

# INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO E DA TEMPERATURA SOBRE A INFECÇÃO DE *Phytophthora capsici* E DE *palmivora* MF1 EM SERINGUEIRA

Álvaro Figueredo dos Santos <sup>(1)</sup>

Kiyoshi Matsuoka <sup>(2)</sup>

Luiz Antônio Maffia <sup>(2)</sup>

Acelino Couto Alfenas <sup>(2)</sup>

**RESUMO:** Folíolos jovens e maduros, estes últimos previamente feridos, destacados dos clones Fx 3864 e Fx 2261 de seringueira, foram inoculados na face abaxial, com discos de papel de filtros embebidos em suspensões de  $3 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1,5 \times 10^5$  e  $2 \times 10^5$  zoósporos de *Phytophthora capsici*/ml. Em outra etapa desse trabalho, folíolos jovens e maduros foram inoculados com  $2 \times 10^5$  zoósporos de *P. capsici* ou *P. palmivora* MF1/ml e mantidos em incubadoras com diferentes temperaturas (16, 20, 24 e 28°C). Houve aumento da severidade da doença com o aumento da concentração de inóculo, observando-se maiores lesões com  $2 \times 10^5$  zoósporos/ml. A temperatura influenciou a infecção por *P. capsici* e *P. palmivora* MF1 em folíolos jovens e maduros de seringueira. Observaram-se maiores períodos de incubação (PI) e do período latente (PL) e maiores tamanho de lesão (TL) e esporulação nos folíolos mantidos a 24 e 28°C. Os mais longos PI e PL foram observados a 16°C, quando a colonização pelo patógeno foi lenta e a esporulação baixa. Em geral, *P. capsici* foi mais virulento que *P. palmivora* MF1.

**ABSTRACT:** Young and wounded mature leaflets detached from Fx 3864 and Fx 2261 rubber clones were inoculated at the abaxial surface with disc soaked in  $3 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1,5 \times 10^5$  and  $2 \times 10^5$  zoospores of *Phytophthora capsici*/ml. In another experiment, the leaflets were inoculated  $2 \times 10^5$  zoospores of *P. capsici* or *P. palmivora*/ml and incubated at 16, 20, 24 and 28°C. Increased disease severity was observed with increase of the inoculum concentration. The temperature influenced the infection by both species on either types leaflets. Smaller incubation (IP) and latent (LP) periods as well as bigger lesions and more sporulation on leaflets at 24 and 28°C were obtained. The longest IP and LP were observed at 16°C. At this temperature, slow colonization and spore production were detected. In general, *P. capsici* was more virulent than *P. palmivora*.

**Palavras chaves:** Seringueira, *Phytophthora*, temperatura, concentração de inóculo.

**Key words:** Rubber, *Phytophthora*, temperature, inoculum concentration.

## INTRODUÇÃO

*Phytophthora* spp. ocorre na maioria das regiões heveícolas, como Índia, Sri Lanka, Malásia, China, Tailândia e Indonésia (Wastie, 1976). No Brasil, causam danos de importância econômica apenas nos pólos baianos (Santos *et al.*, 1989). Dentre as três espécies patogênicas à

<sup>(1)</sup> Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental - CPAA/EMBRAPA, Cx. Postal 319, 69011-970, Manaus-AM.

<sup>(2)</sup> Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000, Viçosa-MG.

seringueira no Brasil, *P. capsici* Leonian, *P. palmivora* (Butler) Butler e *P. citrophthora* (Sm. & S.) Leonian, apenas as primeiras ocorrem na Bahia (Rao *et al.*, 1980; Santos, 1991). Pouco se sabe a respeito dos fatores que influenciam a interação *Phytophthora* - seringueira.

Neste trabalho, procurou-se determinar a influência da concentração de inóculo e da temperatura sobre a infecção de seringueira por *P. capsici* e por *P. palmivora* MF1. Procederam-se a estudos de concentração de inóculo apenas com *P. capsici*, em razão de sua predominância e da maior virulência, em relação a *P. palmivora* MF1 (Santos, 1991).

## MATERIAL E MÉTODOS

Influência da concentração de zoósporos de *Phytophthora capsici* na reação de clones de seringueira. Inoculou-se, separadamente, a face abaxial de folíolos jovens (7-8 dias após a emergência foliar) e maduros (55-60 dias após a emergência foliar) destacados dos clones Fx 3864 e Fx 2261. Os folíolos maduros foram previamente feridos com o auxílio de um conjunto de agulhas, resultando a região injuriada a ser inoculada numa área circular com diâmetro de 5mm. Na inoculação depositavam-se, sobre a superfície do folíolo, discos de papel de filtros com 5mm de diâmetro, embebidos em suspensões de  $3 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1,5 \times 10^5$  e  $2 \times 10^5$  zoósporos de *P. capsici*/ml. Após a inoculação e acondicionamento dos folíolos nas bandejas de vidro, cujo fundo havia sido forrado com papel Germiteste umedecido em água destilada, essas foram mantidas na temperatura ambiente até a avaliação. Inocularam-se 20 folíolos por tratamento.

Influência da temperatura sobre a reação de seringueira à *P. capsici* e à *P. palmivora* MF1. Folíolos jovens e maduros destacados do clone Fx 3864 foram inoculados, separadamente, na face abaxial com discos de papel de filtro embebidos em suspensão de *P. capsici* ou *P. palmivora* MF1, contendo  $2 \times 10^5$  zoósporos/ml, conforme metodologia anterior.

Após a inoculação e o acondicionamento dos folíolos em bandejas de vidro, essas foram colocadas em incubadoras em temperaturas de 16, 20, 24 e 28°C sob luz contínua até a avaliação. Utilizaram-se 20 folíolos por tratamento.

Quantificaram-se os seguintes componentes:

- **Período de Incubação (PI)** - tempo, em horas, desde a inoculação até o aparecimento dos sintomas em área pelo menos igual à inoculada com disco de papel embebido na suspensão de zoósporos.
- **Período Latente (PL)** - tempo, em horas, desde a inoculação até o aparecimento de 50% de lesões com esporângios. Considerou-se que cada ponto de inoculação resultou em apenas uma lesão.
- **Produção de Esporângios (PE)** - quantificada 72 horas após a inoculação. Os esporângios produzidos foram retirados, lavando-se os folíolos em 10ml de uma solução de álcool de 10%, com auxílio de um pincel. A suspensão obtida foi vertida em um béquer. Foram retiradas com pipetador automático, 20 amostras de 0,01ml para quantificação dos esporângios em microscópio. Na impossibilidade de serem avaliados imediatamente, as amostras foram mantidas em geladeira a 5-8°C até a contagem (Umaerus & Lihnel, 1976).
- **Tamanho de Lesão (TL)** - quantificado 72 horas após a inoculação. Para auxiliar a avaliação, utilizou-se uma escala diagramática com 6, 12, 18, 25, 50, 75 e 90% de área foliar lesionada (Santos, 1991).

## RESULTADOS

Influência da concentração de zoósporos de *Phytophthora capsici* na reação de clones de seringueira. Os resultados (Figura 1) mostram aumento no tamanho da lesão (TL) na face abaxial dos folíolos jovens e maduros dos clones Fx 3864 e Fx 2261 com o aumento da concentração de inóculo, atingindo valores máximos com  $2 \times 10^5$  zoósporos/ml.

Influência da temperatura sobre a reação de seringueira à *P. capsici* e à *P. palmivora*. Quando se inocularam *P. capsici* e *P. palmivora* MF1 em folíolos jovens e maduros, o período de

incubação foi menor em temperaturas elevadas (Quadro 1). Ele variou apenas de 48 a 68 horas, a 24 e 28°C.

Os maiores tamanhos de lesão (Figura 2A) foram verificados nos folíolos jovens e maduros inoculados com *P. capsici* e mantidos a 24 e 28°C. Os folíolos jovens inoculados com *P. capsici* e mantidos a 24 e 28°C apresentaram sintomas em toda área foliar 72 horas após a inoculação.

Em geral, a esporulação de *P. capsici* aumentou com a elevação da temperatura nos folíolos jovens e maduros (Figura 2B).

Verificaram-se, também, incrementos na área lesionada e na esporulação de *P. palmivora* MF1, em temperaturas consideradas ótimas, 24 e 28°C (Figuras 2C e 2D). Nas Figuras 2C e 2D, são apresentados os dados originais, pois, quando se submetem os dados de PE e TL à análise de regressão simples e quadrática, a equação selecionada para cada variável dependente, PE e PL, não proporcionou bom ajuste dos resultados.

QUADRO 1 - Período de Incubação (PI) e Período Latente (PL), em horas, de folíolos jovens e maduros de seringueira, inoculados com *P. capsici* e *P. palmivora* MF1, submetidos a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	<i>P. capsici</i>				<i>P. palmivora</i>			
	PI		PL		PI		PL	
	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro
16	50-72	72-77	90-116	96-116	80-96	90-96	90-120	96-110
20	58-50	50	72	72	77-90	66	96	75
24	30	30	48-50	48-50	30-40	30-40	48-68	50
28	30	30	48-50	48-50	30-44	30-40	50	50

## DISCUSSÃO

A concentração de inóculo relacionada com a intensidade de doença é relevante, sendo específica a cada combinação patógeno - hospedeiro (Fernandes, 1988), em razão, possivelmente, da relação entre o número de lesões formadas e o número de esporos depositados numa mesma área (Schein, 1964). Quanto à interação *P. capsici* - seringueira, as informações existente limitam-se, ao trabalho de Pereira *et al.* (1987).

Estudando a influência da concentração de zoósporos de *P. capsici* na severidade da doença em folíolos maduros dos clones Fx 2261 e Fx 3864 de seringueira, verificou-se que o tamanho da lesão, 72 horas após a inoculação, variou consideravelmente. Similarmente, em folíolos jovens de ambos os clones, verificou-se a importância da concentração de inóculo na severidade da doença, que atingiu maiores valores a  $2 \times 10^5$  zoósporos/ml. Em seringueira, Pereira *et al.*, (1987) demonstraram, também, esse aumento da severidade da doença com o aumento da concentração de zoósporos de *P. capsici*, e obtiveram os maiores valores com  $10^5$  zoósporos/ml.

Constatou-se efeito da temperatura pós-inoculação quanto à resposta de folíolos jovens e maduros de seringueira à *P. capsici* e *P. palmivora* MF1. Para ambas as espécies, encontraram-se menores PI e PL nos folíolos mantidos a 24 e 28°C. Desconhecem-se relatos anteriores sobre o efeito da temperatura nos sistemas *P. capsici* - *Hevea* e *P. palmivora* MF1 - *Hevea*. Em estudos "in vitro", o máximo de crescimento micelial destas espécies tem ocorrido nessa faixa de temperatura (Santos, 1991; Luz e Campelo, 1984). Peries (1969) relata que a temperatura ideal para a infecção de *P. meadii* em folhas e frutos de seringueira é de 28°C. No presente trabalho, a colonização e a esporulação de *P. capsici* ocorreram em faixa ampla de temperatura. Entretanto, o tamanho da lesão e a esporulação a 20°C foram inferiores aqueles verificados a 24 e 28°C. Em frutos destacados de cacau, Luz & Campelo (1984) verificaram, também, que *P. capsici* e *P. palmivora* MF1 esporularam mais a 25 e 27°C do que a 20°C.

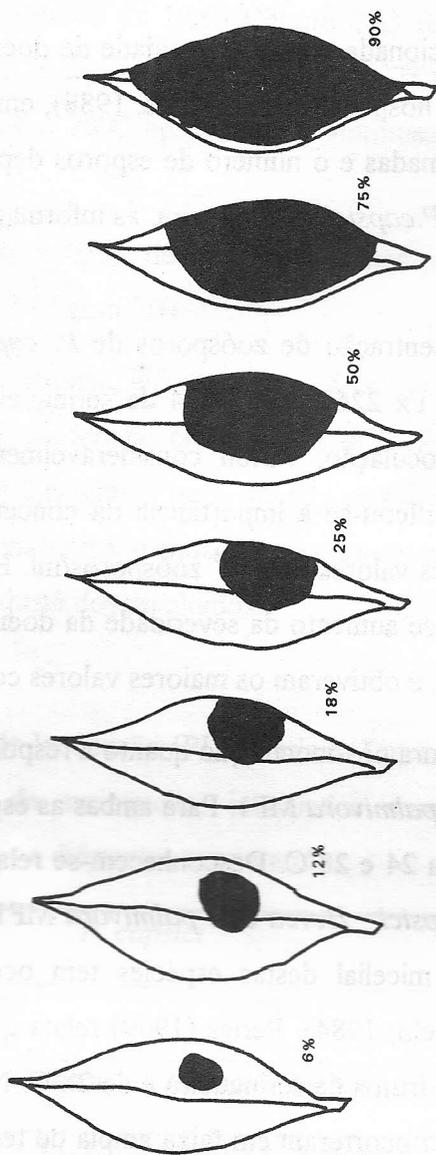
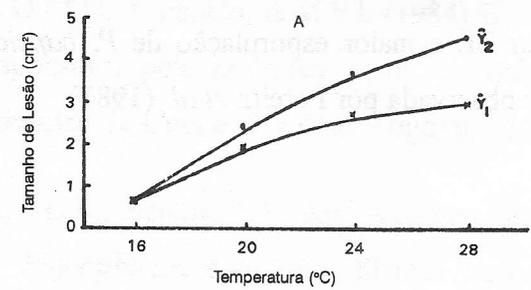
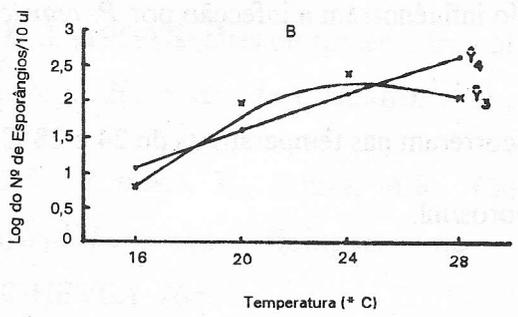
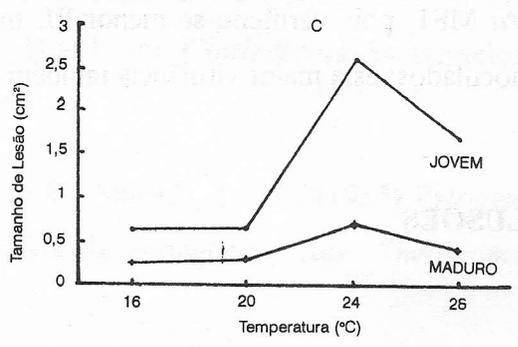


FIGURA 1 - Área lesionada em folíolos jovens (A) e maduros (B) dos clones Fx 3864 e Fx 2261 de seringueira, inoculados com diferentes concentrações de zoósporos de *P. capsici*.



$\hat{Y}_1 = -9,7522 + 0,91385 \cdot T - 0,016375 \cdot T^2 \quad R^2 = 0,83$  Jovem  
 $\hat{Y}_2 = -10,515 + 0,91776 \cdot T - 0,013516 \cdot T^2 \quad R^2 = 0,79$  Maduro



$\hat{Y}_3 = -11,341 + 1,1292 \cdot T - 0,023196 \cdot T^2 \quad R^2 = 0,87$  Jovem  
 $\hat{Y}_4 = -1,0499 + 0,13151 \cdot T \quad R = 0,71$  Maduro

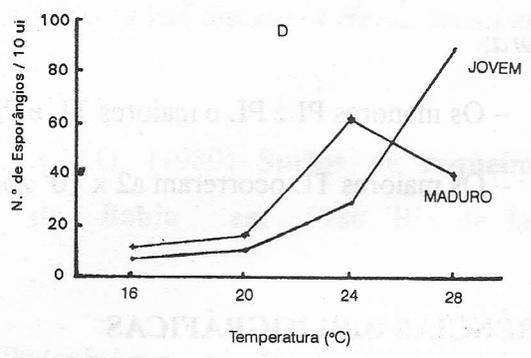


FIGURA 2 - Área lesionada e esporulação em folíolos jovens e maduros do clone Fx 3864 de seringueira, inoculados com *P. capsici* (A e B) e *P. palmivora* (C e D) e mantidos em diferentes temperaturas.

Há duas espécies de *Phytophthora* patogênicas à seringueira, *P. capsici* e *P. palmivora* MF1 (Santos, 1991), constatadas na Bahia, onde *P. capsici* tem sido mais comumente encontrada (Santos, 1991). Nessa região, Campelo & Luz (1981), Campelo (1980), Luz & Campelo (1983) verificaram que, dentre as espécies *P. capsici*, *P. palmivora* MF1 e *P. citrophthora*, *P. capsici* é a predominante, embora seja a menos virulenta (Luz, 1989) como agente causador da podridão parda do fruto do cacauzeiro. Esses autores atribuem essa predominância a maior capacidade de esporulação de *P. capsici* que de *P. palmivora* MF1 e *P. citrophthora* numa faixa mais ampla de temperatura. Esta hipótese pode ser válida, também, no patossistema *Phytophthora* - seringueira.

Nas condições deste trabalho, o isolado de *P. capsici* foi mais virulento do que o de *P. palmivora* MF1, pois verificou-se menor PI, maior TL e maior esporulação de *P. capsici* nos clones inoculados; esta maior virulência também foi observada por Pereira *et al.* (1987).

## CONCLUSÕES

- A temperatura e a concentração de inóculo influenciaram a infecção por *P. capsici* e *P. palmivora*;
- Os menores PI e PL e maiores TL e PE ocorreram nas temperaturas de 24 e 28°C.
- Os maiores TL ocorreram a  $2 \times 10^5$  zoosporos/ml.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Campelo, A.M.F.L. (1980) Species of *Phytophthora* from cacao - growing areas of Brazil. In: AM. MEETING ON *Phytophthora palmivora* ON CACAO, 13, Turrialba, CATIE. p. 3-4.
- Campelo, A.M.F.F., Luz, E.D.M.N. (1981) Etiologia da podridão parda do cacauzeiro nos Estados da Bahia e Espírito Santo, Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, v.6, p. 313-321.

- Fernandes, C.D. (1988) Efeito de fatores do ambiente e da concentração de inóculo sobre a cercosporiose do cafeeiro. UFV. 73 p. (Tese M.S.)
- Luz, E.D.M.N. (1989) The roles of five species of *Phytophthora* in infection and disease of roots, stems, and pods of *Theobroma cacao* L. University of Florida. 184 p. (Tese D.S.)
- Luz, E.D.M.N., Campelo, A.M.F.L. (1983) Temperatura, fator preponderante no equilíbrio populacional das espécies de *Phytophthora* que causam podridão parda do cacau na Bahia, Brasil. *Revista Theobroma*, v.13., p. 361-375.
- Luz, E.D.M.N., Campelo, A.M.F.L. (1984) Equilíbrio populacional das espécies de *Phytophthora* responsável pela podridão parda na Bahia, Brasil. In: **Conferência Internacional De Pesquisa de Cacau**, 9. Lomé. Togo. p. 279-286.
- Pereira, J.C.R., Santos, A.F. dos, Albuquerque, P.E.P., Almeida, L.C.C. (1987) Patogenicidade de *Phytophthora* spp. em plantas enviveiradas de seringueira. *Rev. Theobroma*, v.17, p. 261-266.
- Peries, O.S. (1969) Studies on epidemiology of *Phytophthora* leaf disease of *Hevea brasiliensis* in Ceylon. *J. Rubb. Res. Inst. Malaya*, v. 21., p. 73-78.
- Rao, B.S., Romano, R., Souza, A.R., Castro, A.M.G. (1980) Surtos de requeima de *Phytophthora* nos seringais do sul da Bahia em 1980. Rio de Janeiro: SUDHEVEA. 26 p.
- Santos, A.F. dos. (1991) Identificação de *Phytophthora* em *Hevea*, histopatologia e resistência do hospedeiro. 139 p. (Tese D.S.)
- Santos, A.F. dos, Pereira, J.C.R., Ferreira, F.A. (1989) Doenças da copa da seringueira causadas por *Phytophthora* spp. - requeira e queda anormal das folhas. In: Ferreira, F.A. (ed.). **Patologia Florestal - principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: SIF, p. 314-325.

- Schein, R.D. (1964) Leaf age and susceptibility. *Phytopathology*, v.53., p. 505-513.
- Umaerus, V., Lihnell, A. (1976) A laboratory method for measuring the degree of attack by *Phytophthora infestans*. *Potato Res.* v.19, p. 91-107.
- Wastie, R.L. (1975) Diseases of rubber and their control. *Pans*, v. 21, p. 268-288.

