

TABELA 3 — Desenvolvimento da lesão em coqueiros híbridos inoculados com isolados de *B. theobromae*, Aracaju — SE, 1986.

Procedência	Origem	Tamanho da lesão (cm) ¹							
		PB 121				PB 132			
		F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄ ²
Santa Luiza do Itanhy	Raque	3,77	4,80	5,32	8,24	3,35	4,75	5,83	3,05
Pacatuba	Folíolo	4,00	5,01	4,92	7,81	3,75	4,07	4,83	3,17
N. S. ^a do Socorro	Raque	3,60	3,82	5,15	8,05	3,01	3,92	5,01	6,00
St. ^o Amaro das Brotas	Raque	3,5	4,5	4,0	7,6	2,5	3,0	4,9	6,2
Testemunha	—	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

¹ Média de 5 coqueiros híbridos com 1 ano de idade após 30 dias de inoculação.

² Folhas 1, 2, 3 e 4 de coqueiros.

Conforme expostos na Tabela 1 observa-se que o fungo *P. palmarum* foi isolado com maior freqüência (42%) tanto dos folíolos como da raque de folhas doentes de coqueiros, de todas regiões seguido por *B. theobromae* (20%) e outros fungos (1%).

O sintoma da doença não apareceu no folíolo nem na raque inoculados com os fungos *P. palmarum*, *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp. e *Curvularia* sp., em tubos de ensaio. O fungo *B. theobromae* causou o sintoma da doença apenas nos folíolos.

Todos os coqueiros inoculados com *B. theobromae* apresentaram o sintoma da queima-das-folhas e não aqueles coqueiros inoculados com outros fungos. Em todos os pontos das folhas inoculadas, o fungo *B. theobromae* desenvolveu-se e foi reisolado de lesões em todas as tentativas. As plantas testemunhas não expressaram qualquer lesão nos pontos inoculados (Tabela 2). Os isolados de *B. theobromae* de folíolos e raque e de diversas regiões produtoras de coco foram patogênicos ao coqueiro (Tabela 3). Nas mudas de coqueiro Gigante do Brasil inoculadas com os diversos fungos testados, apenas o *B. theobromae* causou lesões nas folhas, as quais mediram: 41,0 a 52,2 cm de comprimento, na base e 6,7 a 7,5 cm na extremidade das folhas (média de 5 mudas, 24 dias após a inoculação).

Os resultados desses estudos permitiram as seguintes conclusões: 1 — Os fungos *P. palmarum* e *B. theobromae* estão sempre associados à queima-das-folhas do coqueiro; 2 — *B. theobromae* é somente capaz de reproduzir o sintoma da doença quando inoculado com ferimento; 3 — os isolados de *B. theobromae* de diferentes municípios de Sergipe não diferem entre si quanto a sua patogenicidade.

LITERATURA CITADA

- FRANCO, E. A bactéria do fogo do coqueiro. Relatório de Pesquisa. DEMA/SE. 1975 (Inédito).
- ROBBS, C.F., CHIACCHIO, F.P., COSTA, J.M. da & SHARMA, R.D. Relatório do grupo de pesquisa sobre a queima-das-folhas do coqueiro. Aracaju, EMBRAPA, 1975. 8p.
- SNYDER, W.C.A. A report on the leaf blight disease of coconut palms in Northeast Brazil. S.n.t., 1979. 6p.
- SOUZA FILHO, B.H. de., SANTOS, H.P. & ROBBS, C.F. Etiologia da queima-das-folhas do coqueiro. Fitop. brasil., 4 (1):5-10, 1979.

EFEITO DA TEMPERATURA E UMIDADE SOBRE A INFECÇÃO DE SERINGUEIRA (*HEVEA SPP.*) POR *MICROCYCLUS ULEI*

L. GASPAROTTO¹, L. ZAMBOLIM², L.A. MAFFIA², F.X. RIBEIRO DO VALE² & N.T.V. JUNQUEIRA¹

¹CNPDS/EMBRAPA, Caixa Postal 319, 69001 Manaus, AM; ²Departamento de Fitopatologia, UFV, 36570 Viçosa, MG

(Aceito para publicação em 15/01/89)

RESUMO

GASPAROTTO, L., ZAMBOLIM, L., MAFFIA, L.A., RIBEIRO DO VALE, F.X. & JUNQUEIRA, N.T.V. Efeito da temperatura e umidade sobre a infecção de seringueira (*Hevea spp.*) por *Microcyclus ulei*. Fitopatol. bras. (14):38-41. 1989.

Desenvolveu-se uma equação de regressão múltipla relacionando temperatura e período de molhamento foliar sobre a infecção de seringueira por *Microcyclus ulei*. Ocorreram infecções em períodos mínimos de seis horas de molhamento foliar a 24°C e de oito horas a 20 e 28°C, enquanto que a 16°C não houve manifestação dos sintomas da doença. Verificou-se

que 24°C e pelo menos 16 horas de molhamento foliar foi a melhor combinação para ocorrer infecção. O período de incubação a 20°C foi de seis dias, enquanto que a 24 e 28°C foi de quatro dias. A 20°C não houve esporulação conidial, mas a 24 e 28°C a esporulação foi abundante.

ABSTRACT

Effect of temperature and humidity on the infection of rubber tree (*Hevea spp.*) by *Microcyclus ulei*.

A multiple regression equation relating temperature and wet period to infection by *Microcyclus ulei* on rubber tree was developed. Infection occurred in a minimum period of 6 hours of free water at 24°C, and 8 hours at 20 and 28°C. There were no disease symptoms at 16°C. The temperature of 24°C for at least

16 hours of free water was more favorable for establishment of infection by *M. ulei*. While the incubation period was 6 days at 20°C, it was reduced to 4 days at 24 and 28°C. Conidial sporulation was absent at 20°C, and abundant at 24 and 28°C.

INTRODUÇÃO

O mal das folhas, causado por *Microcyclus ulei* (P. Henn.) v. Arx, é a principal doença da seringueira no continente americano. O patógeno infecta folíolos jovens, até cerca de 10 a 12 dias de idade, que se tornam resistentes dos 15 a 20 dias, dependendo do clone e do vigor da planta (Langford, 1945; Holliday, 1970). A predominância de condições de ambiente propícias ao ataque do patógeno conduz a sucessivos desfolhamentos induzindo o secamento descendente dos ramos que, dependendo da suscetibilidade da planta, poderá levá-la à morte.

A germinação dos esporos de *M. ulei* e a penetração necessitam da presença de filme de água sobre a superfície foliar (Langford, 1945; Hilton, 1955; Holliday, 1970; Kajornchaiyakul *et al.*, 1984). Além dessas fases do ciclo de vida, a temperatura também afeta o desenvolvimento do patógeno e a esporulação (Camargo *et al.*, 1967; Chee, 1976; Kajornchaiyakul *et al.*, 1984). Este trabalho objetivou estudar o efeito do binômio temperatura — período de molhamento foliar sobre a infecção por *M. ulei* em seringueira, assim como a influência da temperatura no período de incubação, período latente e na esporulação do patógeno.

MATERIAL E MÉTODOS

Produção de Inóculo e Inoculação

Utilizou-se um isolado do *M. ulei*, de mudas do clone IAN 873, oriundas do viveiro do Instituto Estadual de Florestas, localizado em Ubá-MG. Isolou-se o fungo conforme descrito por Junqueira *et al.*, (1984). O patógeno foi cultivado em meio contendo 1000 ml de extrato de 250 g de batata, 10 g de sacarose, 20 g de ágar, 6 g de neopeptona, 2 g de KH_2PO_4 , 1 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 50 ppm de cloranfenicol e 2 ml de Panvit (produto dietético produzido pelo laboratório Teuto-Brasileiro Ltda). O Panvit e o cloranfenicol foram adicionados ao meio após a autoclavagem. A seguir, 20 a 30 ml do meio foram vertidos para erlenmeyers de 125 ml, previamente esterilizados (Junqueira *et al.*, 1984).

Nas repicagens, fragmentos com 1 a 2 g de cultura contendo micélio e conídios de *M. ulei* com 12 a 15 dias de idade foram macerados no interior de erlenmeyers, utilizando-se um bastão de vidro esterilizado, em 10 ml de água destilada e esterilizada. Uma alíquota de 0,5 ml dessa suspensão era retirada, depositada e espalhada na superfície do meio de cultura em erlenmeyer. A seguir, os erlenmeyers com o patógeno foram mantidos a 24°C sob ciclo alternados de 12 horas de luz e de escuro, durante 12 a 15 dias.

Após 10 repicagens sucessivas, inoculou-se o patógeno em mudas do clone RRIM 600 e reisolou-o. Segundo Junqueira *et al.* (1986), acima de 10 repicagens sucessivas ocorre redução na esporulação.

Inocularam-se mudas do clone RRIM 600 após emitirem o quarto lançamento maduro (conjunto de folhas emitido por ramo, numa mesma época). Para se obter maior quantidade de plantas com folíolos de seis a oito dias de idade, cerca de 40 dias antes das inoculações, as plantas foram decapitadas logo abaixo do último lançamento.

Efetuararam-se as inoculações na face abaxial de folíolos de seis a oito dias, com suspensão de 2×10^5 conídios/ml, pre-

parada de culturas com 12 a 15 dias de idade. Para tanto, utilizou-se um atomizador do tipo "pulver jet", modelo P-100, acionado por multicompressor, modelo P-120, (NS Indústria de Aparelhos Médicos Ltda, São Paulo-SP), calibrado a 55 libras/pol². Atomizou-se até haver cobertura completa dos folíolos por pequenas gotículas, porém sem escorrimento.

Instalação do Experimento

O experimento foi conduzido em câmaras de crescimento, com diferentes temperaturas (16, 20, 24 e 28°C) e diferentes períodos de duração de molhamento foliar (5, 6, 8, 12, 16, 20, 24 e 28 horas). Em salas permanentemente fechadas, contendo condicionador de ar, colocaram-se câmaras com 2 m de comprimento, 1 m de largura e 1,5 m de altura, com as laterais e o teto de plástico. Dentro de cada câmara colocou-se um umidificador, para se obter uma atmosfera saturada.

Para cada combinação temperatura-período de molhamento foliar, usaram-se duas plantas, inoculando-se todos os folíolos com seis a oito dias de idade. Imediatamente após a inoculação, as plantas foram transferidas para as câmaras úmidas, nos respectivos tempos de molhamento foliar, e após foram mantidas em uma sala a 28°C, durante cerca de 20 minutos, para evaporar a água da superfície foliar. A seguir, retornaram-se as plantas devidamente etiquetadas para as respectivas salas de origem, onde foram mantidas sob ciclos alternados de 12 horas de luz e de escuro, durante 12 dias.

Avaliação

Avaliaram-se os resultados nos folíolos centrais das três folhas situadas na parte inferior do lançamento inoculado.

Utilizaram-se os seguintes parâmetros:

Período de incubação — tempo, em dias, decorrido desde a inoculação até o aparecimento dos primeiros sintomas.

Período latente — tempo, em dias, decorrido desde a inoculação até o aparecimento de 50% de lesões com esporos.

Número de lesões/10 cm² de área foliolar — seis a oito dias após a inoculação, contaram-se as lesões existentes em toda a superfície foliolar. A área foliolar foi determinada em medidor portátil de área foliar, modelo LI-3000.

Esporulação — quantificada 12 dias após a inoculação. Os conídios produzidos em cada folíolo foram retirados com pincel, colocados em 10 ml de água e contados em câmara de Neubauer. Para quantificar a produção de conídios/cm² de área foliolar lesionada, os moldes das lesões de cada folíolo foram impressos em plástico transparente e submetidos ao medidor de área foliar. De posse da área foliolar lesionada e da quantidade de conídios produzidos em cada folíolo, determinaram-se o número de conídios/cm² de área foliolar lesionada.

Pelos testes de Lilliefors e de Cochran (Oliveira, 1977), aplicados ao número médio de lesões/10 cm² de área foliolar, verificou-se que os dados seguiam a distribuição normal e que havia homogeneidade de variâncias. Posteriormente, aplicou-se o modelo de regressão múltipla tendo como variáveis independentes a temperatura e o período de molhamento foliar. Testou-se o modelo:

$$Y = b_0 + b_1T + b_2MF + b_3TMF + b_4(T)^2 + b_5(MF)^2 + e_0,$$

onde:

$$Y = \text{número de lesões/10cm}^2 \text{ de área foliolar;}$$

b_0 = constante;
 b_1, b_2, b_3, b_4 e b_5 = coeficientes de regressão;
 T = temperatura; em °C;
 MF = período de molhamento foliar, em horas e;
 e_0 = erro aleatório.

Nesse modelo, aplicou-se a análise de regressão múltipla, por meio do programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) (Centro de Processamento de Dados — UFV., s.d.). As variáveis independentes foram selecionadas pela seleção "backward", pelo teste t ($P \leq 0,05$), aplicado aos coeficientes de regressão parciais das variáveis.

RESULTADOS

O número médio de lesões/10 cm² de área foliar variou de zero a 19,6, com o período de molhamento foliar de cinco a 28 horas e com temperatura na faixa de 20 a 28°C (Figura 1a). As plantas mantidas a 16°C não manifestaram sintomas da doença.

Desenvolveu-se a equação de regressão múltipla com os dados originais:

$$Y = -241,819 + 20T + 1,43501MF - 0,41709(T)^2 - 0,0235008(MF)^2$$

Este modelo explicou 91% da variação observada no número de lesões e todos os coeficientes estimados foram significativos ($P \leq 0,01$). Tanto o efeito da temperatura quanto do período de molhamento foliar foram quadráticos. A interação temperatura x período de molhamento foliar não foi significativa.

Observa-se a relação da temperatura e o período de molhamento com o número de lesões numa superfície de resposta (Figura 1a). Na superfície gerada com os dados estimados (Figura 1b), observa-se bom ajuste do modelo para temperaturas variando de 20 a 28°C e duração do molhamento foliar de cinco a 28 horas. Pelo exame dos resíduos (diferença entre os dados originais e os estimados pelo modelo de regressão), observou-se que os erros foram independentes e normalmente distribuídos com média zero e variância constante (Drapper & Smith, 1981).

Para haver infecções foram necessários pelo menos seis horas de molhamento foliar a 24°C, e de oito horas a 20 e 28°C.

Os maiores números de lesões/10 cm² de área foliar foram observados a 24°C, durante pelo menos 16 horas de molhamento foliar. Nessa temperatura, com um período de oito horas de molhamento foliar, obtiveram-se, aproximadamente, 11 lesões/10 cm² de área foliar. Este número de lesões, em clones suscetíveis, pode causar a queda do folíolo.

Observou-se que o período de incubação, a 20°C, foi de seis dias, e, a 24 e 28°C, foi de quatro dias. Até 12 dias após a inoculação, nas lesões dos folíolos das plantas mantidas a 20°C não houve esporulação, mas a 24 e 28°C o patógeno esporulou abundantemente, a partir do sexto dia após a inoculação.

DISCUSSÃO

Analisando-se a superfície de resposta obtida com os dados estimados por meio da equação de regressão múltipla, constata-se que a temperatura e o período de molhamento foliar influenciaram significativamente a infecção de folíolos de seringueira por *M. ulei*. Observou-se maior número de lesões nos folíolos das plantas mantidas a 24°C. Vários autores verificaram que a temperatura ideal para germinação dos esporos de *M. ulei* e para infecção de folíolos de seringueira está em torno de 24°C (Langford, 1945; Holliday, 1970; Chee, 1976; Kajornchaiyakul *et al.*, 1984). Verificou-se que a 20 e 28°C o número de lesões foi alto, mas não tanto quanto a 24°C. Entretanto, Chee (1976), inoculando discos de folhas dos clones RRIM 501 e 605, observou que o número e o tamanho das lesões foi menor a 28, 20 e 18°C e praticamente ausente a 30°C.

A 16°C não apareceram sintomas da doença, os folíolos paralisaram o crescimento e se enrugaram devido ao frio. Segundo Huang e Huengin, citados por Ortolani (1985), nas condições da China, quando a temperatura média é inferior a 18°C, o crescimento da planta é paralisado e abaixo de 15°C é crítico para diferenciação dos tecidos. Estabeleceu-se que a temperatura média anual de 20°C é o limite mínimo à adaptação da seringueira (Sudhevea, 1971). Segundo Junqueira *et al.* (1985), *M. ulei* infecta a seringueira a 16°C e a doença evolui normalmente quando as plantas são transferidas para 24°C. Assim, 16°C não limita a penetração pelo patógeno, porém a colonização é lenta ou paralisada.

A 20°C não houve esporulação. Chee (1976), inoculando discos de folhas dos clones RRIM 501 e 605, constatou que a esporulação conidial foi reduzida a 20°C e paralisada a 18 e 28°C. Kajornchaiyakul *et al.* (1984) obtiveram resultados se-

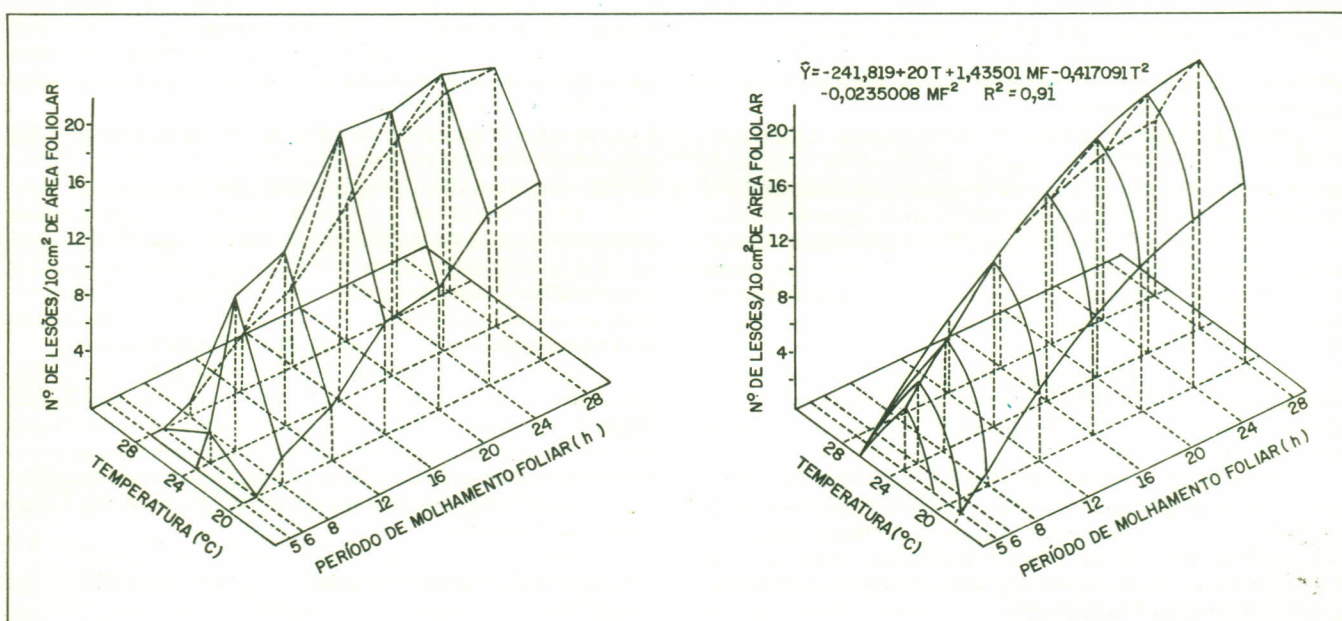


FIGURA 1 — Número observado (a) e estimado (b) de lesões/10 cm² de área foliar em mudas do clone RRIM 600, inoculadas com *Microcyclus ulei*, em várias temperaturas e períodos de molhamento foliar.

melhantes aos desse trabalho. Camargo (1976) afirma que a temperatura média de 20°C, para o mês mais frio, pode ser considerada como índice termométrico abaixo do qual as condições climáticas não são favoráveis à ocorrência grave da doença.

Já se demonstrou a importância do molhamento foliar para germinação dos esporos e para estabelecimento das infecções de vários fitopatógenos (Yarwood, 1956). Enquanto Rands (1924) afirmou que *M. ulei* necessita de 10 a 12 horas consecutivas de molhamento foliar para causar infecção, Langford (1945) e Hilton (1955), trabalhando na América Central, verificaram que oito horas são suficientes. No presente trabalho verificou-se que a 24°C ocorreram infecções com seis horas de molhamento foliar, semelhante ao obtido por Kajornchaiyakul *et al.* (1984). As diferenças encontradas nos períodos de molhamento foliar, requeridos pelo patógeno para causar infecção, provavelmente estão relacionados à virulência do isolado. Inoculando-se um isolado do clone Fx 567, oriundo do Sudeste da Bahia, em folíolos jovens do clone RRIM 600, verificou-se que a 24°C foram necessárias no mínimo nove horas consecutivas de molhamento foliar, para o patógeno causar infecção, enquanto o isolado utilizado neste trabalho causou infecções em folíolos mantidos por seis horas consecutivas de molhamento foliar. Aliado à virulência dos isolados, o emprego de diferentes clones, provavelmente, contribuiu para a ocorrência de infecção em diferentes períodos de molhamento foliar.

LITERATURA CITADA

- CAMARGO, A.P. Aptidão climática para heveicultura no Brasil. *Ecosistema* 1:6-14. 1976.
- CAMARGO, A.P.; CARDOSO, R.M.G. & SCHMIDT, N.C. Comportamento e ecologia do mal das folhas de seringueira nas condições climáticas do planalto paulista. *Bragantia* 26: 1-8. 1967.
- CENTRO DE PROCESSAMENTO DE DADOS — UFV. Manual do Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG). Viçosa, UFV, Imprensa Universitária, s.d. 252p
- CHEE, K.H. Factors affecting discharge, germination and viability of spores of *Microcyclus ulei*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 66:499-504. 1976.
- DRAPER, N.P. & SMITH, H. Applied regression analysis. New York, John Wiley, 1981. 709 p.
- HILTON, R.N. South American leaf blight: a review of the literature relating its deprecations in South America, its threat to the Far East, and the methods available for its control. *J. Rubber Res. Inst. Malaya* 14:287-354. 1955.
- HOLLIDAY, P. South American leaf blight (*Microcyclus ulei*) of *Hevea brasiliensis*. *Farnham Royal, CAB, 1970*. 31p. (CAB. Phytopathology papers, 12).
- JUNQUEIRA, N.T.V., CHAVES, G.M., ZAMBOLIM, L. & GASPAROTTO, L. Isolamento, cultivo e esporulação de *Microcyclus ulei*, agente etiológico do mal das folhas da seringueira. *Ceres* 31:322-31. 1984.
- JUNQUEIRA, N.T.V., ZAMBOLIM, L., CHAVES, G.M. & GASPAROTTO, L. Esporulação "in vitro", viabilidade dos conídios e patogenicidade de *Microcyclus ulei*. *Fitopatol. bras.* 11:667-82. 1986.
- JUNQUEIRA, N.T.V., ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G.M. Resistência de clones de seringueira ao mal-das-folhas. *Informe Agropecuário* 11:42-4. 1985.
- KAJORNCHAIYAKUL, P., CHEE, K.H., DARMONO, T.W. & ALMEIDA, L.C.C. Effect of humidity and temperature on the development of South American leaf blight (*Microcyclus ulei*) of *Hevea brasiliensis*. *J. Rubb. Res. Inst. Malaya* 32:217-23. 1984.
- LANGFORD, M.H. South American leaf blight of Hevea rubber trees. Washington, USDA, 1945. 31p. (USDA. Technical Bulletin 882).
- OLIVEIRA, L.M. Transformação de dados. Viçosa, UFV, Departamento de Matemática do Centro de Ciências Agrárias, 1977. 33p. Mimiografado.
- ORTOLANI, A.A. Aptidão climática para a cultura da seringueira em Minas Gerais. *Informe Agropecuário* 11:8-12. 1985.
- RANDS, R.D. South American leaf disease of Para rubber. Washington, USDA, 1924. 19p. (USDA, Bulletin, 1286).
- SUDHEVEA. Plano Nacional de Borracha. Viabilidade climática para a heveicultura no Brasil. Rio de Janeiro, 1971. 26p. (Anexo X-C).
- YARWOOD, C.E. Humidity requirements of foliage pathogens. *Plant Dis. Repr.* 40:318-21. 1956.

ESPORULAÇÃO DE *CERCOSPORA COFFEICOLA* EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA*

MARIA CRISTINA DEL PELOSO, CELSO DORNELAS FERNANDES**, ANDRÉIA TOSTES FILGUEIRAS** & GERALDO MARTINS CHAVES

Departamento de Fitopatologia — Universidade Federal de Viçosa — 36570 — Viçosa — Minas Gerais

(Aceito para publicação em 15/12/88)

RESUMO

DEL PELOSO, M.C.; FERNANDES, C.D.; FILGUEIRAS, A.T. & CHAVES, G.M. Esporulação de *Cercospora coffeicola* em diferentes meios de cultura. *Fitopatol. bras.* (14):41-44. 1989.

Cercospora coffeicola, assim como outras espécies de *Cercospora*, escassamente esporula ou não esporula em meio de cultura. De folhas de cafeeiro 'Catuaí' infectadas, provenientes do campo, obteve-se o isolado mono conidial denominado 7B-9. Da periferia da colônia formada, discos de 4 mm de

diâmetro foram retirados e colocados em placas de Petri com o diâmetro da colônia e a esporulação foram avaliados. Verificou-se que o regime de iluminação e o meio de cultura são importantes para a esporulação do patógeno. No regime de luz diferentes meios de cultura, submetidos aos regimes de luz

* Trabalho parcialmente financiado pelo CNPq e FINEP.

** Bolsistas do CNPq.