

Ocorrência de *Thekopsora minima* causando ferrugem em pomares de mirtilo em Santa Catarina

Leonardo Araujo¹, Felipe Augusto Moretti Ferreira Pinto¹, Camila Cristina Lage de Andrade², Larissa Bitencourt Gomes³, Bianca Ramos Falkenbach³ e Valmir Duarte²

Resumo – A possível ocorrência de *Thekopsora minima* causando ferrugem em mirtilo foi observada em três pomares em Santa Catarina. Observações morfológicas e moleculares, bem como teste de patogenicidade, foram consistentes em mostrar que *T. minima* é o agente causal da ferrugem nos pomares de mirtilo. Diante da confirmação de *T. minima* no mirtilo, fruticultores terão um grande desafio para manejar a ferrugem nos pomares catarinenses devido às condições ambientais adequadas à doença e a predominância de cultivares suscetíveis ao patógeno.

Termos para indexação: *Vaccinium* sp.; Controle químico; Doenças mirtilo; Highbush; Rabbiteye.

Occurrence of *Thekopsora minima* causing rust in blueberry orchards in Santa Catarina

Abstract – The possible occurrence of *Thekopsora minima* causing rust on blueberry plants was observed in three orchards in Santa Catarina. Morphological and molecular observations, as well as pathogenicity tests were consistent in showing that *T. minima* is the causal agent of rust in blueberry orchards. In view of the confirmation of *T. minima* in the blueberry, fruit growers will have a great challenge to manage the rust in Santa Catarina orchards, due to the appropriate environmental conditions for the disease and the predominance of cultivars susceptible to the pathogen.

Index terms: *Vaccinium* sp., Chemical control; Blueberry diseases; Highbush; Rabbiteye.

O cultivo comercial do mirtilo (*Vaccinium* sp.) está em franca expansão nos países da América do Sul devido à possibilidade de exportação para os Estados Unidos e Canadá. Além disso, o mirtilo apresenta outras vantagens, tais como: frutos com diversas propriedades funcionais, possibilidades de industrialização e rusticidade de manejo das plantas (ANTUNES & RASEIRA, 2006; OLIVEIRA, 2011). No entanto, entre os fatores que podem afetar a lucratividade da cultura (perdas de até 30%), destacam-se as doenças foliares que aumentam o custo de produção devido aos constantes tratamentos fitossanitários, a redução da taxa de fotossíntese e a desfolha precoce com consequente perda de flores e produtividade. Entre as doenças foliares destaca-se a ferrugem, causada por *Thekopsora minima* (Arthur) Syd. & P. Syd. Plantas sintomáticas apresentam

pequenas manchas escuras, vermelhas e arroxeadas com um halo amarelo no lado adaxial da folha. No lado abaxial das folhas são visíveis pústulas amarelo-alaranjadas contendo os urediniosporos do fungo. Em estágios mais avançados as lesões coalescem causando o amarelimento da folha com consequente desfolha (SCHERM & KREWER, 2008; SIMPSON et al., 2017). Apesar de a ferrugem estar amplamente disseminada entre os principais produtores de mirtilo no mundo, somente nos anos de 2019 e 2020 o fungo *T. minima* foi reportado no mirtilo na América do Sul (PAZDIORA et al., 2019; HUARHUA et al., 2020). No entanto, em Santa Catarina, no ano de 2020, foram observados vários mirtilos do cultivar Climax com sintomas típicos da ferrugem em três pomares, sendo dois comerciais, um conduzido no sistema orgânico (São Joaquim,

28°14'33.62''S, 50°09'07.59''O, Altitude 1.142m), outro no convencional (Bom Retiro, 27°47'13.31''S, 49°29'19.28'', Altitude 904m) e um experimental (São Joaquim, 28°17'39''S, 49°55'56'' W, 1.415m altitude) (Figura 1).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi confirmar a presença de *T. minima* nos pomares catarinenses de mirtilo, bem como auxiliar na identificação e no manejo da doença.

O fungo *T. minima* foi caracterizado morfológicamente de acordo com Pazdiora et al. (2019). As observações morfológicas foram realizadas no microscópio BX41 (aumento 400 e 1.000x) e as imagens dos urediniosporos obtidas digitalmente e posteriormente processadas com o software Olympus cellSens Dimension.

Folhas sintomáticas (Fig. 2A e B) foram usadas para coleta de 30mg de

Recebido em 30/4/2021. Aceito para publicação em 3/8/2021.

<https://doi.org/10.52945/rac.v35i1.1168>

¹ Engenheiro-agrônomo, Dr. Empresa de Pesquisa e Extensão Rural (Epagri) Estação Experimental de São Joaquim, rua João Araújo Lima, 102, bairro Jardim Caçara, SC, 88600-000, São Joaquim, e-mail: leonardoaraujo@epagri.sc.gov.br; felipepinto@epagri.sc.gov.br.

² Engenheiro-agrônomo, Dr. Agrônoma Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria, Av. Ipiranga, 7464, bairro Jardim Botânico, RS, 91530-000, Porto Alegre, e-mail: camila.andrade@agronomicabr.com.br; valmir@agronomicabr.com.br

³ Biológo, Dr. Agrônoma Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria, Av. Ipiranga, 7464, bairro Jardim Botânico, RS, 91530-000, Porto Alegre, e-mail: larissa.gomes@agronomicabr.com.br; bianca.falkenbach@agronomicabr.com.br



Figura 1. Sintomas de ferrugem causado por *Thekopsora minima* na superfície abaxial (A, C, F) e adaxial (B, E) de folhas do mirtilheiro cultivar Climax. Setas vermelhas (A, C) indicam pústulas com urediniósporos. Em estágios mais avançados da doença é possível observar o amarelecimento das folhas (asteriscos) com consequente desfolha (D, E, F) em fevereiro
Fotos: A, B, C – Leonardo Araujo; D, E, F – Augusto Schütz Ferreira

Figure 1. Symptoms of rust caused by *Thekopsora minima* on the abaxial (a, c, f) and adaxial (b, e) surfaces of leaves of blueberry plants cultivar climax. Red arrows (a, c) indicate pustules with urediniospores. In more advanced stages of the disease is possible to observe yellow leaves with consequent defoliation (D, E, F) in February
Photos: A, B, C - Leonardo Araujo; D, E, F - Augusto Schütz Ferreira

urediniósporos para extração de DNA de acordo com a metodologia adaptada de Pocovi et al. (2010). A identidade molecular do isolado foi determinada por amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento das regiões espaçadoras transcritas internas (ITS), 5.8S rDNA e partes de 18S e 28S rDNA de acordo com White et al. (1991). As sequências obtidas foram editadas no programa BioEdit 7.0.5.3 e analisadas por meio do software *Molecular Evolutionary Genetics Analysis (Mega X)*, construído com o algoritmo ClustalW e comparadas no banco de dados do GenBank. A similaridade da sequência de nucleotídeos do isolado foi calculada utilizando o programa *Basic Local Alignment Search Tool (Blast)*. As análises filogenéticas foram realizadas pelo método da Máxima Verossimilhança por meio do programa Mega X, utilizando 1.000 repetições. Sequências de referência correspondentes ao gene ITS de espécies da *T. minima* previamente depositadas no GenBank a exemplo de Pazdiora et al. (2019) e Wichura et al. (2020) também foram acrescentadas às análises.

Para comprovação dos postulados de Koch utilizou-se a metodologia adaptada de Pazdiora et al. (2019). Para isso as últimas folhas expandidas de ramos do cultivar Climax foram destacadas e o seu pecíolo envolvido em algodão saturado com água. As folhas destacadas foram inoculadas com uma suspensão de urediniósporos (1×10^3 esporos/mL) até o ponto de escorrimento e mantidas a 25°C e 12h de fotoperíodo. Diariamente, avaliaram-se a presença de sintomas e a formação de pústulas com urediniósporos.

Na avaliação morfológica observaram-se urediniósporos ovóides, laranja-amarelados equinulados, medindo 15,4–21,3 ($\bar{x} = 18,9$) \times 11,6–19,6 ($\bar{x} = 14,9$) μm ($n = 30$) (Figura 2). Telia não foi encontrada. As características morfológicas observadas no presente estudo são semelhantes aos isolados encontra-

dos na América do Sul (PAZDIORA et al., 2019; HUARHUA et al., 2020).

A sequência do gene ITS do isolado apresentou 100% de similaridade com sequências da mesma região da espécie *T. minima* depositadas GenBank (número de acesso MH029898.1). A análise filogenética mostrou que o isolado em estudo se agrupou com as sequências depositadas no GenBank mais similares à espécie *T. minima* descritas por Poci et al. (2019) e Whichura et al. (2020) (Dados não mostrados).

Os primeiros sintomas de ferrugem apareceram como pequenas manchas irregulares e encharcadas 6 dias após a inoculação (dai) (Figura 2). Pústulas com urediniósporos foram observadas 11 dai (Figura 2). Diferentemente do presente estudo, Pazdiora et al. (2019) observaram períodos de incubação (7 dai) e latência (21 dai) mais longos, embora tenham sido utilizados outros cultivares de mirtilheiro 'Jewel' e 'Snowchaser'. Huarhua et al. (2020) também observaram períodos de incubação e latência

mais longos (15 para 21 dai) no mirtilheiro cultivar Biloxi. No Brasil, os principais cultivares plantados pertencem aos grupos Rabbiteye e Highbush (ANTUNES & RASEIRA, 2006) que possuem vários cultivares suscetíveis à ferrugem (SCHERM, et al., 2008; WICHURA et al., 2020). No presente estudo, além da identificação e isolamento de *T. minima*, testes de patogenicidade foram realizados no cultivar Climax, que é altamente suscetível à ferrugem (SCHERM & KREWER, 2008; SCHERM et al., 2008).

Os resultados do presente estudo fornecem provas robustas de que *T. minima* está associado à ferrugem nos pomares de mirtilheiro em Santa Catarina. Oliveira (2011) já havia relatado a presença de sintomas similares à ferrugem do mirtilheiro nos cultivares Powderblue, Climax e Delite (grupo Rabbiteye) e O'Neal e Misty (grupo Highbush) em um pomar em Bom Retiro, SC, embora o autor não tenha identificado o agente causal. A identificação precoce da ferrugem é fundamental para o sucesso do manejo, pois esta é uma doença foliar de difícil controle devido à grande produção de esporos pelo fungo em curto espaço de tempo. Nos países que convivem com a ferrugem são utilizadas diferentes estratégias de controle fomentadas na produção integrada de fruteiras de clima temperado com o objetivo de maximizar e racionalizar o uso dos fungicidas (BUNTAIN & BARRY, 2019). Dessa forma, medidas de manejo integrado deverão ser adotadas para conter o avanço da ferrugem nos pomares na Serra Catarinense. Geralmente *T. minima* sobrevive exclusivamente em mirtilos de ciclo a ciclo, pois em vários países produtores da fruta não há relatos de hospedeiros alternativos do fungo. Assim, uma forma de quebrar o ciclo do patógeno é durante o inverno, quando plantas caducifólias, a exemplo do mirtilheiro, perdem as folhas (BUNTAIN & BARRY, 2019). Portanto, em pomares de mirtilo que as plantas ainda mantêm folhas entre final de abril e início de

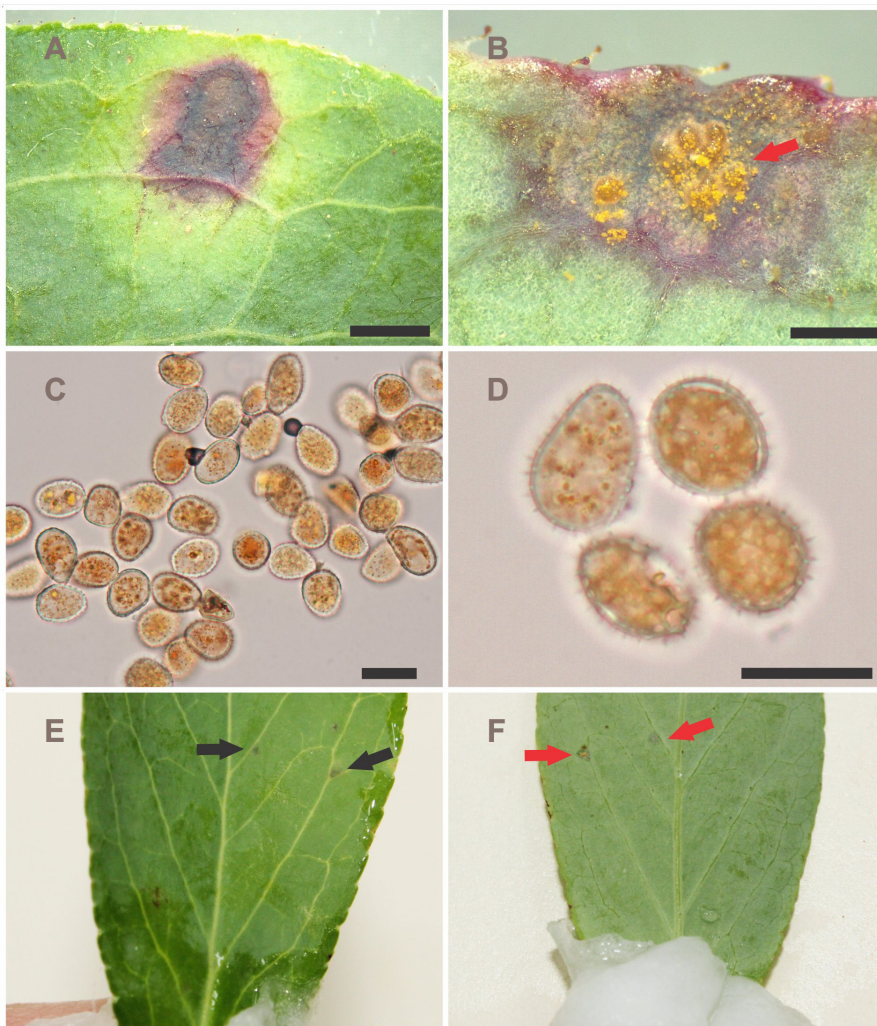


Figura 2. Sintomas (A) e sinais (B) de ferrugem causado por *Thekopsora minima* na superfície abaxial (B) e adaxial (A) de folhas do mirtilheiro cultivar Climax em alta magnificação. Setas vermelhas (B, F) indicam pústulas com urediniósporos. Urediniósporos equinulados em alta ampliação (C, D). Sintomas (seta preta) e sinais aos 6 (E) e 11 (F) dias após a inoculação nos ensaios para comprovação dos postulados de Koch. Barras: 5 (B) e 20 (A) mm; 20µm (C, D)

Figure 2. Symptoms (A) and signs (B) of rust caused by *Thekopsora minima* on the abaxial (B) and adaxial (A) surfaces of leaves of blueberry plants cultivar climax at high magnification. Red arrows (B, F) indicate pustules with urediniospores. Echinulate urediniospores at high amplification (C, D). Symptoms (black arrow) and signs at 6 (E) and 11 (F) days after inoculation in tests to prove Koch's postulates. Bars: 5 (B) and 20 (A) mm; 20µm (C, D)

maio, recomenda-se utilizar produtos para acelerar a queda de folhas a exemplo dos cúpricos. Além disso, sabe-se que temperaturas entre 17 e 22°C e a alta umidade favorecem a infecção de *T. minima* e formação de pústulas em folhas de mirtilo. Desta maneira deve-se evitar água livre sobre folhas por meio de poda abrindo o dossel para secagem rápida dos tecidos no interior dos arbustos do mirtilheiro (BUNTAIN & BARRY, 2019). Uma boa manutenção do controle das plantas invasoras na fileira de plantio, espaçamento adequado entre plantas (alta densidade pode favorecer a ferrugem) e verificação da necessidade ou não do uso de quebra-ventos também contribuem para reduzir o microclima no interior das plantas (BUNTAIN & BARRY, 2019).

A rotação dos grupos químicos dos fungicidas utilizados, momento da aplicação (preferencialmente antes de períodos chuvosos) e boa cobertura na folhagem são fundamentais para prevenir a infecção de *T. minima* em pomares com cultivares suscetíveis e condições ambientais favoráveis à ferrugem (SIMPSON et al., 2017; BUNTAIN & BARRY, 2019). De acordo com Buntain & Barry (2019) folhas novas são mais suscetíveis à infecção por ferrugem. Scherm et al. (2008) já haviam afirmado que a ferrugem ocorre mais cedo do que as outras doenças foliares e pode exigir aplicações de fungicidas já no início do verão. Em pomares convencionais com alta incidência de ferrugem são realizadas pulverizações com fungicidas a cada 10-14 dias com os seguintes grupos químicos: clorotalonil, ditianona, mancozeb, (multissítios) e azoxistrobina, azoxistrobina+ciproconazol, boscalida+piraclostrobina, fenbuconazol, propiconazol e tebuconazol (sítios específicos). Já em pomares orgânicos os principais grupos químicos utilizados são os cúpricos, calda bordalesa e *Bacillus* spp. (SCHERM & KREWER, 2008; SIMPSON et al., 2017; BUNTAIN & BARRY, 2019; WICHURA et al., 2020). Ape-

sar de não haver relatos de seleção de populações resistentes de *T. minima* a fungicidas, é recomendada a combinação, bem como rotação dos diferentes grupos químicos para manutenção da eficácia destes produtos contra a ferrugem. Diante da ocorrência de *T. minima* no mirtilheiro, fruticultores terão um grande desafio para manejar a ferrugem nos pomares catarinenses devido às condições ambientais adequadas à doença e a predominância de cultivares suscetíveis ao patógeno.

Agradecimentos

Leonardo Araujo agradece ao CNPq pela bolsa de produtividade. Os autores agradecem ao Eng. Agr. Cau V. S. B. Neto pelas orientações técnicas. Aos técnicos da Epagri Iran S. Oliveira e Arthur O. Souza pelo suporte técnico.

Referências

ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M.C.B. (Eds.) **Cultivo do mirtilo (*Vaccinium* spp.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. 99p. (Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção, 8). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/46565/1/sistema-08.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2021.

BUNTAIN, M.; BARRY, K. Managing blueberry rust in a cool climate. **Instituto Tasmaniano de Agricultura, Tasmânia, 2009, 2 pp.** Disponível em: https://www.utas.edu.au/__data/assets/pdf_file/0012/1110432/Blueberry-rust-management-cool-climate_220917.pdf. Acesso em: 24 dez. 2020.

HUARHUA, M.; ACUÑA, R.; ARAGÓN, L.; SOTO, J.; LANDEO, S.; MARTÍNEZ DE LA PARTE, E.; APAZA, W. First report of blueberry leaf rust caused by *Thekopsora minima* on *Vaccinium corymbosum* in Peru. **Plant Disease**, Minneapolis, v.104, n.11, p.3077-3077, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-1981-PDN>.

OLIVEIRA, G.S. Avaliação da fenologia de cinco cultivares de mirtilo (*Vaccinium* sp.) no município de Bom Retiro (SC) e as implicações na suscetibilidade a geadas e no mane-

jo dessas cultivares. 100 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Curso Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/121499>. Acesso em: 01 mar. 2021.

PAZDIORA, P.C.; DORNELES, K. R.; ARAÚJO FILHO, J. V.; ROSSETTO, E. A.; GUATIMOSIM, E.; DALLAGNOL, L. J. First Report of Blueberry Leaf Rust Caused by *Thekopsora minima* on Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) in South America. **Plant Disease**, Minneapolis, v.103, n.5, p.1026-1026, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-1981-PDN>.

POCOVI, M.I.; RECH, G.E.; COLLAVINO, N.G.; CARUSO, G.B.; RÍOS, R.; MARIOTTI, J.A. Molecular diversity of *Puccinia melanocephala* populations. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v.158, n.11-12, p. 769-775, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2010.01698.x>.

SCHERM, H.; KREWER, G. Disease Management in organic rabbiteye blueberries. **International Journal of Fruit Science**, Pennsylvania, v.8, n.1-2, p.69-80, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/15538360802367661>.

SCHERM, H.; SAVELLE, A. T.; BRANNEN, P. M. Occurrence and prevalence of foliar diseases on blueberry in Georgia. **Plant Health Progress**, Minneapolis, 2008, 11 pp. Disponível em: <https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2008/blueberry/>. Acesso em: 14 mar. 2021.

SIMPSON, M.; WILK, P. ; COLLINS, D. ; ROBERTSON, D.; DANIEL, R. Managing blueberry rust under an evergreen system. **Acta Horticulturae**, Lovaina, v.1180, p.105-110, 2017. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1180.14>.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.D.; LEE, S.B.; TAYLOR, J.W. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SNINSKY, J.J.; WHITE, T.J. (Eds.) **PCR Protocols: a guide to methods and applications**. New York: Academic Press Inc, 1990, pp.315-322.