENICIDADE EM FOLHAS DE GUARIROBA

As avaliações foram realizadas diariamente até 20 dias após a inoculação. Nas folhas de guariroba, os primeiros sintomas apareceram seis dias após a inoculação. As manchas iniciaram-se como diminutas pontuações, evoluindo para pequenas manchas de até 2 mm de diâmetro, ambas com aspecto encharcado e formato arredondado. A partir desse ponto, as manchas tomam o formato estriado, paralelinérveas às nervuras, atingindo até 3 cm de comprimento e 0,5 cm de largura, com a necrose tornando-se de coloração marrom-escura e com marcante halo aquoso. Em manchas velhas, o tecido central rompe-se e toma a coloração palha e bordas marrom-escuras com abundante esporulação e destacado halo aquoso. A coalescência das manchas resulta em requeima foliar.

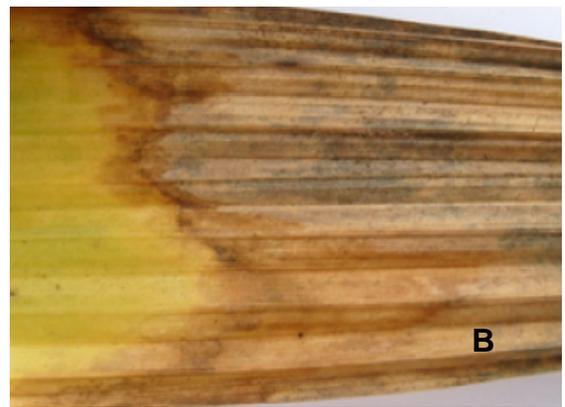


Figura 1 - Sintomas de *Cladosporium spp.* em folhas de guariroba.

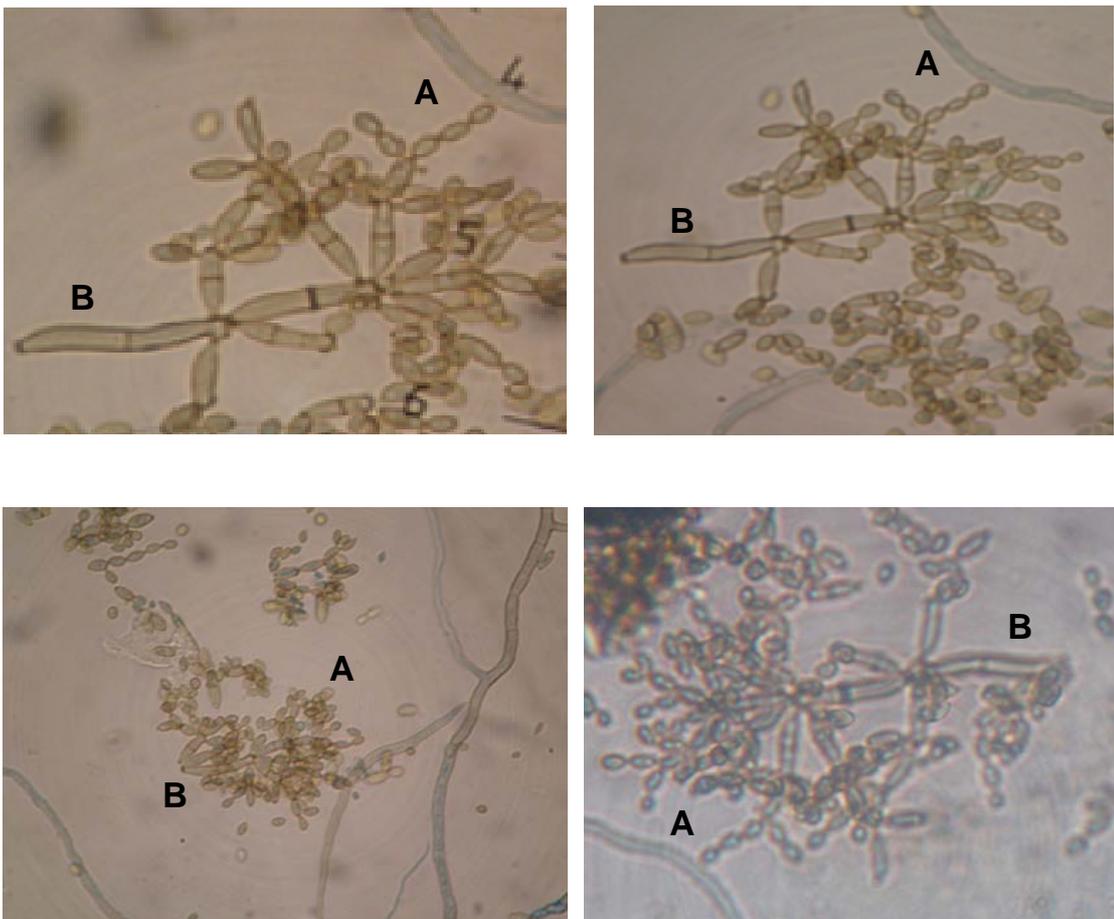


Figura 2 - Conídios (A) e conidióforo (B) de *Cladosporium chlorocephalum*.

4. CONCLUSÕES

De acordo com as características descritas por ELLIS (1971) e comparado-as com as observadas do isolado fúngico obtido de folhas de guariroba, a espécie foi identificada como *Cladosporium chlorocephalum*. O teste comprovou a patogenicidade de *C. chlorocephalum* como o agente causal da mancha aquosa da guariroba.

CAPÍTULO II

PATOGENICIDADE DE *Cladosporium chlorocephalum*, *C. cucumerinum* E *C. fulvum*

1. INTRODUÇÃO

A guariroba (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.) é uma palmeira nativa do cerrado, de grande importância econômica para a região. Dela extrai-se um palmito de sabor amargo muito apreciado. A comercialização é quase sempre *in natura*, sendo a industrialização ainda artesanal. O principal mercado localiza-se em Goiás, Tocantins, Mato Grosso do Sul, algumas regiões da Bahia e Minas Gerais, e no Distrito Federal. Esse mercado tem-se expandido para outras regiões (BITTENCOURT, 1995). Por outro lado, o cultivo dessa palmeira vem crescendo em alguns Estados, principalmente Goiás, com crescimento anual do número de produtores, de 53,2 % e de área plantada de cerca de 47,4 %, no período de 1995 a 1999. Em Goiás, a área plantada tem cerca de 4.500 ha e, em alguns municípios, a importância econômica da guariroba supera produtos tradicionais como arroz, milho e café (SANTOS, 2005).

O gênero *Cladosporium* é relatado por ELLIS (1971) como agente causal de algumas culturas de grande importância econômica, e *Cladosporium chlorocephalum* é encontrado infectando caules e folhas de peônias, observando-se sua ocorrência na Bélgica, França, Alemanha, Itália e Estados Unidos. Já *Cladosporium cucumerinum* é encontrado em folhas, caules e frutos de pepino (*Cucumis sativus*), causando a doença conhecida como sarna.

AGUIAR et al. (2007) relataram, pela primeira vez, que *Cladosporium chlorocephalum* foi observado causando danos na cultura da guariroba e sendo patogênico também à pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth var. *gasipaes* Henderson), onde os sintomas se caracterizaram pela formação de manchas,

inicialmente encharcadas, oliváceas, que evoluem para secamento do tecido necrosado.

De acordo com REGO (2000), as manchas foliares causadas por *C. cucumerinum* são comuns em plantas de melão (*Cucumis melon*), ocorrendo com menor severidade em abóbora, melancia, pepino e chuchu, podendo sobreviver nas sementes. O autor também relatou que *C. cucumerinum* é o agente causal da Sarna, importante doença das Cucurbitáceas, causando lesões nas folhas, pecíolos, caules e frutos de plantas de abóbora, abobrinha, melão e melancia, sendo mais severo em pepino. Nas folhas, o sintoma inicial aparece na forma de manchas encharcadas sem contornos definidos que se tornam verde-claras e evoluem, gradativamente, a verde-oliváceas e, depois, a cinza com um halo clorótico. Então, sobre as lesões, aparecem os sinais do patógeno na forma de uma massa de esporos de cor oliva, facilmente observável a olho nu.

MAFACIOLI (2006), baseado em SUTTON (1992), relata que o conceito de espécies do gênero *Colletotrichum* está baseado na morfologia da cultura, na dimensão e na forma dos conídios e apressórios, e no espectro de plantas hospedeiras. Para os autores, o emprego de tais critérios não é suficiente, muitas vezes, para a identificação de espécies de *Colletotrichum*, devido à grande variação na morfologia conidial e às características das colônias, tornando-se então necessária uma identificação ainda mais complexa, devido à ocorrência, algumas vezes, de mais de uma espécie de *Colletotrichum* em um mesmo hospedeiro, como, por exemplo, as antracnoses em frutos de manga e abacate. Que podem ser causadas, em ambos os hospedeiros, por *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* (FREEMAN et al., 1998). Por isso, tem-se buscado o emprego de características fenotípicas adicionais na caracterização e, principalmente, a análise da patogenicidade deste patógeno em outras espécies hospedeiras e uma eventual identificação de espécies e de populações de *Colletotrichum*.

Por isso, o presente trabalho objetivou avaliar a patogenicidade das espécies *Cladosporium chlorocephalum*, *C. cucumerinum* e *C. fulvum* em folhas destacadas de palmeiras (guariroba, pupunheira, açai – *Euterpes oleracea*, e juçara – *Euterpes edulis*), em plantas de híbridos de pepino tipo 'japonês' e plantas de tomateiro cv. Santa Clara (*Lycopersicon esculentum*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DOS ISOLADOS

Os trabalhos de isolamento e obtenção de cultura pura foram desenvolvidos no laboratório de fitopatologia da Universidade Estadual de Maringá. Para o isolamento, empregou-se a técnica de isolamento direto (MENEZES e HANLIN, 1997).

Para *Cladosporium chlorocephalum*, foram empregados quatro isolados, sendo dois isolados obtidos de folhas de plantas de guariroba e outros dois isolados obtidos de folhas de plantas de pupunheira. Para *C. cucumerinum*, foram empregados quatro isolados, dois isolados obtidos de folhas de plantas de híbrido de pepino tipo 'japonês' Natsubayashi e outros dois isolados de folhas de plantas de melão nobre Sunrise. Para *C. fulvum*, foram empregados dois isolados obtidos de plantas de tomateiro cv. Santa Clara. Todos os isolados foram obtidos de plantas apresentando sintomas da doença e sinais do patógeno nas lesões. Os conídios presentes nas lesões foram transferidos com auxílio de uma alça de repicagem para placas de Petri contendo meio de cultura com 200 g de batata, 20 g de dextrose, 17g de Agar e 1.000 mL de água destilada esterilizada (BDA). As placas de Petri foram mantidas à temperatura de 25 ± 2 °C, sob alternância de luminosidade fluorescente (fotoperíodo de 12 horas), durante cinco dias. Após a formação das colônias, estas foram transferidas para tubos de ensaio contendo o mesmo meio de cultivo.

Os isolados foram denominados como: os dois isolados de guariroba (*C. chlorocephalum* – isolados G1 e G2), os dois isolados de pupunheira (*C. chlorocephalum* – isolados P1 e P2), os dois isolados de melão (*C. cucumerinum* – isolados M1 e M2), os dois isolados de tomate (*C. fulvum* – isolados T1 e T2) e os dois isolados de híbridos de pepino tipo 'japonês' (*C. cucumerinum* – isolados R1 e R2) (Quadro 1).

Quadro 1– Hospedeiros de *Cladosporium chlorocephalum*, de *C. cucumerinum* e de *C. fulvum*.

HOSPEDEIRO	ESPÉCIE	ISOLADO	
GUARIROBA	<i>C. chlorocephalum</i>	G1	G2
PUPUNHEIRA	<i>C. chlorocephalum</i>	P1	P2
MELÃO	<i>C. cucumerinum</i>	M1	M2
PEPINO 'JAPONÊS'	<i>C. cucumerinum</i>	R1	R2
TOMATEIRO	<i>C. fulvum</i>	T1	T2

2.2 PREPARO DOS HOSPEDEIROS

As plantas de guariroba, pupunha, açaí e juçara foram produzidas a partir de sementes. Após a emergência em leito de semeadura, as plântulas foram transferidas para sacos plásticos, com capacidade de 1,0 L, contendo, como substrato, solo do local, húmus e areia (5:1:2 v/v), e mais adubação com a formulação NPK (20–5–20) na dosagem de 1,0 kg/m³ de substrato. Após as mudas atingirem seis meses de idade, foi retirada a folha mais expandida para o teste de patogenicidade com os isolados de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum*, originados de plantas de guariroba e de plantas do híbrido de pepino tipo 'japonês' Natsubayashi, respectivamente.

Sementes de quatro híbridos de pepino tipo 'japonês' (Hokushin, Natsubayashi, Tsuyataro e Toishaky), duas variedades de pepino caipira (Record e Safira) e de tomateiro cv. Santa Clara foram semeadas em bandejas de poliestireno contendo substrato comercial tipo 'Plant Max'. Após uma semana, as mudas foram transferidas para copos plásticos descartáveis com volume de 500 mL, com o mesmo substrato comercial utilizado nas bandejas até a formação da primeira folha definitiva para os híbridos de pepino tipo 'japonês' e das plantas de tomateiro, quando atingiram o estágio de quatro folhas definitivas formadas. Os híbridos de pepino tipo 'japonês' e as

variedades de pepino caipira foram utilizados no teste de patogenicidade para os isolados de *C. chlorocephalum*, *C. cucumerinum* e *C. fulvum*, e as plantas de tomateiro foram utilizadas no teste de patogenicidade apenas para o isolado de *C. chlorocephalum*.

2.3 PRODUÇÃO DO INÓCULO

2.3.1 DISCOS DE MEIO DE CULTIVO

Fragmentos de micélio de cultura pura presentes em tubo de ensaio de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum* foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultivo com 200 g de batata, 20 g de dextrose, 17g de ágar 1.000 mL de água destilada esterilizada (BDA). Em seguida, as placas de Petri foram mantidas a uma temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas com luz fluorescente, durante 15 dias. Em seguida, retiravam-se os discos de meio de cultivo contendo micélio e esporos dos isolados.

2.3.2 SUSPENSÃO DE ESPOROS

Nas placas de Preti que apresentavam crescimento micelial dos isolados de *C. chlorocephalum*, *C. cucumerinum* e de *C. fulvum*, adicionavam-se 10 mL de água destilada esterilizada em cada placa de Petri, fazendo-se, em seguida, a remoção da superfície da colônia com o auxílio de uma alça de Drigalsky. As suspensões eram filtradas em duas camadas de gaze para a separação dos esporos das hifas do patógeno, e a concentração de esporos, determinada através da câmara de Neubauer. Em seguida, todas as suspensões de esporos eram padronizadas para 1×10^5 esporos/mL e adicionado Tween 20 a 0,01%.

2.4 INOCULAÇÃO

2.4.1 DISCOS DE MEIO DE CULTIVO

A inoculação era realizada com a deposição de disco de meio de cultura contendo micélio e esporos de 0,5 cm de diâmetro na superfície superior das folhas das palmáceas (guariroba, pupunha, açai e juçara) e das plantas dos híbridos de pepino tipo 'japonês' (Hokushin, Natsubayashi, Tsuyataro e Toishaky), e as variedades de pepino caipira (Record e Safira).

2.4.2 SUSPENSÃO DE ESPOROS

A suspensão de esporos era aplicada por aspersão sobre a superfície superior da primeira folha definitiva das mudas de tomateiro cv. Santa Clara, num volume de 1,0 mL/folha.

2.5 INCUBAÇÃO

Após a inoculação, as folhas das palmáceas (guariroba, pupunha, açai e juçara), as plantas dos híbridos de pepino tipo 'japonês' (Hokushin, Natsubayashi, Tsuyataro e Toishaky), as variedades de pepino caipira (Record e Safira) e de tomateiro cv. Santa Clara, inoculadas, eram mantidas em câmara úmida com temperatura de 25 ± 2 °C, com período de molhamento foliar de 48 horas e regime de luz fluorescente, fotoperíodo de 12 horas. Em seguida, eram transferidas para câmara de crescimento com as mesmas condições de temperatura e luminosidade.

2.6 AJUSTE DA METODOLOGIA DE INOCULAÇÃO

Para a inoculação cruzada, foram utilizados os quatro híbridos de pepino tipo 'japonês' (Hokushin, Natsubayashi, Tsuyataro e Toishaky) e duas variedades de pepino caipira (Record e Safira) inoculadas com os isolados de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum*.

A obtenção das mudas ocorreu de acordo com o descrito no item 2.2 deste capítulo.

Empregaram-se dois métodos de inoculação: discos de meio de cultura contendo micélio e esporos e suspensão de esporos dos isolados. Para cada tipo de inóculo e para cada patógeno inocularam-se quatro plantas de cada hospedeiro. O preparo do disco de meio de cultivo e da suspensão de esporos dos isolados foi realizado de acordo com o item 2.3. A suspensão de esporos foi aplicada sobre a superfície superior da primeira folha definitiva das mudas, num volume de 1,0 mL/folha. O disco de meio de cultura contendo micélio e esporos de 0,5 cm de diâmetro foi depositado na superfície superior da primeira folha definitiva das mudas.

Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida por 48 horas, em regime de 12 horas com luz fluorescente, a uma temperatura de 25 ± 2 °C. Após as 48 horas, as plantas foram transferidas para sala de crescimento sob a mesma condição de temperatura e luminosidade.

A avaliação ocorreu diariamente até 20 dias após a inoculação, observando-se a formação de lesão nas folhas inoculadas.

2.7 PATOGENICIDADE

2.7.1 PATOGENICIDADE EM PALMÁCEAS

Folhas destacadas de guariroba, pupunha, açaí e juçara foram desinfetadas com hipoclorito de sódio a 2%, por um minuto, e lavadas com água destilada esterilizada e cortadas em fragmentos de 10 cm de comprimento. Em seguida, transferiram-se dois fragmentos para placas de Petri de 15 mm de diâmetro, contendo papel absorvente, tipo 'germitest', umedecido com água destilada esterilizada. Na face adaxial da metade de cada fragmento, fez-se um ferimento com 1,0 cm de diâmetro, empregando-se uma agulha. Um disco de meio de cultivo contendo micélio e esporos do patógeno foi depositado sobre cada ferimento.

Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida, por 48 horas, em regime de 12 horas com luz fluorescente, a uma temperatura de 25 ± 2 °C. Após as 48 horas, as plantas foram transferidas para sala de crescimento sob a mesma condição de temperatura e luminosidade.

A avaliação foi realizada diariamente através da observação visual para aparecimento de lesão na superfície de inoculação. Como teste-padrão, empregaram-se folhas com ferimentos, sem inoculação.

2.7.2 PATOGENICIDADE EM PEPINO TIPO JAPONÊS', PEPINO CAIPIRA E TOMATEIRO

Quatro híbridos de pepino tipo 'japonês' (Hokushin, Natsubayashi, Tsuyataro e Toishaky) e duas variedades de pepino caipira (Record e Safira) foram inoculados com discos de micélio de *C. chlorocephalum*, *C. cucumerinum* e *C. fulvum*. Utilizaram-se cinco plantas de cada híbrido e de cada variedade de pepino para cada patógeno. Nas folhas, depositaram-se discos de meio de cultivo contendo micélio e esporos de cada isolado. Nas plantas de tomateiro cv. Santa Clara, a inoculação foi realizada com o isolado

de *C. chlorocephalum* através da deposição da suspensão de esporos com concentração de 1×10^5 esporos/ml sobre a superfície superior das quatro folhas definitivas das mudas, num volume de 1,0 ml/folha. As plantas dos híbridos de pepino tipo 'japonês', as variedades de pepino caipira e as plantas de tomateiro inoculadas foram mantidas em câmara úmida com temperatura de 25 ± 2 °C, com período de molhamento foliar de 48 horas e regime de luz fluorescente, fotoperíodo de 12 horas. Em seguida, foram transferidas para câmara de crescimento com as mesmas condições de temperatura e luminosidade.

A avaliação da patogenicidade foi procedida como descrito no item 2.7.1.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 AJUSTE DA METODOLOGIA DE INOCULAÇÃO

Foi observado que, tanto na inoculação com discos de meio de cultivo contendo micélio e esporos dos patógenos, quanto na inoculação com suspensão de conídios, ocorreu o desenvolvimento das lesões com sintomas de doença.

Nos híbridos de pepino tipo 'japonês' (Hokushin, Natsubayashi, Tsuyataro e Toishaky), os isolados de *C. chlorocephalum* e de *C. cucumerinum* foram patogênicos. Já nas duas variedades de pepino caipira (Safira e Record), apenas o isolado de *C. cucumerinum* foi patogênico (Quadro 2).

Observou-se variação no diâmetro e na quantidade de lesões formadas, indicando níveis diferentes de agressividade entre os isolados e entre a suscetibilidade dos híbridos de pepino. O isolado de *C. chlorocephalum* apresentou-se mais agressivo para os híbridos de pepino 'japonês' Hokushin e Natsubayashi e pouco agressivo para os híbridos de pepino 'japonês' Tsuyataro e Toishaky. O isolado de *C. cucumerinum* apresentou-se muito agressivo para os híbridos de pepino tipo 'japonês' Hokushin e Natsubayashi, e moderadamente agressivo para os híbridos de pepino tipo 'japonês' Tsuyataro e Toishaky, e pouco agressivo para as variedades de pepino caipira Safira e Record (Quadro 2).

Quadro 2- Patogenicidade de isolados de *Cladosporium chlorocephalum* (G1- folhas de guariroba) e de *Cladosporium cucumerinum* (R1- folhas de pepino tipo 'japonês') em híbridos de pepino tipo 'japonês', aos oito dias após a inoculação, realizada sem fermento do tecido (+) patogênico, (-) não-patogênico.

HÍBRIDOS DE PEPINO TIPO 'JAPONÊS'	<i>C. chlorocephalum</i>	<i>C. cucumerinum</i>
	G1	R1
HOKUSHIN	+++	+++
NATSUBAYASHI	+++	+++
TSUYATARO	+	++
TOISHAKY	+	++
SAFIRA	-	+
RECORD	-	+

(+++) muito agressivo
 (++) moderadamente agressivo
 (+) pouco agressivo

O fato de o isolado de *C. chlorocephalum* (G1) ter-se mostrado menos agressivo para os diferentes híbridos de pepino tipo 'japonês' Hokushin e Natsubayashi, comparados com os híbridos Tsuyataro e Toishaky, pode ser explicado pela variação de suscetibilidade entre os híbridos de pepino tipo 'japonês', da origem do isolado em relação ao hospedeiro testado e da variabilidade genética entre isolados.

3.2 PATOGENICIDADE

3.2.1 PATOGENICIDADE EM PALMÁCEAS

Para as folhas das palmeiras guariroba e pupunheira, o isolado de *C. chlorocephalum* (G1) foi patogênico, mas o isolado de *C. cucumerinum* (R1) não foi patogênico. Já nas folhas de açaí e juçara, não se observou a patogenicidade dos isolados de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum* (Quadro 3). Nas folhas das palmeiras guariroba e pupunheira, ocorreu o aparecimento dos primeiros sintomas 10 dias após a inoculação, com início da lesão aquosa de cor esbranquiçada de contornos irregulares. Em seguida, observou-se o escurecimento do centro das lesões com amarelecimento nas bordas. No centro das lesões velhas, observaram-se estruturas de frutificação do patógeno (conídios, ramo-conídios e conidióforos). As folhas que foram severamente atacadas, apresentaram deformações no limbo foliar e secamento do tecido (Figuras 1). Nas folhas de açaí e juçara, não se observou o aparecimento de sintomas.

Quadro 3-Patogenicidade de isolados de *Cladosporium chlorocephalum* (G1- folhas de guariroba) e de *Cladosporium cucumerinum* (R1- folhas de pepino tipo 'japonês') em folha destacada de guariroba, pupunha, açaí e juçara, aos dez dias após a inoculação, realizada com ferimento do tecido (+) patogênico, (-) não-patogênico.

PALMÁCEAS	<i>C. chlorocephalum</i>		<i>C. cucumerinum</i>	
	G1		R1	
GUARIROBA	+		-	
PUPUNHA	+		-	
AÇAÍ	-		-	
JUÇARA	-		-	

3.2.2 PATOGENICIDADE EM PEPINO TIPO 'JAPONÊS', PEPINO CAIPIRA E TOMATEIRO

Nos híbridos de pepino tipo 'japonês', observou-se a patogenicidade no híbrido Hokushin dos isolados G1 e G2 (*Cladosporium chlorocephalum*- originados de folhas de guariroba), P1 e P2 (*C. chlorocephalum*- originados de folhas de pupunheira), M1 e M2 (*C. cucumerinum*- originados de folhas de melão), T1 e T2 (*C. fulvum*- originados de folhas de tomate), R1 e R2 (*C. cucumerinum*- originados de folhas de híbrido de pepino 'japonês' Natsubayashi); para o híbrido Tsuyataro, observou-se a patogenicidade dos isolados G1, G2, P2, T1, T2, R1 e R2, mas não se observou a patogenicidade dos isolados de P1, M1 e M2; para o híbrido Natsubayashi, observou-se a patogenicidade dos isolados G1, G2, M1, M2, T1, T2, R1 e R2, mas não se observou a patogenicidade dos isolados de P1 e P2 e para o híbrido Tosihaky, observou-se a patogenicidade dos isolados G1, G2, T1, T2, R1 e R2, mas não se observou a patogenicidade dos isolados de P1, P2, M1 e M2. Para as variedades Safira e Record de pepino caipira, foi observada a patogenicidade apenas dos isolados R1 e R2, mas não se observou a patogenicidade dos isolados de G1, G2, P1, P2, M1, M2, T1 e T2 (Quadro 4) (Figuras 2 e 3). A patogenicidade foi observada pelos sintomas característicos causados por *Cladosporium* sp. até oito dias após a inoculação. Inicialmente, surgiram pequenas manchas de coloração verde, encharcadas, de contornos irregulares, que se tornam necróticas; sobre as lesões, aparecem os sinais do patógeno na forma de uma massa de esporos de cor verde-oliva, facilmente observável. As folhas severamente atacadas apresentaram deformações no limbo foliar.

Quadro 4– Patogenicidade de *Cladosporium chlorocephalum* (isolados de plantas de guariroba e pupunheira), de *C. cucumerinum* (isolados de plantas de pepino e melão) e de *C. fulvum* (isolados de plantas de tomate) em híbridos de pepino tipo ‘japonês’ e variedades de pepino caipira, aos oito dias após a inoculação, realizada sem fermento do tecido (+) patogênico, (-) não-patogênico.

ISOLADO	HÍBRIDOS DE PEPINO TIPO ‘JAPONÊS’				VARIEDADES	
	HOKUSHIN	TSUYATARO	NATSUBAYASHI	TOISHAKY	SAFIRA	RECORD
G1	+	+	+	+	-	-
G2	+	+	+	+	-	-
P1	+	+	-	-	-	-
P2	+	-	-	-	-	-
M1	+	-	+	-	-	-
M2	+	-	+	-	-	-
T1	+	+	+	+	-	-
T2	+	+	+	+	-	-
R1	+	+	+	+	+	+
R2	+	+	+	+	+	+

G1 e G2- isolados de folhas de guariroba (*C. chlorocephalum*); **P1 e P2**- isolados de folhas de pupunheira (*C. chlorocephalum*); **M1 e M2**- isolados de folhas de melão (*C. cucumerinum*); **T1 e T2**- isolados de folhas de tomate (*C. fulvum*); **R1 e R2**- isolados de folhas de híbrido de pepino tipo ‘japonês’ Natsubayashi (*C. cucumerinum*)

A patogenicidade de *C. chlorocephalum* (G1) nas plantas de tomateiro cv. Santa Clara foi observada com o início do aparecimento dos sintomas característicos, dois dias após a inoculação. Inicialmente, surgiam pequenas pontuações de coloração verde-clara, encharcadas. Em seguida, as pontuações tornavam-se manchas com coloração verde-clara, encharcadas, com formatos irregulares, e sem a presença de halo. Após sete dias de inoculação, as manchas adquiriam uma coloração esbranquiçada, encharcadas, com 1,5 cm de comprimento x 0,5 cm de largura, com presença de sinais (conídios) do patógeno. Aos 15 dias, as manchas adquiriam a coloração de verde-escura a marron-clara com aspecto encharcado, com formatos irregulares, medindo 2,5 cm de comprimento x 0,5 cm de largura, sem

a presença de halo e com visualização de intensa massa de esporos do patógeno (Figura 4).

A variação de patogenicidade entre os isolados de *Lasiodiplodia theobromae*, relatada por PEREIRA (2006), pode ser explicada por fatores externos, como as diferenças edafoclimáticas das regiões de onde procederam os isolados, ou internos, em que uma espécie difere de outra e um isolado dentro da mesma espécie difere de outro devido à sua composição genética. Segundo LILLY & BARNETT (1972), entre fungos, a diversidade é uma norma, enquanto a uniformidade é uma exceção em relação ao comportamento entre espécies e isolados.

De modo geral, os microrganismos apresentam como característica grande variabilidade que pode refletir em sua morfologia, fisiologia ou patogenicidade. Variações na capacidade de utilização de diferentes substratos, de tolerância a determinados valores e faixas de temperatura e pH, de produção de toxinas ou outros metabólicos, que são manifestações de diferenças fisiológicas dentro de uma população, resultam, às vezes, em variações na patogenicidade de biótipos (PEREIRA et al.,2006).

4. CONCLUSÕES

O isolado de *Cladosporium chlorocephalum*, proveniente de folhas de guariroba, foi patogênico às palmeiras guariroba e pupunha, aos híbridos de pepino tipo 'japonês' (Hokushin, Natsubayashi, Tsuyataro e Toishaky) e ao tomateiro cv. Santa Clara, mas não foi patogênico ao açaí e à juçara, e às variedades de pepino caipira (Safira e Record).

O isolado de *C. cucumerinum*, proveniente de folhas de híbridos de pepino 'japonês' (Natsubayashi), não foi patogênico às palmeiras testadas (guariroba, pupunha, açaí e juçara), e foi patogênico a todos os híbridos de pepino tipo 'japonês' e às variedades de pepino caipira.

Em teste de inoculação cruzada de isolados originados de diferentes espécies hospedeiras, houve variações de patogenicidade entre isolados de *Cladosporium* de uma mesma espécie e pouca especialização das espécies de *Cladosporium* para espécies de hospedeiros.

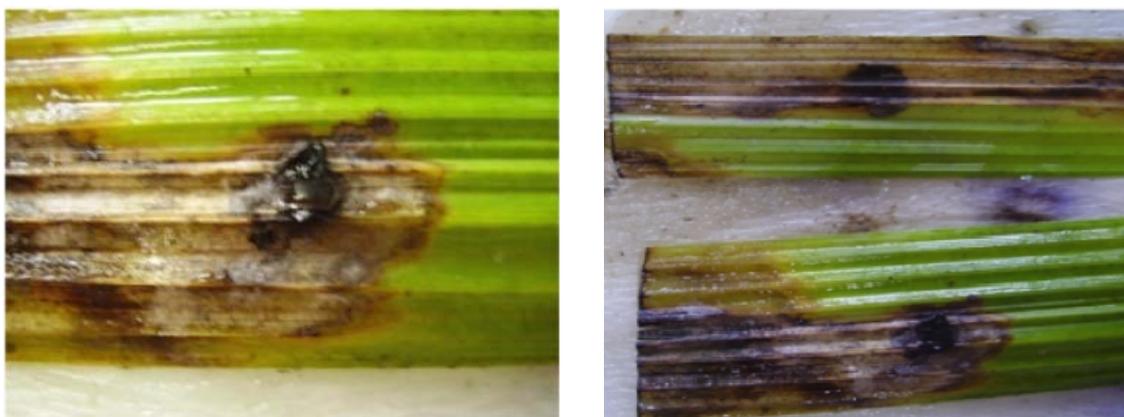


Figura 1– Sintomas de mancha aquosa em fragmentos de folhas de guariroba inoculados com *Cladosporium chlorocephalum*.



Figura 2– Sintomas em folhas de híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin inoculadas com *Cladosporium chlorocephalum* originados de folhas de guariroba, inoculação sem fermento.



Figura 3– Sintomas em folhas de híbrido de pepino tipo ‘japonês’ Natsubayashi inoculadas com *Cladosporium fulvum* originados de plantas de tomate, inoculação sem fermento.

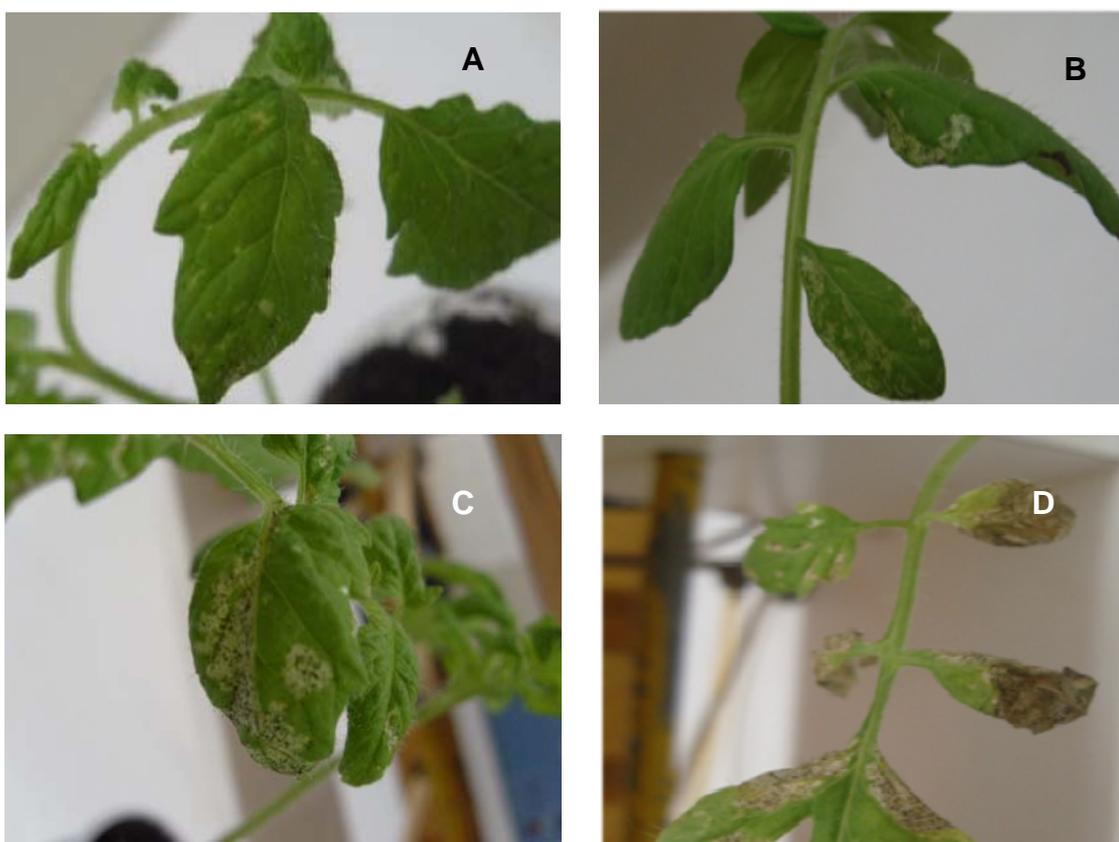


Figura 4– Sintomas em folhas de tomateiro cv. Santa Clara inoculados com *Cladosporium chlorocephalum* originados de plantas de guariroba, inoculação sem fermento; (A) dois dias após inoculação; (B) sete dias após inoculação; (C) 10 dias após inoculação; (D) 15 dias após inoculação.

CAPÍTULO III

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NA INFECÇÃO DE *Cladosporium chlorocephalum* E *Cladosporium cucumerinum* EM HÍBRIDO DE PEPINO TIPO 'JAPONÊS' HOKUSHIN

1. INTRODUÇÃO

Cladosporium chlorocephalum é um patógeno que foi descrito recentemente infectando plantas de guariroba em viveiros para produção de mudas e teste de patogenicidade. Foi constatada sua infecção a outras espécies de palmáceas e também em híbridos de pepino tipo 'japonês' (AGUIAR et al., 2007). Já *Cladosporium cucumerinum* tem sido descrito como patógeno secundário em cultivos de pepino, em condições de ambiente protegido (plasticultura). Este patógeno tem causado grandes danos, sendo um dos mais importantes para a cultura neste agrossistema (VIDA et al., 2004). Já REGO (1995) relata que *C. cucumerinum* é o agente causal da Sarna, importante doença das Cucurbitáceas, causando lesões nas folhas, pecíolos, caules e frutos de plantas de abóbora, abobrinha, melão e melancia, sendo mais severo em pepino.

As doenças de plantas resultam da interação de hospedeiros, patógenos e o ambiente (AGRIOS, 1997). O conhecimento da biologia do patógeno, das condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento das epidemias e da resistência varietal é muito importante para o estabelecimento de medidas de controle adequadas. Muitos fatores afetam o ciclo da doença, incluindo fatores ambientais (temperatura, molhamento foliar e luz), fatores relacionados ao hospedeiro (idade da planta, idade da folha, estágio de

desenvolvimento da planta) e fatores relacionados ao patógeno (idade dos urediniósporos, densidade dos esporos, idade da lesão) (ANGELLOTI, 2006).

ANGELLOTI (2006) também relata que, em hospedeiros suscetíveis, dentre os fatores do ambiente que mais influenciam na ocorrência de ferrugens, estão a temperatura, a umidade e a luz. A ocorrência de um determinado período de umidade, originada de orvalho, chuva ou água de irrigação, na forma de um filme de água sobre a superfície das plantas, é fundamental para a germinação dos esporos das ferrugens e para o processo de infecção. Da mesma forma, as ferrugens possuem uma faixa de temperatura ótima para a infecção e a esporulação.

Dados que explicam o desenvolvimento da epidemia no campo, podem ser obtidos através do estudo dos parâmetros monocíclicos da doença em condições controladas. A influência da temperatura, da umidade e da luz no processo de infecção e da colonização de patógenos foliares, em câmara de crescimento, permite o isolamento dos efeitos ambientais específicos (ROTEM, 1988).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da temperatura e do período de molhamento foliar na infecção de *Cladosporium chlorocephalum* e *Cladosporium cucumerinum* em plantas de híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin, em condições controladas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 PREPARO DAS MUDAS

Sementes de híbridos de pepino tipo 'japonês' Hokushin foram pré-germinadas em bandejas contendo papel absorvente tipo 'germitest' umedecido com água destilada esterilizada e transferidas para bandejas de poliestileno contendo substrato comercial tipo 'Plant Max'. Após uma semana de emergência, as mudas foram transplantadas para copos plásticos descartáveis com volume de 500 mL contendo o mesmo substrato. Quando as mudas apresentaram o início de formação da segunda folha definitiva procedeu-se a inoculação.

2.2 PRODUÇÃO DO INÓCULO E INOCULAÇÃO

Para produção de inóculo, utilizou-se o *Cladosporium cholorocephalum*, proveniente de plantas de guariroba (*Syagrus oleracea*), e um isolado de *Cladosporium cucumerinum*, obtido de plantas de híbrido de pepino tipo 'japonês' Natsubayahsi (*Cucumis sativus*). Fragmentos de micélio de cultura pura presentes em tubo de ensaio foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultivo com 200 g de batata, 20 g de dextrose, 17g de ágar e 1.000 mL de água destilada esterilizada (BDA). Em seguida, as placas de Petri foram mantidas a uma temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas com luz fluorescente, durante 15 dias. Para o preparo da suspensão de conídios de *C. cholorocephalum* e de *C. cucumerinum*. adicionaram-se 10 mL de água destilada esterilizada em cada placa de Petri, fazendo-se a remoção da superfície da colônia com o auxílio de uma alça de Drigalsky. A suspensão foi filtrada em duas camadas de gaze para a separação dos esporos das hifas do patógeno, e a concentração de conídios, determinada através da câmara de

Neubauer. Em seguida, todas as suspensões de esporos foram padronizadas para 1×10^5 esporos/mL e adicionado Tween 20 a 0,01%. A suspensão de esporos foi otimizada sobre a superfície superior da primeira folha definitiva das mudas, num volume de 1,0 mL/folha. Após a inoculação, as plantas foram expostas a diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar.

2.3 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO PERÍODO DE INCUBAÇÃO E PERÍODO LATENTE

Avaliou-se a influência da temperatura no período latente e no período de incubação de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum* em híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin.

Após a inoculação, as mudas foram mantidas em câmara de crescimento, por períodos de molhamento foliar de 0 – 4 – 8 e 12 horas.

Para cada período de molhamento, analisaram-se as temperaturas de 15 ± 2 °C; 20 ± 2 °C; 25 ± 2 °C e 30 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas, com luz fluorescente. A parcela experimental consistiu de quatro plantas por período de molhamento foliar para cada espécie de *Cladosporium*, em cada uma das temperaturas analisadas. Cada planta foi considerada uma unidade experimental. O delineamento experimental adotado foi do tipo blocos casualizados (DBC), com quatro repetições por tratamento.

2.4 INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NO PERÍODO DE INCUBAÇÃO E PERÍODO LATENTE

Após a inoculação das mudas, os períodos de molhamento foliar de 0 – 4 – 8 e 12 horas foram obtidos pelo envolvimento das mudas e dos copos de plástico descartáveis com saco plástico transparente. Para constatar o molhamento foliar constante durante os períodos de avaliação, as plantas foram monitoradas a cada quatro horas, observando-se a presença de água

livre na superfície da folha inoculada. Seguindo-se cada período de molhamento foliar, as plantas foram mantidas em câmara de crescimento sob a mesma temperatura anterior.

A parcela experimental consistiu de quatro plantas por período de molhamento foliar para cada isolado e para cada uma das temperaturas analisadas (15 ± 2 °C; 20 ± 2 °C; 25 ± 2 °C e 30 ± 2 °C). Cada planta foi considerada uma unidade experimental, para cada tratamento. O delineamento experimental adotado foi do tipo blocos casualizados (DBC), com quatro repetições por tratamento.

2.5 AVALIAÇÕES

As avaliações foram realizadas diariamente após a inoculação, durante 25 dias, utilizando a escala de notas (Quadro 1) adaptada de OLLIVEIRA (2005).

A influência da temperatura e do período de molhamento foliar foi analisada pela avaliação do período de incubação (período de tempo entre a inoculação e o aparecimento das primeiras lesões) e o período latente (período de tempo entre a inoculação e o início da produção de esporos). Realizaram-se amostragens de coleta de esporos das lesões mais desenvolvidas para a avaliação do início da esporulação. Utilizou-se fita adesiva transparente, que foi comprimida suavemente contra as superfícies adaxial e abaxial da folha inoculada. Em seguida, a fita adesiva foi depositada sobre lâminas de microscopia contendo uma gota do corante lactofenol. As lâminas foram observadas em microscópio óptico, com aumento de 400 vezes, para a visualização de conídios e/ou conidióforos de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum*.

Quadro 1- Escala de notas para a avaliação da severidade de *Cladosporium chlorocephalum* e *C. cucumerinum*.

Nota	Severidade (% de área foliar com sintoma)
0	Ausência de sintomas
1	<1
2	1 a 3
3	3,1 a 6
4	6,1 a 12
5	12,1 a 25
6	25,1 a 50
7	>50,1

Fonte: Adaptada de OLLIVEIRA, 2005

2.6 ANÁLISE DOS RESULTADOS

As análises dos resultados foram feitas empregando-se o programa Sistema de Análise Estatística e Genética (S.A.E.G.), desenvolvido pelo Centro de Processamento de Dados da Universidade Federal de Viçosa (EUCLIDES, 1983). As variáveis avaliadas foram submetidas à análise de variância. Os critérios para a escolha dos modelos de regressão foram o maior coeficiente de determinação (R^2) e a significância dos coeficientes de regressão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA INFECÇÃO DE *Cladosporium chlorocephalum* e *C. cucumerinum*

A temperatura influenciou no processo de infecção, como também na severidade de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum*, no híbrido de pepino 'japonês' Hokushin.

Na temperatura de 15° C, os primeiros sintomas foram observados 12 dias após a inoculação, para *C. cucumerinum*, e aos 22 dias, para *C. chlorocephalum*. Já nas temperaturas de 20° C, 25° C e 30° C, os sintomas iniciaram-se dois dias após a inoculação, tanto para *C. cucumerinum* quanto para *C. chlorocephalum*. Provavelmente, essa variação deve-se ao fato da origem dos isolados, onde que *C. chlorocephalum* foi obtido de folhas de plantas de guariroba e *C. cucumerinum* foi obtido de folhas de plantas de híbrido de pepino 'japonês' Natsubayashi.

Nas temperaturas de 15° C e 30° C, observaram-se os menores percentuais de severidade para *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*; já os maiores percentuais de severidade foram observados na temperatura de 25° C para os isolados. A temperatura de 15° C apresentou índices de severidade de 10 a 20 % (% área foliar com sintoma) para *C. cucumerinum* e de 0 a 10 % para *C. chlorocephalum*. Na temperatura de 20° C, o índice de severidade foi de 40 a 60 % para *C. cucumerinum* e de 35 a 45 % para *C. chlorocephalum*. Na temperatura de 25° C, o índice de severidade foi de 57 a 72 % para *C. cucumerinum* e de 55 a 70 % para *C. chlorocephalum*. Na temperatura de 30° C, o índice de severidade foi de 28 a 50 % para *C. cucumerinum* e de 30 a 60 % para *C. chlorocephalum*. Isto mostra que a melhor temperatura para a infecção e colonização, para *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum*, foi de 25° C. A temperatura de 30° C apresentou-se mais prejudicial para *C. chlorocephalum* do que para *C. cucumerinum*. Já nas temperaturas inferiores, até 20° C, observou-se efeito inverso para as duas espécies de patógenos (Figuras 1 e 2).

3.2 INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MOLHAMENTO NA INFECÇÃO DE *Cladosporium chlorocephalum* e *C. cucumerinum*

Houve infecção para os isolados de *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*. O ajuste matemático foi realizado para cada temperatura, cada período de molhamento foliar e para cada isolado analisado (*C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*).

No período de molhamento de zero hora, os primeiros sintomas foram observados 12 dias após a inoculação em *C. cucumerinum* e aos 14 dias para *C. chlorocephalum*, na temperatura de 15° C; já nas temperaturas de 20° C e 30° C, os primeiros sintomas foram observados dois dias após a inoculação em *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*, e na temperatura de 25° C, dois dias para *C. cucumerinum* e quatro dias em *C. chlorocephalum*. Para o período de molhamento de quatro horas, os primeiros sintomas foram observados 14 dias para *C. cucumerinum* e aos 22 dias para *C. chlorocephalum*, na temperatura de 15° C; já nas temperaturas de 20° C, 25° C e 30° C, os primeiros sintomas foram observados dois dias em *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*. Para o período de molhamento de oito horas, os primeiros sintomas foram observados 12 dias após a inoculação para *C. cucumerinum* e 14 dias para *C. chlorocephalum*, na temperatura de 15° C; já nas temperaturas de 20° C e 30° C, os primeiros sintomas foram observados dois dias em *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*, e na temperatura de 25° C, aos dois dias para *C. cucumerinum* e quatro dias para *C. chlorocephalum*. No período de molhamento de 12 horas, nas temperaturas de 15° C, 20° C, 25° C e 30° C, os primeiros sintomas foram observados dois dias após a inoculação em *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*.

Para o período de molhamento foliar de zero hora, observaram-se os menores índices de severidade apresentados por *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*. O menor índice de severidade observado foi de 2 % (% da área foliar com sintomas) para *C. chlorocephalum* e de 20 % para *C. cucumerinum*, na temperatura de 15° C. Para o período de molhamento foliar de quatro horas, foi observado o maior índice de severidade na temperatura de 25° C e 30° C para *C. chlorocephalum*, com 78 % e 60 %, respectivamente.

respectivamente, enquanto *C. cucumerinum* apresentou os menores índices de severidade para todas as temperaturas analisadas. Para o período de molhamento foliar de 8 horas, o *C. cucumerinum* apresentou um comportamento semelhante ao período de 4 horas de molhamento foliar descrito acima. No período de molhamento foliar de 12 horas, o *C. cucumerinum* apresentou os maiores índices de severidade em todas as temperaturas analisadas. A maior severidade observada foi na temperatura de 25° C, com um índice de 70 %, não sendo observado este comportamento para *C. chlorocephalum* (Figuras 1 e 2) (Apêndices- Figura 1A e Figura 2A). Os resultados indicaram a capacidade da doença em se desenvolver numa ampla faixa de temperatura, que variou de 15° C a 30° C.

A relação entre as temperaturas e os períodos de molhamento foliar para *C. cucumerinum* foi descrita pela equação quadrática, e *C. chlorocephalum* foi descrita pela equação cúbica. As equações são representadas da seguinte forma: para *C. cucumerinum*, no período de molhamento foliar de 0 horas: $Y = -273,499 + 29,1249X - 0,634998X^2$ ($R^2 = 0,55$); molhamento foliar de 4 horas: $Y = -205,012 + 20,3074X - 0,392498X^2$ ($R^2 = 0,97$); molhamento foliar de 8 horas: $Y = 158,937 + 16,9875X - 0,332499X^2$ ($R^2 = 0,55$), e para o molhamento foliar de 12 horas: $Y = -321,049 + 33,0049X - 0,694998X^2$ ($R^2 = 0,79$). Para *C. chlorocephalum*, no período de molhamento foliar de 0 horas: $Y = 459,018 - 89,1609X + 4,47720X^2 - 0,0755523X^3$ ($R^2 = 0,99$); molhamento foliar de 4 horas: $Y = 108,511 - 31,8776X + 2,29570X^2 - 0,0429364X^3$ ($R^2 = 0,99$); molhamento foliar de 8 horas: $Y = -18,2516 - 4,78563X + 0,663671X^2 - 0,0143135X^3$ ($R^2 = 0,99$), e para o molhamento foliar de 12 horas: $Y = 58,7081 - 23,8062X + 0,95149X^2 - 0,0396153X^3$ ($R^2 = 0,98$) onde Y = severidade e X = molhamento foliar (Quadro 2). BERGAMIN FILHO & AMORIM (1996) relatam que a variação da severidade, em função do período de molhamento foliar, normalmente é descrita por modelos não-lineares que assumem as premissas básicas de que a severidade aumenta com a duração do período de molhamento e tende a um limite superior quando o período de molhamento é prolongado.

De acordo com SILVA (2001), a umidade constitui-se num dos fatores mais importantes que influenciam no desenvolvimento das doenças das plantas. A umidade, medida em termos de quantidade e duração, é essencial

para que haja infecção pela maioria dos fungos e bactérias. Entre os fatores de ambiente que influenciam nas doenças de plantas, a umidade é, às vezes, o mais importante, seguido pela temperatura.

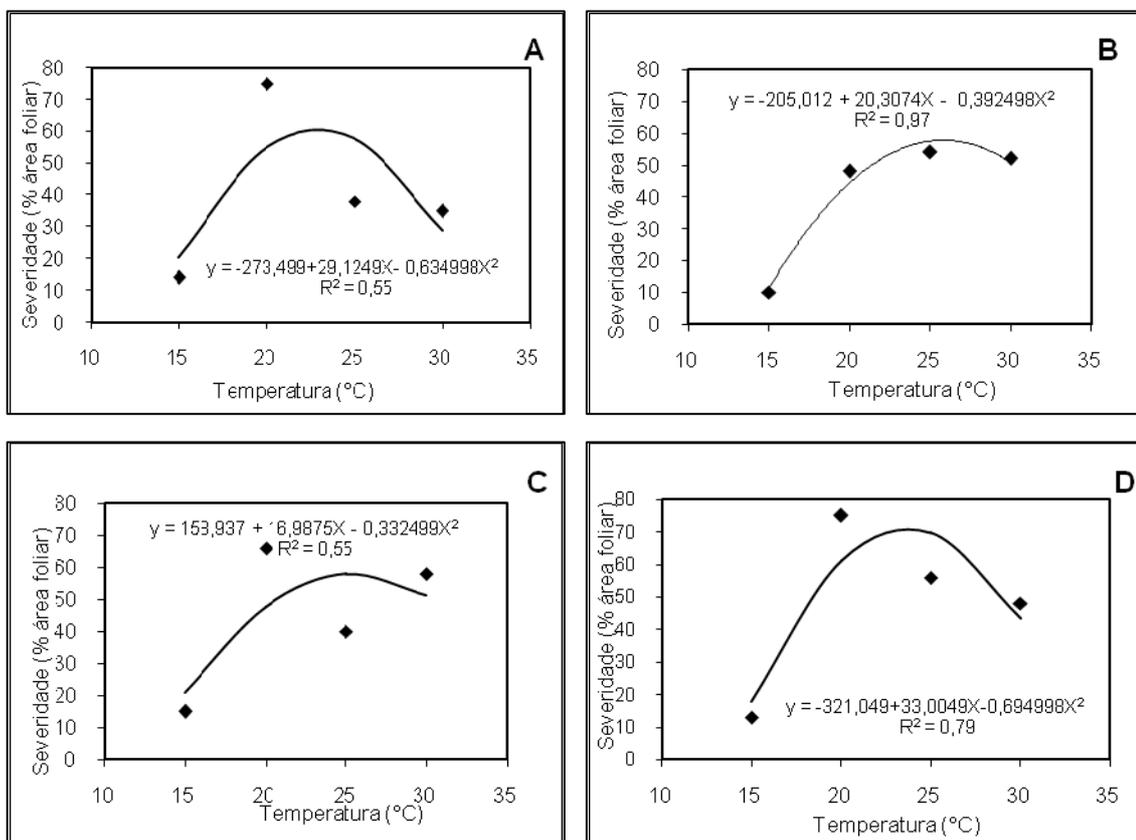


FIGURA 1- Efeito de diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar na severidade de de pepino tipoj ‘japonês’ *Cladosporium cucumerinum*, em híbrido Hokushin. **A-** período de molhamento foliar de 0 hora; **B-** período de molhamento foliar de 4 horas; **C-** período de molhamento foliar de 8 horas; **D-** período de molhamento foliar de 12 horas.

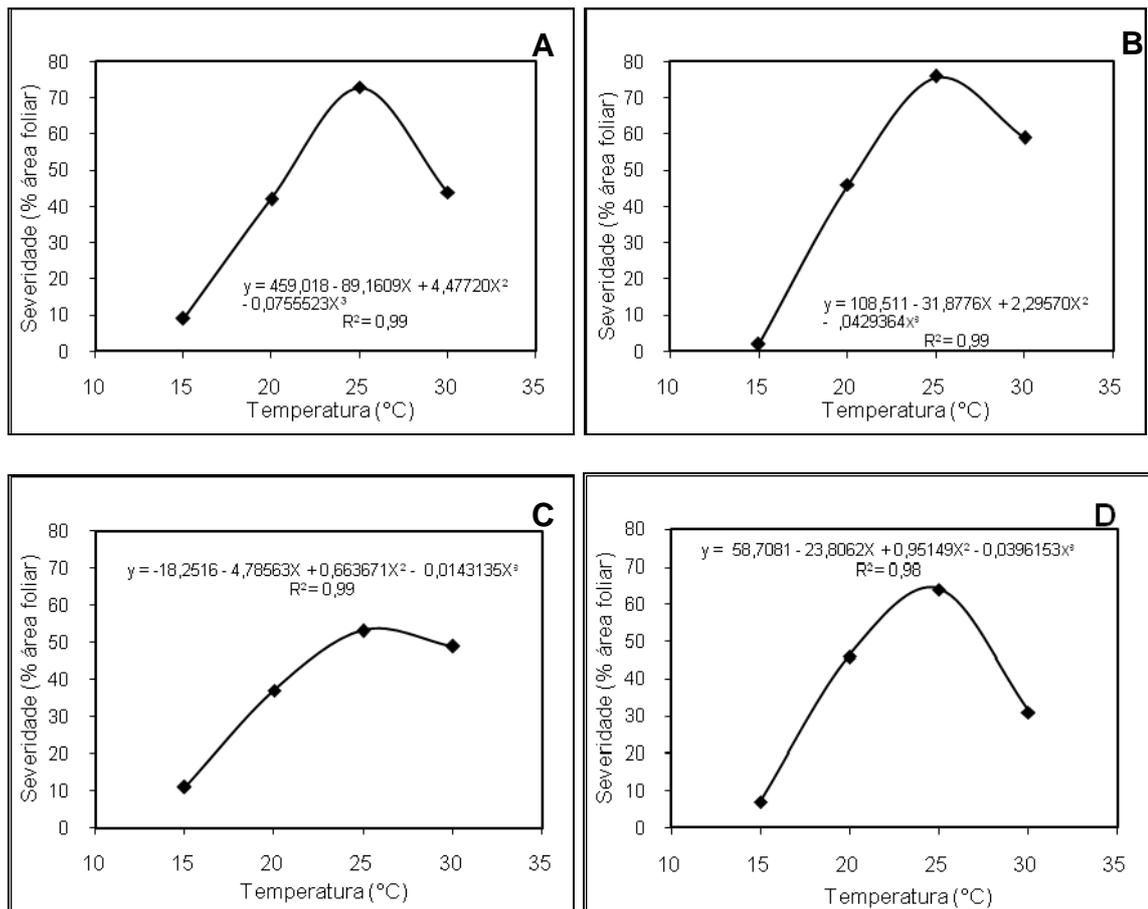


FIGURA 2- Efeito de diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar na severidade de *Cladosporium chlorocephalum* em híbrido de pepino tipo ‘japonês’ Hokushin. **A-** período de molhamento foliar de 0 hora; **B-** período de molhamento foliar de 4 horas; **C-** período de molhamento foliar de 8 horas; **D-** período de molhamento foliar de 12 horas.

Quadro 2- Equações de regressão da relação de diferentes temperaturas e diferentes períodos de molhamento foliar para *Cladosporium cucumerinum* e *C. chlorocephalum*.

PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR	<i>C. cucumerinum</i>	<i>C. chlorocephalum</i>
Nº HORAS		
0	$Y = -273,499 + 29,1249X - 0,634998X^2$ ($R^2 = 0,55$)	$Y = 459,018 - 89,1609X + 4,47720X^2 - 0,0755523X^3$ ($R^2 = 0,99$)
4	$Y = -205,012 + 20,3074X - 0,392498X^2$ ($R^2 = 0,97$)	$Y = 108,511 - 31,8776X + 2,29570X^2 - 0,0429364X^3$ ($R^2 = 0,99$)
8	$Y = 158,937 + 16,9875X - 0,332499X^2$ ($R^2 = 0,55$)	$Y = -18,2516 - 4,78563X + 0,663671X^2 - 0,0143135X^3$ ($R^2 = 0,99$)
12	$Y = -321,049 + 33,0049X - 0,694998X^2$ ($R^2 = 0,79$)	$Y = 58,7081 - 23,8062X + 0,95149X^2 - 0,0396153X^3$ ($R^2 = 0,98$)

Y = Severidade e X= Temperatura

3.3 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NA ESPORULAÇÃO DE *Cladosporium chlorocephalum* e *C. cucumerinum* EM PLANTAS DE HÍBRIDO DE PEPINO TIPO 'JAPONÊS' HOKUSHIN

A esporulação de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum*, em plantas de pepino inoculadas, foi observada na temperatura de 25° C, mas não foi observada nas temperaturas de 15° C, 20° C e 30 ° C. Na temperatura de 25° C, para o período de molhamento foliar de zero hora, o início da esporulação foi observada aos 21 dias após a inoculação em *C. cucumerinum*, e aos 22 dias para *C. chlorocephalum*. No período de molhamento foliar de quatro horas, o início da esporulação foi observada aos 12 dias após a inoculação para *C. cucumerinum*, e aos 17 dias para *C. chlorocephalum*. No período de molhamento foliar de oito horas, o início da esporulação foi observada aos 21 dias após a inoculação para *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*, e no período de molhamento foliar de 12 horas, o início da esporulação foi observada aos 14 dias após a inoculação para *C. cucumerinum*, e aos 19 dias para *C. chlorocephalum* (Quadros 3 e 4) (Figuras 3 e 4).

Para patógenos que necessitam de água livre na superfície do hospedeiro para iniciar o processo de infeccioso, freqüentemente, existe relação direta entre o tempo de molhamento e o sucesso da infecção. Segundo os autores, sob água livre e temperatura de 23 ° C, *D. bryoniae* alcança o primeiro estágio de penetração em pepino, no máximo, até uma hora (VIDA et al.,2004).

Quadro 3- Esporulação de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum* em híbrido de pepino 'japonês' Hokushin, em diferentes temperaturas.

TEMPERATURA	DIAS APÓS INOCULAÇÃO							
	0-5		10-15		15-20		20-25	
	R ₁	G ₁	R ₁	G ₁	R ₁	G ₁	R ₁	G ₁
°C								
15	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	+	-	+	+	+	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-

R₁- *Cladosporium cucumerinum* e G₁- *Cladosporium chlorocephalum*;
 (+) presença de esporos, (-) ausência de esporos

Quadro 4: Esporulação de *C. chlorocephalum* e *C. cucumerinum* em híbrido de pepino 'japonês' Hokushin, em diferentes períodos de molhamento foliar.

PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR	DIAS APÓS INOCULAÇÃO *								
	0-5		10-15		15-20		20-25		
	Nº HORAS	R ₁	G ₁						
0	-	-	-	-	-	-	-	+	+
4	-	-	+	-	-	+	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	+	+
12	-	-	-	-	+	+	-	-	-

R₁- *Cladosporium cucumerinum* e G₁- *Cladosporium chlorocephalum*;
(+) presença de esporos, (-) ausência de esporos, * Temperatura de 25°C

4. CONCLUSÕES

A temperatura onde se observou o menor período de incubação foi de 25° C para *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*.

O período de molhamento foliar onde se observou menor período de incubação foi o de 12 horas para *C. cucumerinum* e quatro horas *C. chlorocephalum*.

Somente na temperatura de 25° C observou-se a produção de esporos.

Houve efeito do período de molhamento foliar no período latente: no período de zero hora de molhamento foliar, o início de produção de esporos foi observado aos 21 dias para *C. cucumerinum* e 22 dias para *C. chlorocephalum*, após a inoculação.

No período de molhamento foliar de quatro horas, o início da esporulação foi observado aos 12 dias após a inoculação para *C. cucumerinum*, e aos 17 dias para *C. chlorocephalum*.

No período de molhamento foliar de oito horas, o início da esporulação foi observado aos 21 dias após a inoculação para *C. cucumerinum* e *C. chlorocephalum*.

No período de molhamento foliar de 12 horas, o início da esporulação foi observado aos 14 dias após a inoculação para *C. cucumerinum*, e aos 19 dias para *C. chlorocephalum*.

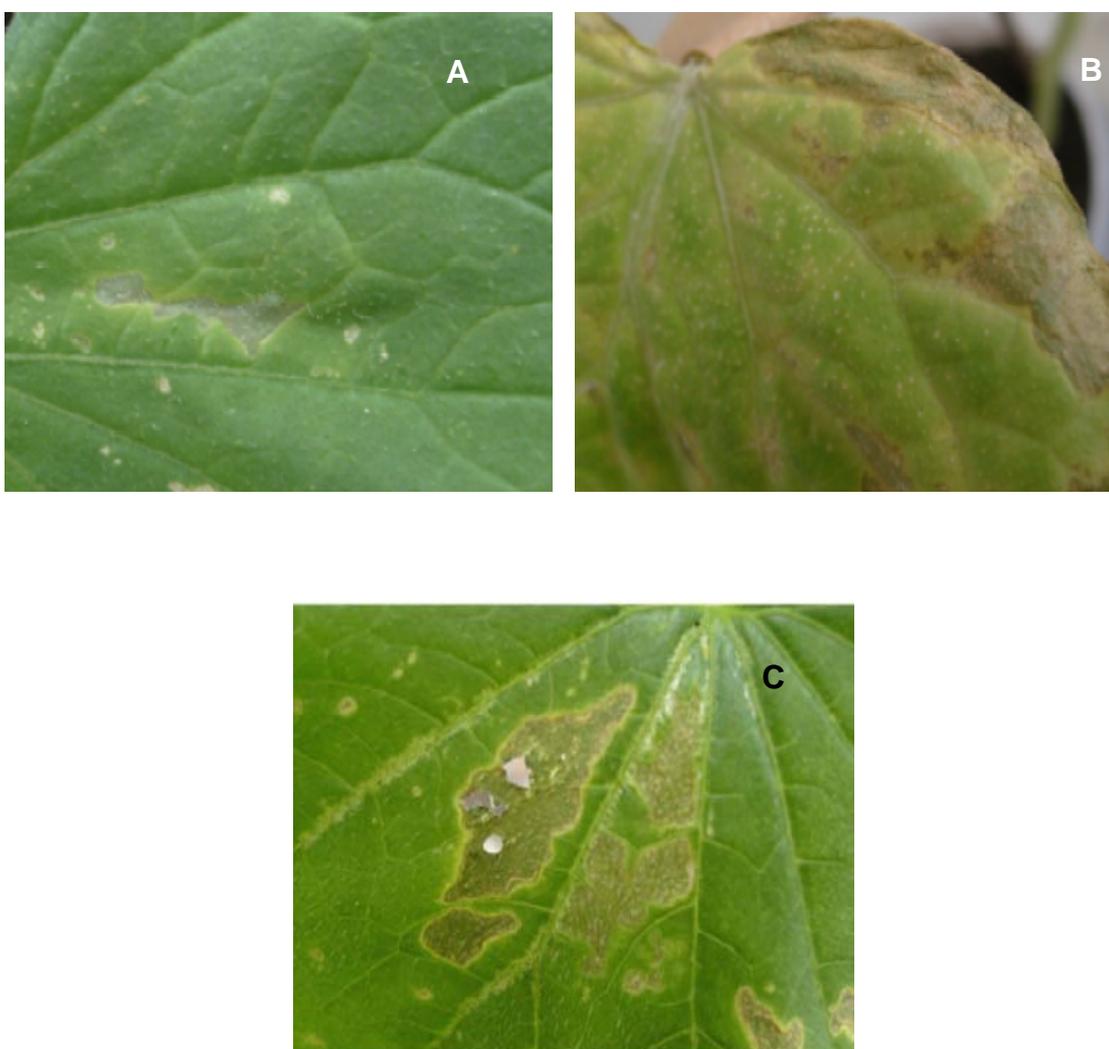


FIGURA 3- Sintomas em folhas de híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin inoculadas com *Cladosporium cucumerinum* e conídios de *C. cucumerinum* observados em microscópio óptico. **A** - referentes ao período de molhamento foliar de 4 horas; **B** - ao período de molhamento foliar de 8 horas; **C** - ao período de molhamento foliar de 12 horas.

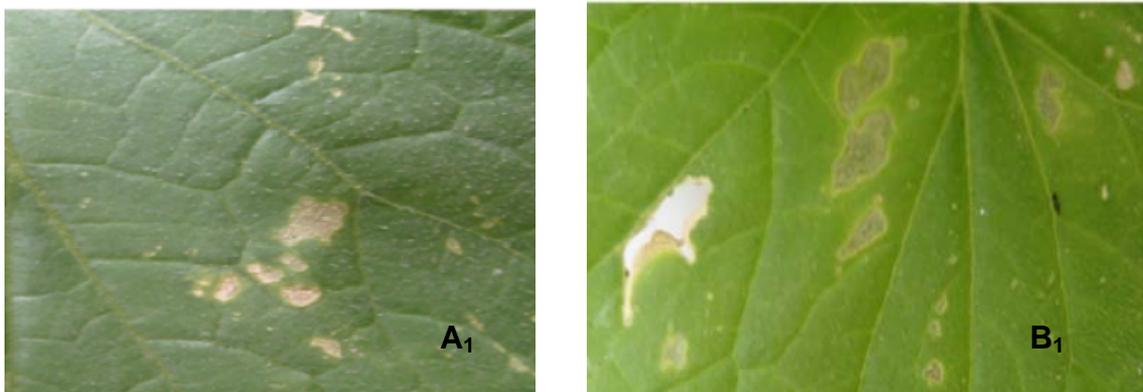


FIGURA 4- Sintomas em folhas de híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin inoculadas com *Cladosporium chlorocephalum* e conídios de *C. chlorocephalum* observados em microscópio óptico. **A₁** - referentes ao período de molhamento foliar de 4 horas; **B₁** - ao período de molhamento foliar de 12 horas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 4th ed. San Diego. Academic Press. 1997.
- AGUIAR, J. L. P. de; ALMEIDA, S. P. de; PEREIRA, G. Avaliação econômica de um sistema de produção de gueroba (*Syagrus oleracea* Becc.) em Aragoiânia, GO. IN: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ECOSISTEMAS FLORESTAIS, 4., 1996 Belo Horizonte, MG. **Forest**: 96: resumos. Sociedade Brasileira para a Valorização do Meio Ambiente, 1996. p.333-334.
- AGUIAR, R.L.; VIDA, J.B.; TESSMANN, D.J.; FIQUEREDO, A.S. Patogenicidade de *Cladosporium chlorocephalum* em palmito guariroba, pupunheira, açazeiro e em híbridos de pepino 'japonês'. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32; p. 827, 2007.
- ALVES, M.R.P.; DEMATTÊ, M.E.S.P. **Palmeiras**: Características botânicas e evolução. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 129p.
- ANDRADE, E.M.; UESUGI, C.H.; UENO, B.; FERREIRA, M.A.S.V. Caracterização morfo-cultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 21-31, 2007.
- ANGELOTTI, F. **Epidemiologia da ferrugem (*Phakopsora euvitis*) da videira**. Maringá, 2006. Tese (Doutorado em Fitopatologia) Universidade Estadual de Maringá.
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo. Ed. Agronômica Ceres. 1996.
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIN, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996. 299p.
- BITTENCOURT, E. A. A cultura é lucrativa. **Jornal de Brasília**, Brasília, 23 ago. 1995. Suplemento do Campo, p. 8-9.
- BOVI, M.L.A. **Híbridos de palmito**. In: ENCONTRO SOBRE PRODUÇÃO DE PALMITO, 1993, Anais. Piracicaba: CALQ, p. 39-48, 1993.
- BOVI, M.L.A. **Palmito de pupunha**: informações básicas para o cultivo. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 1998. 50 p. (IAC. Boletim Técnico, 173).

BOVI, M.L.A. O agronegócio palmito de pupunha. Informações Técnicas, **O Agrônomo**, v. 52; n.1; p. 10-12, 2000.

CARNEIRO, C. E. A.; ROLIM, H. V. M.; FERNANDES, K. F. Procedimento eficiente na inibição do escurecimento de guariroba (*Syagrus oleracea*, Becc) durante processamento e armazenamento. **Acta Scientiarum**. Agronomy Maringá, v. 25, n. 2, p. 253-258, 2003.

CHARHAR, M. J.; ANJOS, J. R. N.; AKIMOTO, A. K. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on guerocha in Brazil. **Plant Disease**, v. 87, p. 72. 2002.

DINIZ, J.H.; SÁ, L.F.de. **A Cultura da guariroba**. Goiânia: EMATER-GO, 1995. 16p. (EMATER. Boletim Técnico, 003).

ELLIS, M.B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Wallingford: CAB Internacional, 1971. 608p.

EUCLIDES, R. F. **Sistema para Análise Estatística e Genética**. Viçosa, UFV, 53, 1983.

FERNANDES, H.K.B. Geographic distribution of Palms. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 360, p. 63-69, 1994.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, v. 82, p. 596-605, 1998.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em 03-12-2007.

<<http://www.informenews.com/new/layoutMATERIA.php?idCATEGORIA=13&idMATERIA=443>>. Acessado em 12-11-2007.

LILLY, V.G. & BARNETT, H.L. **Physiology of the fungi**. New Graw-Hill.1951.

LORENZI, H. **Palmeiras no Brasil: exóticas e nativas**. Nova Odessa: Plantarum, 1996. 303p.

MAFACIOLI, R. **Caracterização Fenotípica e Molecular de Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos à pupunheira e outros hospedeiros**. Maringá, 2006. Tese (Doutorado em Fitopatologia) Universidade Estadual de Maringá.

MARTINS, M.C.; AMORIM, L. Efeito do período de molhamento foliar em componentes monocíclicos da ferrugem do pessegueiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 552-555, 1999.

MENEZES, M.; SILVA-HANLIN, D.M.W. Guia **Prático para Fungos Fitopatogênicos**. Recife, UFRPE, Imprensa Universitária, 106p, 1997.

NASCENTE, A. S.; PEIXOTO, N.; SANTOS, C. W. F. Peso de sementes e emergência de plântulas de guariroba (*Syagrus oleracea* Becc). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 3; n. 2; p. 77-79, jul./dez. 2000.

NOBLICK, L.R.; FALLBROOK, J. **The Palm Syagrus**, n. 126, p. 12-45, 1996.

OLIVEIRA, R.R. **CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, FISIOLÓGICA E PATOGENICA DE ISOLADOS DE *Corynespora cassicola* (BERK. & CURT.)**. Maringá, 2005. Tese (Mestrado em Fitopatologia) Universidade Estadual de Maringá.

PEREIRA, A.L.; SILVA, G.S.; RIBEIRO, V.Q. Caracterização Fisiológica, Cultural e Patogênica de Diferentes Isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31; p. 572-578, 2006.

REGO, A.M. Doenças causadas por fungos em Cucurbitáceas. **Informe Agropecuário**, n. 17; p. 48-54, 1995.

REGO, A.M.; CARRIJO, I.V. **Doenças das cucurbitáceas**. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; COSTA, H. (Eds.) Controle de doenças de plantas: hortaliças. v. 2. Visconde do Rio Branco: Suprema gráfica e editora, 2000. cap. 16, p. 535-597.

ROTEM, J. Techniques of controlled-condition experiments. In: KRANZ, J. ROTEM, J. **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Berlin: Springer-Verlag, p.19-32, 1988.

SANTOS, A.F.; TESSMANN, D.J.; SILVA, A.J.C.; VIDA, J.B.; MAFACIOLI, R. **Doenças em palmeiras para palmito**. II Seminário de atualidades em proteção florestal. Blumenau – SC, 2005.

SILVA, S.R.; RIOS, G.P.; SILVA, S.C. Influência da resistência e do período de molhamento na infecção e desenvolvimento de lesões de ferrugem no feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26; p. 726-731, 2001.

SUTTON, B.C. **The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum***. In: BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*, CAB International, p.1-26, 1992.

VIDA, J.B.; ZAMBOLIM, L., TESSMANN; D.J., BRANDÃO FILHO, J.U.T.; VERZIGNASSI, J.R.; CAIXETA, M.P. Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29; p. 355-372, 2004.

APÊNDICES

APÊNDICES

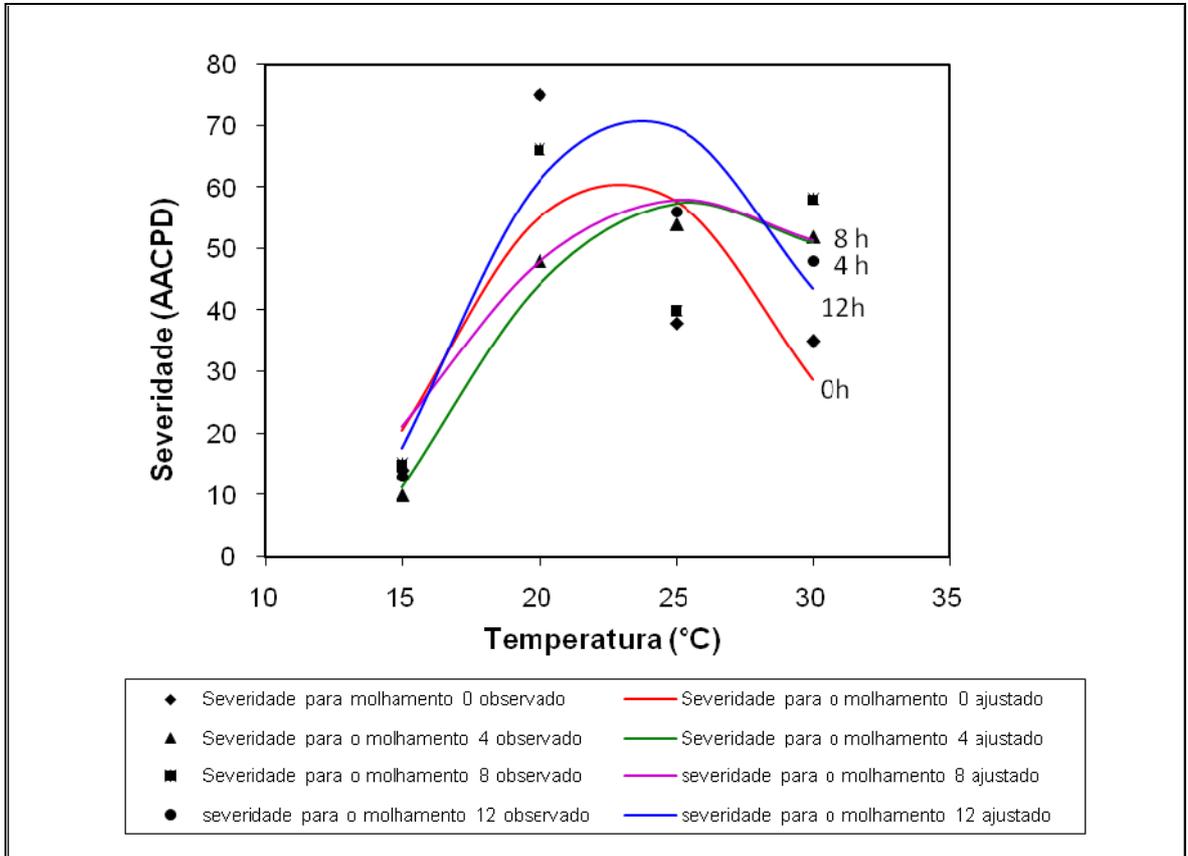


Figura 1A- Efeito de diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar (0 – 4 – 8 e 12 horas) na severidade de *Cladosporium cucumerinum* em híbrido de pepino tipo 'japonês' Hokushin.

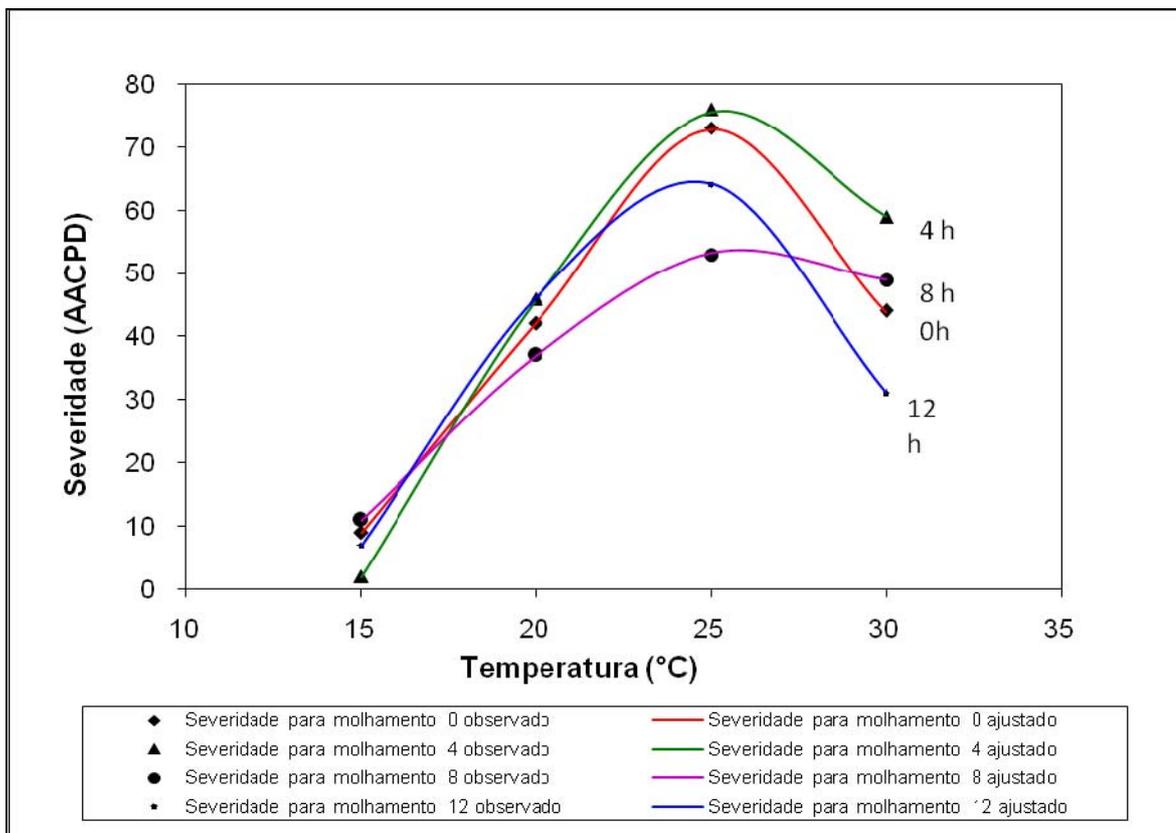


Figura 2A- Efeito de diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar (0 – 4 – 8 e 12 horas) na severidade de *Cladosporium chlorocephalum* em híbrido de pepino tipo ‘japonês’ Hokushin.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)