

## ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA ANTRACNOSE -FOLIAR DA SERINGUEIRA NO ACRE, BRASIL

Rivaldalve Coelho Gonçalves<sup>(1)</sup>, Aline Pereira Gomes<sup>(2)</sup>, Paulo Eduardo de França Macedo<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA.. [rivaldalve.goncalves@embrapa.br](mailto:rivaldalve.goncalves@embrapa.br). <sup>(2)</sup>Universidade Federal do Acre, UFAC. [alinecesp@hotmail.com](mailto:alinecesp@hotmail.com).

**Palavras-chave:** colletotrichum-leaf-fall, antracnose, rubber-tree, seringueira, *Hevea* spp.

### INTRODUÇÃO

O Acre é um estado localizado a Noroeste do Brasil e a Sudoeste da Região Amazônica, onde, de acordo com o Código Florestal (Lei Nº 12.651/2012), 80% da área das propriedades rurais devem ser de floresta, exceto algumas exceções. A estimativa da área de florestas de seringueira (*Hevea* spp.) no Brasil é de 168.848 ha (ABRAF, 2012), mas até o momento, a área plantada é insuficiente para abastecer o mercado interno de borracha natural. Outro produto importante da seringueira é a madeira devido as suas propriedades físicas apropriadas para o seu aproveitamento em vários usos. No Acre, a seringueira é cultivada desde a década de 1970 com os primeiros plantios experimentais, estabelecidos no final da década de 1970 seguido de plantios comerciais no início da década de 1980. O maior empreendimento em floresta plantada de seringueira no Acre foi aquele da Fazenda Bonal, localizada a margem da BR364, km74, município de Senador Guiomar, onde foram estabelecidas mais de 5.000.000 de árvores em Sistema Agroflorestal com a palmeira *Bactris gasipaes* Kunth para a produção de palmito de pupunha. Outros plantios em média escala e em pequena escala também foram realizados e ainda hoje produzem borracha e geram renda para os produtores rurais constituindo em evidencia de que é possível cultivar a seringueira no Acre. Um programa de fomento as florestas plantadas está em execução pelo Governo Estadual e tem permitido a ampliação da área cultivada com a seringueira principalmente em Sistemas Agroflorestais com plantas frutíferas, podendo ser computado aproximadamente mais 5000 ha de área plantada desde 2012. Dentre as doenças foliares que atacam a seringueira no campo, no Acre, o mal-das-folhas-da-seringueira causado por *Microcyclus ulei* Henn. Von (Arx) (anamorfo: *Pseudocercospora ulei* Kuyper) é a de maior importância, contudo, clones nitidamente resistentes a essa doença, são suscetíveis a antracnose-foliar ou antracnose. O primeiro surto da doença antracnose causando desfolha em seringueira, foi em 1987, no município de Porto Feliz, estado de São Paulo. Os fungos *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. e *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds atacam e são muito agressivos, às folhas da seringueira (BROWN; SOEPENA, 1994), sendo que, *Colletotrichum gloeosporioides* também ataca o painel de sangria, ramos e frutos no campo. As plantas infestantes que ocorrem nos plantios constituem em um fator biótico importante na redução do crescimento das plantas de seringueira e na produção de borracha devido a competição que estas plantas exercem no sistema de produção, principalmente por água e nutrientes. Outro fato importante é que algumas plantas podem constituir em fontes de inóculo de fitopatógenos contribuindo para a ocorrência de doenças na cultura principal existente na propriedade, ou ainda fornecem inóculo de forma cruzada entre si dificultando a percepção do alvo principal para o estabelecimento de medidas efetivas de controle (FREEMAN; SHABI, 1996; FREEMAN et al., 1996). Em muitos casos, a floresta de seringueira é estabelecida em local anteriormente utilizado para a pastagem ou em consórcio com a pastagem, ou ainda próximo a pastagem, para a diversificação de fontes de renda na propriedade rural, na qual, além da pecuária de corte ou de leite, o produtor passa a produzir borracha natural. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de *Colletotrichum gloeosporioides* em amostras de tecido foliar de *A. pinto* Krapov, *Stylosanthes capitata* Vogel e *S. macrocephala* M. B. Ferreira & Souza Costa cv. Campo Grande, *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth. e *Hevea brasiliensis* (Willd ex. A. Juss) Muel. Arg., coletadas no Acre, bem como avaliar a patogenicidade de *Colletotrichum* spp. de diferentes hospedeiros a 19 clones de *Hevea* spp..



## MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de folhas de plântulas de *Hevea brasiliensis* sob dossel de floresta plantada com essa espécie, de *Arachis pintoi*, de *Stylosanthes macrocephala* e de *Pueraria phaseoloides*, sendo 12 com sintomas e, 12 sem sintomas ou com poucos sintomas de mancha foliar, foram coletadas em Rio Branco, Bujari, Xapuri e Porto Acre e, transportadas ao Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Acre para processamento. As folhas foram lavadas com solução aquosa de detergente neutro e água.

Fragmentos com e sem sintomas de mancha necrótica com ca. de 5 mm x 5 mm foram recortados do limbo foliar e, em seguida, desinfestados com etanol 70%, por 60s, seguido da imersão em NaOCl a 12500 ppm de Cl<sub>2</sub> ativo por 180s, em câmara de fluxo laminar vertical. O excesso de NaOCl foi retirado dos tecidos com água destilada estéril, em três lavagens sucessivas. Os fragmentos foram semeados em meio BDA (batata dextrose ágar) + 100 ppm de cloranfenicol em placas de Petri. As placas foram armazenadas a 25 °C por até sete dias. Em seguida, lâminas de microscopia foram preparadas a partir de colônias fúngicas para a identificação dos fungos que se desenvolveram a partir dos tecidos. Os fungos identificados preliminarmente como *Colletotrichum* spp. foram purificados e 16 isolados obtidos das quatro espécies de plantas infestantes, sendo quatro isolados por espécie, foram armazenados pelo método Castalani. O estudo taxonômico para a identificação dos fungos foi realizado com características macro e micromorfológicas observadas em ensaios específicos como septação do micélio, cor das colônias, cor da massa de esporos, forma dos conídios, tamanho dos conídios e formação de apressórios após a germinação dos conídios seguido do cálculo do coeficiente de Jaccard e análise de agrupamento por UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages) dos dados no programa R versão 3.0.0. Para testar a patogenicidade de *Colletotrichum* spp., os isolados armazenados foram reativados em meio BDA a 25 °C e após sete dias em BOD, foram preparadas, separadamente, suspensões de esporos de 13 colônias esporulantes, para a inoculação. Para o preparo de inóculo, foi adicionada água destilada estéril sobre as colônias dos fungos e, com uma alça de Drigalsky, raspou-se o micélio e os esporos para dentro de um béquer esterilizado. Essa suspensão foi filtrada em gaze estéril para a obtenção de uma suspensão limpa, apenas com esporos do fungo, a qual foi calibrada. No mesmo dia, folhas verdes e tenras de 19 clones de seringueira previamente colhidas no Banco Ativo de Germoplasma da EMBRAPA, em Rio Branco, AC, foram preparadas para inoculação, cortando-se discos de 15 mm de diâmetro com furador de rolha flambado e esfriado. Os discos foram colocados em placas de Petri de 90 mm x 15 mm com papel filtro úmido e uma tela de polietileno para evitar o contato do disco com o papel molhado, sendo quatro discos por placa. Em cada placa, dois discos foliares foram inoculados pela deposição de uma gota de 30 µL de suspensão a 10<sup>5</sup> conídios/mL de cada isolado de *Colletotrichum* spp. utilizando-se uma pipeta automática e, nos outros dois discos da placa, foi depositada uma alíquota de mesmo volume de água destilada estéril. Este experimento constou de 247 parcelas (13 isolados x 19 clones de seringueira) armazenadas em BOD a 25 °C com fotoperíodo de 12h, em Delineamento Inteiramente ao Acaso. Oito dias após a inoculação foi feita avaliação do experimento e todas as 247 placas foram submetidas ao procedimento de reisolamento do fungo. Os fragmentos que foram inoculados com a suspensão de conídios foram lavados e desinfestados separadamente dos que receberam água destilada estéril. O processo de reisolamento foi o mesmo aplicado às amostras de campo. Quatro dias depois, realizou-se a avaliação das placas semeadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de *Colletotrichum* spp. em tecido foliar variou de acordo com a localidade de coleta, com o hospedeiro e com o estado sanitário do tecido vegetal na amostra laboratorial de semeio. No Acre, em trabalhos anteriores, foi mencionada a ocorrência de *Colletotrichum* spp. e antracnose em *Pueraria phaseoloides* (CARDOSO; VALENTIM, 1981) e *Stylosanthes guianensis* (VALENTIM et al., 2007), mas não em *S. macrocephala* ou *S. captata* (ANDRADE et al., 2010) ou em plântulas de seringueira sob floresta plantada desta espécie. A frequência do gênero *Colletotrichum* spp. foi de 28,4% de um total de 243 colônias crescidas a partir das amostras de tecido foliar dos diferentes hospedeiros. A frequência de fungos não identificados foi de 58% e a frequência de outros gêneros identificados foi de 15,2%. Além de *Colletotrichum* spp., outros fungos detectados e identificados em nível de gênero, foram *Fusarium* spp., *Ascochyta* spp. e *Pestalotiopsis* spp. O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* sensu lato (s.l.) é relatado em uma grande gama de hospedeiros e órgãos de plantas em diferentes famílias botânicas

(KAUFMANN; WEIDEMANN, 1996) e foi detectado nos quatro hospedeiros estudados neste trabalho. Além de doenças em árvores no campo, o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* causa manchas foliares e lesões nos ramos das plantas no jardim clonal, e pode causar a morte da placa do enxerto, na doença denominada cancro-do-enxerto (GONÇALVES et al., 2013) contribuindo para inviabilizar a produção das mudas na quantidade planejada para o ciclo de plantio.

Nas parcelas onde o fungo não foi inoculado, não houve sintomas de infecção e o fungo *Colletotrichum* spp. não estava presente no tecido do hospedeiro, enquanto que, nas parcelas inoculadas, alguns isolados causaram sintomas e outros não produziram sintomas no tecido do hospedeiro. O patógeno estava viável endofiticamente, o que foi comprovado no ensaio de reisolamento dos fungos a partir dos discos inoculados após o período de incubação.

Os resultados das inoculações mostraram que os isolados de *Colletotrichum* spp. oriundos das forrageiras e da seringueira foram patogênicos a seringueira de modo diferencial indicando possível controle genético da interação (Tabela 1). O cálculo de frequência de infecção mostrou que 15% dos isolados infectaram o clone CPAA C1 e 85% infectaram o clone CD1174. Observaram-se diferenças quanto ao tamanho de lesão (dados não obtidos). Até o presente trabalho não havia estudos da interação desses isolados de *Colletotrichum* spp. com esses clones de seringueira.

Tabela 1. Quadro de compatibilidade de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de seringueira e outros hospedeiros a clones de *Hevea* spp. considerando tecido foliar com e sem sintomas.

N	Clones de seringueira	Isolados de <i>Colletotrichum</i> spp.												
		1	3	4	5	6	7	8	10	11	12	13	14	15
1	A	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
2	B	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
3	C	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
4	D	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
5	E	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
6	F	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
7	G	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-
8	H	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
9	I	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
10	J	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
11	K	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+
12	L	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
13	M	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
14	N	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+
15	O	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
16	P	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
17	Q	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+
18	R	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
19	S	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+

A: CDC56, B: CDC312, C: CD1174, D:CPAA C01, E: CPAAC13, F: CPAAC15, G: CPAAC16, H: FDR4575, I:FDR5240, J: FDR5597, K: FDR5665, L: FDR5788, M:FDR5802, N: Fx3864, O: MDX607, P:MDX624, Q: MDF180, R: PMB01, S: RRIM600. *Arachis pintoi* (1: CMEA156, 2: CMEA157\*, 3: CMEA158, 4: CMEA159), *Stylosanthes* spp.: (5: CMEA160, 6: CMEA161, 7: CMEA162, 8: CMEA163), *Pueraria phaseoloides*. (9: CMEA164\*, 10: CMEA165, 11: CMEA166 e 12: CMEA167) e *H. brasiliensis* (13: CMEA168, 14: CMEA169, 15: CMEA170 e 16: CMEA171\*). \*: isolados não inoculados pela indisponibilidade de esporos.



## CONCLUSÕES

Conclui-se que o fungo *Colletotrichum* spp. está presente em plântulas de *Hevea brasiliensis* sob dossel de floresta plantada de seringueira e em plantas de *Pueraria phaseoloides*, *Stylosanthes* spp. e *Arachis pintoii* dentro ou próximo aos plantios de seringueira no Acre, permanecendo viável em tecido foliar com aparência sadia.

Isolados de *Colletotrichum* spp., inclusive a espécie *C. gloeosporioides* interagiram de modo diferencial com os clones de seringueira avaliados nesse estudo havendo clones com baixa frequência de resultados de compatibilidade patogênica e clones com alta frequência de resultados de compatibilidade patogênica.

A interação diferencial dos clones com isolados de *Colletotrichum* spp. obtida pela variação da frequência de infecção e pela variação de tamanho de lesão evidencia possível controle genético da interação patógeno-hospedeiro requerendo a ampliação de estudos de seleção com grande número de isolados do fungo e grande número de clones na fase de pré-seleção antes da implantação de testes clonais em escala local.

## AGRADECIMENTO(S)

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA.

À Plantações Michelin da Bahia Ltda.

Ao Centro de Cooperação Internacional para o Desenvolvimento, CIRAD.

À Família Radaeli.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq.

À Universidade Federal do Acre, UFAC.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Acre, FAPAC.

À Secretaria de Estado de Extensão Agroflorestal e Produção Familiar, SEAPROF-AC.



## REFERÊNCIAS

- ABRAF. Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. **Anuário Estatístico ABRAF 2013: ano base 2012**. Brasília, DF: ABRAF, 2013. 148p.
- ANDRADE, C. M. S. de; ASSIS, G. M. L. de; SALES, M. F. L. **Estilosantes campo grande: leguminosa forrageira recomendada para solos arenosos do Acre**. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2010. 12 p. (Embrapa Acre. Circular técnica, n. 55).
- BROWN, A. E.; SOEPENA, H. Pathogenicity of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* on leaves of *Hevea* spp. **Mycological Research**, New York, v. 98, n. 3, p. 264-266, Mar. 1994.
- CARDOSO, J. E.; VALENTIM, J. F. **Ocorrência de antracnose (*Colletotrichum* sp.) em pueraria na Amazônia**. Rio Branco, AC: Embrapa-UEPAE, 1981. 3 p. (Embrapa-UEPAE. Comunicado Técnico, n. 26).
- FREEMAN, S.; SHABI, E. Cross-infection of subtropical and temperate fruits by *Colletotrichum* species from various hosts. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 49, n. 6, p. 395–404, 1996.
- FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from avocado and almond fruits with molecular and pathogenicity tests. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington: DC, v. 62, n. 3, p. 1014–1020, Mar. 1996.
- GONÇALVES, R. C.; SÁ, C. P. de; DUARTE, A. A. F.; BAYMA, M. M. A. **Manual de heveicultura para a região sudeste do Estado do Acre**. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2013. 152 p. (Embrapa Acre. Documentos, n. 128).
- KAUFMANN, P. J.; WEIDEMANN, G. J. Isozyme analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* from five host genera. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n. 11, p. 1289–1293, 1996.
- VALENTIM, J. F.; ASSIS, G. M. L.; ANDRADE, C. M. S.; GONÇALVES, R. C.; BALZON, T. A. . Velocidade de estabelecimento de acessos de *Stylosanthes guianensis* nas condições edafoclimáticas do Acre. In: 44ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2007, Jaboticabal. **Anais da 44 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2007.

