

Primeiro relato da ocorrência da forma perfeita de *Colletotrichum acutatum* em folhas de macieira no Brasil

Onofre Berton¹

Resumo – Em 2005, folhas da cultivar Fuji coletadas na Epagri/Estação Experimental de Caçador foram submetidas à câmara úmida e desenvolveram a forma perfeita de *Glomerella* após 7 a 10 dias de incubação. Os peritécios observados apresentaram-se imersos no tecido, agrupados ou isolados. Nas estruturas maduras observou-se o extravasamento de uma massa rosada composta por ascas e ascósporos. Pelos estudos de laboratório feitos a seguir, foi possível concluir que as estruturas encontradas são de *Glomerella acutata*, forma perfeita de *Colletotrichum acutatum*, até então desconhecida. Amostras de folhas foram em seguida submetidas ao colespor comprovando-se que, à semelhança de *Glomerella cingulata*, *G. acutata* não possui mecanismo de propulsão ativo. Este é o primeiro relato de *G. acutata* ocorrendo em folhas de macieira no Brasil.

Termos para indexação: Doenças, fungos, podridão amarga, mancha da gala, *Glomerella acutata*.

First report of the teleomorph of *Colletotrichum acutatum* on apple leaves in Brazil

Abstract – Apple leaves of cultivar Fuji collected in 2005 at Epagri/Estação Experimental de Caçador developed *Glomerella* perithecia after 7 to 10 days in mist chamber. Perithecia were immersed in the tissue, single or in clusters, presenting different degrees of formation and maturation. Asci and ascospores released by ostiole were conic involved in a gelatinous pink matrix. After monoconidial isolations and lab tests it was possible to identify the fungus as *Glomerella acutata*, the teleomorph of *Colletotrichum acutatum*, for the first time. Leaf samples were immediately submitted to colespor and the conclusion was the same for *Glomerella cingulata*, i.e., *G. acutata* is not actively released from the structures. This is the first report of *G. acutata* on apple leaves in Brazil.

Index terms: Diseases, fungi, bitter rot, gala leaf spot, *Glomerella acutata*.

Glomerella spp. e suas formas imperfeitas *Colletotrichum* spp. são responsáveis pela doença conhecida como antracnose em dezenas de espécies de plantas tropicais, subtropicais e temperadas. Como exemplo podem ser citadas macieira, abacateiro, cítrus, mamoeiro, pessegueiro, noqueira pecan, mangueira e morangueiro. Duas das formas imperfeitas encontradas em macieira devem responder à quase totalidade das espécies encontradas nessa cultura, nos diversos agroecossistemas no Sul do Brasil. As formas do patógeno apresentam isolados patogênicos e não-patogênicos e

muita variabilidade (Freeman, 2000). Variação considerável em virulência tem sido observada em vários hospedeiros, incluindo colonização por grupos que são patógenos oportunistas ou saprófitas (Katan, 2000). Espécies de *Colletotrichum* têm sido estudadas em diversas culturas. Em função do aparecimento da forma perfeita *Glomerella cingulata* em folhas e frutos da macieira, foram desenvolvidos estudos e isolamentos visando entender o complexo *Glomerella* na cultura. O presente trabalho relata o aparecimento da forma perfeita de *C. acutatum*, *G. acutata*, em folhas

de macieira, encontrada pela primeira vez no Brasil, na Epagri/Estação Experimental de Caçador, em 2005, na cultivar Fuji.

Folhas da cv. Fuji, com manchas em nada semelhantes às manchas de *Glomerella* na cv. Gala, foram coletadas e colocadas imediatamente em câmara úmida no interior de bandejas plásticas com tampa e permaneceram em temperatura ambiente no Laboratório de Fitopatologia. Após 7 a 10 dias desenvolveram massas rosadas em diversos pontos. Foram observados peritécios com ascas e ascósporos com diferentes graus de maturação. Medições de peritécios,

Aceito para publicação em 4/5/07.

¹Eng. agr., Ph.D., Epagri/Estação Experimental de Caçador, C.P. 591, 89500-000 Caçador, SC, fone: (49) 3361-2000, e-mail: berton@epagri.sc.gov.br.

ascas e ascósporos foram realizadas com ocular de dez aumentos, acoplado ao microscópio binocular, bem como estudos de isolamentos e testes de patogenicidade. Massas de esporos foram removidas com agulha histológica, diluídas em água esterilizada e plaqueadas em batata, dextrose, ágar (BDA). Isolamentos monospóricos foram obtidos a partir desses plaqueamentos e incubados a 23°C na ausência de luz por 5 a 7 dias. Os esporos foram removidos utilizando-se pincel de pêlo de camelo e água esterilizada. A concentração foi ajustada para 1×10^5 , 1×10^6 e 4×10^6 esporos/ml e as suspensões foram pulverizadas em ramos destacados de 'Gala' e 'Fuji'. Após, os ramos foram deixados em solução de 10% de açúcar, em copos béquer, e permaneceram em câmara úmida a 23°C (2°C) por 48 horas, envoltos em sacos plásticos. Em seguida foram retirados da câmara úmida e permaneceram no laboratório em temperatura ao redor de 20°C. A cada 2 dias foi feita uma avaliação nas folhas buscando-se a incidência de manchas. As folhas com as estruturas foram submetidas ao colespor (Berton, 2004), confirmando a inexistência de mecanismo ativo de liberação de ascósporos.

Os peritécios que se desenvolveram nas folhas estavam imersos no tecido e apresentavam coloração marrom-clara. Após 5 a 7 dias as estruturas apresentaram diferentes graus de maturação e após esse período tornaram-se mais escuras. Uma massa mucilaginosa contendo ascas e ascósporos de *Glomerella* foi liberada pelo ostíolo (Figuras 1A e 1B). Os peritécios encontrados apresentavam coloração marrom-escura, formato de pêra, medindo em média 130 x 325 μ m de diâmetro. As ascas apresentaram formato de bastão estreito, cilíndrico, com oito ascósporos que mediam 9,7 a 26,5 x 3,5 a 9 μ m, afilados em ambas as extremidades, com discreta pontuação escura no centro. Isolamentos monospóricos produziram colônias cromogênicas de coloração rosada com conídios hialinos, elíptico-fusiformes, de crescimento lento, pontudos nas duas ou em pelo menos uma extremidade.

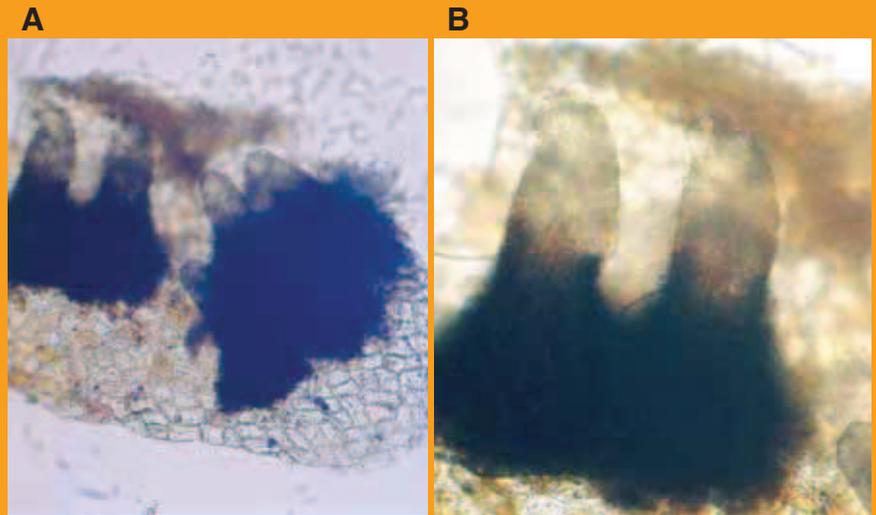


Figura 1. (A) Peritécios com ascas e (B) ascósporos de *Glomerella acutata* emergindo de folhas da cultivar Fuji

Embora se saiba que *C. acutatum* não é nem altamente sensível, nem altamente tolerante a Benomyl (Bernstein et al., 1995; Adaskaveg & Hartin, 1997; Freeman et al., 1998), este mostrou-se com pouca sensibilidade a 100ppm e estas características, juntamente com outras características culturais como forma e coloração da colônia, tamanho e forma dos conídios e patogenicidade, o diferenciam de *C. gloeosporioides*, pois acreditava-se que *C. acutatum* fosse uma das diversas variantes morfológicas de *C. gloeosporioides*.

Os testes de inoculação em folhas das cultivares Gala e Fuji utilizando as três concentrações de inóculo foram avaliados 2, 6 e 10 dias após a inoculação (DAI). Os primeiros sintomas manifestaram-se nas folhas novas das duas cultivares 48 horas após a inoculação. Aos 6 DAI os sintomas apareceram em mais folhas. Folhas totalmente desenvolvidas na base dos ramos manifestaram descoloração. Aos 10 DAI todos os ramos da cv. Fuji apresentaram necroses e murcha acentuada, mas nem todas as concentrações provocaram o mesmo comportamento na cv. Gala. As concentrações de 10^5 e 10^6 esporos/ml apresentaram sintomas em algumas folhas somente e um dos ramos com 10^6 esporos/m não manifestou sintomas. As Figuras 2 e 3 mostram que aos 10 DAI o isolado causou mais danos na 'Fuji', de onde foi isolado, do que na 'Gala', sugerindo adaptação diferenciada

do mesmo nas duas cultivares. As folhas que manifestaram necroses apresentaram-se retorcidas e com murcha acentuada. As folhas mais velhas praticamente nada sofreram, sugerindo que resistência ontogenética para esse patógeno também pode existir na cultura da macieira.

Estudos têm demonstrado que a maioria dos isolados de *Colletotrichum* spp. não apresenta especificidade hospedeira em muitas espécies de plantas (Freeman, 2000). Muitos hospedeiros certamente desempenham importante papel no estabelecimento da população inicial em um pomar. Entretanto, a diversidade da população de *Glomerella* e *Colletotrichum* é sem dúvida resultante de condições ambientais, cultivares, práticas de manejo e uso de agroquímicos, tal como sugerido por Shy et al. (1996). Freeman & Shabi (1996) inocularam frutos de diversas espécies e todos produziram lesões, mas em manga as lesões somente apareceram após provocar fermentos nos frutos. Tem sido demonstrado que *C. acutatum* isolado de morango pode parasitar e causar doença em outros hospedeiros e, mesmo, sobreviver em diferentes culturas e plantas daninhas sem produzir sintomas. Entretanto, o papel de hospedeiros alternativos ainda é muito pouco conhecido para *C. acutatum* (Freeman & Shabi, 1996). Gonzales & Sutton (2004) encontraram apenas dois grupos de compatibilidade vegetativa em três pomares de maçã na Carolina do



Figura 2. Teste de patogenicidade em folhas de cultivar Fuji

Figura 3. Teste de patogenicidade em folhas de cultivar Gala



Norte e concluíram que, uma vez que isolados se estabelecem em um pomar, sua tendência é permanecer ao longo do tempo.

O fato de *Glomerella* infectar folhas de macieira e causar manchas e desfolhamento precoce, parece estar associado a uma especialidade dentro da população, com diferentes graus de adaptação. As espécies mais conhecidas em Santa Catarina, *C. gloesporioides* e *C. acutatum*, apresentam comportamento diferenciado em diferentes países e hospedeiros, mas ambas têm sido encontradas provocando queda de folhas.

Glomerella spp. e suas espécies imperfeitas se constituem em patógenos oportunistas, capazes de causar danos severos na maçã quando se conjugam ferimentos causados por agentes diversos, dentre os quais pode-se destacar a mosca-das-frutas (Denardi et al., 2004), presença de alta concentração de inóculo, principalmente em frutos mumificados e nos ramos podados que permanecem sobre o solo dos pomares, e quando chove muito durante o ciclo, principalmente próximo da maturação. A variabilidade que se observa em cada ciclo da cultura, com manifestações precoces em fins de

setembro e outubro e tardias em fevereiro e março, está inegavelmente associada a condições de precipitação abundante, fator indispensável para liberar e disseminar os esporos. O surgimento de focos provavelmente possa ser atribuído à dispersão do inóculo por abelhas e outros insetos.

Essa primeira constatação da ocorrência de *G. acutata* sobre folhas de macieira deve contribuir para o melhor entendimento do ciclo patógeno-hospedeiro na cultura. A grande variabilidade apresentada por esses patógenos, associada a variações de patogenicidade, ao surgimento de raças, às diferentes respostas aos fenômenos meteorológicos e dificuldades no controle, tem se transformado em uma preocupação constante dos produtores de maçã. O conhecimento mais detalhado do ciclo patógeno-hospedeiro ainda continua sendo a base para o estabelecimento de formas de controle desta doença, responsável por perdas significativas na cultura da macieira, em cada ciclo.

Literatura citada

1. ADASKAVEG, J.E.; HARTIN, J.R. Characterization of *Colletotrichum*

acutatum isolates causing anthracnose of almond and peach in California. *Phytopathology*, St. Paul, v.87, n.8, p.979-987, 1997.

2. BERNSTEIN, B.; ZEHR, E.I.; DEAN, R.A. et al. Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple pecan and other hosts. *Plant Disease*, St. Paul, v.79, n.5, p.478-482, 1995.
3. BERTON, O. Colespor – Nova ferramenta para pesquisar doenças em plantas. *Agropecuária Catarinense*, Florianópolis, v.17, n.2, p.12-13, 2004.
4. DENARDI, F.; BERTON, O.; SPENGLER, M.M. Desenvolvimento de lesões de podridão amarga em maçãs de diferentes genótipos com e sem ferimentos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 23., 2004, Florianópolis. *Anais...* Florianópolis: SBF, 2004. CD ROM.
5. FREEMAN, S.; SHABI, E. Cross-infection of subtropical and temperate fruits by *Colletotrichum* species from various hosts. *Physiological Molecular Plant Pathology*, v.49, n.4, p.395-404, 1996.
6. FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease*, St. Paul, v.82, n.5, p.596-605, 1998.
7. FREEMAN, S. Genetic Diversity and Host Specificity of *Colletotrichum* Species on Various Fruits. In: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. (Ed.) *Colletotrichum Host specificity, Pathology and Host-Pathogen Interaction*. St. Paul: APS Press, 2000. p.131-144.
8. GONZALES, E.; SUTTON, T.B. Population diversity within isolates of *Colletotrichum* spp causing Glomerella leaf spot and bitter rot of apples in three orchards in North Carolina. *Plant Disease*, St. Paul, v.88, n.12, p.1335-1340, 2004.
9. KATAN, T. Vegetative compatibility in *Colletotrichum*. In: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. (Ed.) *Colletotrichum Host specificity, Pathology and Host-Pathogen Interaction*. St. Paul: APS Press, 2000. p.45-56.
10. SHY, Y.; CORREL, J.C.; GUERBER, J.C. Frequency of *Colletotrichum* species causing bitter rot of apples in the southeastern United States. *Plant Disease*, St. Paul, v.80, n.7, p.692-696, 1996.