



CAPTAR
ciência e ambiente para todos

volume 2 • número 3 • p 1-5

Incidência de podridão amarga em macieira e sua relação com danos de mosca-das-frutas

Onofre Berton*

A podridão amarga¹ causada pelo fungo *Colletotrichum* spp. é uma das mais importantes doenças de Verão na cultura da macieira no Sul do Brasil. Nesta região a ocorrência de verões quentes e úmidos são condições ideais para o desenvolvimento da podridão amarga e da mosca-das-frutas (*Anastrepha fraterculus*), que, se não forem devidamente controladas podem comprometer seriamente a produção de maçã. Perdas severas em pomares têm sido constatadas tanto pela doença quanto pela praga² isoladamente, entretanto a ocorrência de ambas não é rara, podendo implicar na perda total da produção. Pesquisas e observações ao longo dos anos têm demonstrado que a presença de ferimentos nos frutos favorece o estabelecimento e o rápido desenvolvimento da doença. São muitos os fatores envolvidos na produção de ferimentos nos frutos, desde muito pequenos até ao período de colheita. O presente trabalho procurou mostrar que a oviposição (*i.e.*, o acto de depositar os ovos) da mosca-das-frutas é um dos principais agentes causadores de ferimentos nos frutos e nesses ferimentos espécies de fungos como *Glomerella* e seus anamorfos³ *Colletotrichum*, mesmo em baixas concentrações de inóculo (quantidade de esporos do fungo que poderá causar uma infecção), se estabelecem e rapidamente se desenvolvem produzindo a podridão amarga nas maçãs.

Eng. Agr. Ph.D. Fitopatologista
Rua Adolfo F. Groth, 466 – Bairro DER
89500-000 Caçador, SC, Brasil.

Palavras-chave

podridão amarga
Colletotrichum spp.
mosca-das-frutas
produção de maçã

* Onofre berton@hotmail.com

ISSN 1647-323X

¹ Doença que pode ocorrer em qualquer fase de desenvolvimento das maçãs, sempre que houver condições favoráveis de temperatura e umidade. Os sintomas são manchas de coloração parda ou marron-clara iniciando com 2 a 3 mm de diâmetro evoluindo rapidamente e tomando conta de grandes áreas do fruto. Os frutos atacados caem com facilidade, sendo freqüente o apodrecimento em pré-colheita e durante o armazenamento.

² Doença refere-se aos efeitos adversos providados pelo microorganismos como fungos, bactérias, vírus, enquanto praga se refere aos agentes que causam danos físicos nas culturas, principalmente os insetos.

³ Anamorfos refere-se às formas imperfeitas dos fungos, ou seja, as formas que se desenvolvem sem a fusão dos núcleos.

INTRODUÇÃO

Uma das mais importantes doenças de Verão na cultura da macieira no Sul do Brasil é a podridão amarga causada pelo fungo *Colletotrichum spp* (Bleicher et al, 1986; Boneti et al, 1999).

Colletotrichum é um fungo capaz de atacar centenas de espécies e cultivares (variedade de qualquer gênero ou espécie vegetal superior⁴), conseqüentemente apresentando pouca ou nenhuma especificidade hospedeira (i.e. preferência do patógeno por uma determinada espécie) Já tem sido reportado que *Colletotrichum* pode infectar tecido sadio por penetração direta e esta deve ser a razão pela qual o fungo se dissemina em uma massa mucilaginosa capaz de conter concentração de inóculo suficiente para tal. Entretanto, essa forma de infecção parece ser rara na natureza pois a tendência da precipitação, pelo impacto das gotas é dividir a massa mucilaginosa a níveis de concentração insuficientes para causar penetração direta. Pesquisadores têm demonstrado que *Colletotrichum* é incapaz da causar penetração direta em concentrações até 10^3 esporos⁵ mL⁻¹ (Noe e Starkey, 1982). Havendo concentração de inóculo suficiente é preciso que haja também 10 ou mais horas de água livre sobre os tecidos vegetais. Assim, a conjugação desses dois fatores aliados à presença de tecido susceptível e temperatura favorável deverá produzir doença. Os fungos, de modo geral, necessitam calor e umidade para causar doença. No caso de *Colletotrichum* também tem sido demonstrado que é incapaz de causar doença em temperatura inferior a 15° C. Isto é válido para o processo doença como algo contínuo, envolvendo transferência de inóculo, penetração, incubação e manifestação dos sintomas e sinais. Em condições de campo é muito provável que *Colletotrichum* produza a maioria das infecções através de ferimentos. Isoladamente os esporos não dispõem de energia suficiente para romper a cutícula dos frutos. Observou-se que em muitos ciclos da cultura (período desde a brotação até a colheita em cada ano), a podridão amarga é incontrolável mesmo com aplicações frequentes de fungicidas. De forma semelhante, constatou-se um elevado número de períodos favoráveis e até críticos sem a ocorrência da doença (Berton, 2009). Para algumas doenças a presença de ferimentos parece ser a explicação plausível. Existem muitos agentes causais de ferimentos em maçã durante o ciclo da cultura. Mosca-das-frutas e ácaros podem ser considerados os mais importantes causadores deste tipo de danos. Ensaio de laboratório têm demonstrado a correlação positiva entre podridão amarga e a presença de mosca-das-frutas. O controle adequado de pragas, principalmente de moscas-das-frutas tem sido diretamente relacionado ao controle de algumas doenças. Para se conseguir frutos de qualidade com pouca ou nenhuma incidência de podridões o controle de insetos precisa ser eficiente.

O presente trabalho pretendeu demonstrar que no caso específico da doença podridão amarga na maçã, a ocorrência simultânea de mosca-das-frutas e de fungos responsáveis pela doença aumenta a incidência do número de frutos infectados. É colocada a hipótese de que o ferimento produzindo no fruto pela mosca-das-frutas favorece a penetração do fungo, permitindo o desenvolvimento da doença baixas concentração de inóculos.

⁴ Cultivare refere-se à variedade de qualquer gênero ou espécie vegetal superior

⁵ Os esporos constituem a unidade de reprodução de fungos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos descritos neste trabalho foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Estação Experimental de Caçador/Epagri, Caçador, SC, Brasil entre os anos de 2004 e 2007. As determinações realizadas com a mosca-das-frutas foram feitas com 10 fêmeas da espécie *Anastrepha fraterculus*, selecionadas ao acaso de um grupo de exemplares do Laboratório de Entomologia da Estação Experimental de Caçador/Epagri. Os aparelhos ovipositores de cada mosca foram retirados e em cada um foram realizadas medições de comprimento e diâmetro ao microscópio óptico (Olympus).

Para os estudos com frutos foram utilizados frutos jovens e maduros selecionados ao acaso. Frutos jovens foram coletados diretamente no pomar e frutos maduros foram obtidos das cultivares Gala e Fuji, retirados da câmara fria, desinfetados com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5% e lavados a seguir com água destilada esterilizada e colocados para secar sobre papel toalha. O inóculo foi obtido a partir de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes das cultivares Fuji, Granny Smith e Duquesa apresentando sintomas típicos de podridão amarga, coletados nos pomares da Estação Experimental. Os isolados de interesse foram então produzidos em cultura pura em placas de petri contendo BDA (meio de cultura contendo batata, dextrose e Agar) e mantidas em câmaras de crescimento BOD (do inglês *biological oxygen demand* – câmara de crescimento com temperatura e luz controladas automaticamente) sob regime de 12:12 h luz:escuro, durante 14 dias. Os isolados foram removidos das placas por raspagem e água destilada esterilizada e filtrados em papel de filtro. Em cada experimento a concentração de esporos foi ajustada para diferentes concentrações utilizando a câmara de Neubauer com contagens de no mínimo 3 repetições. A inoculação nos frutos foi feita na região equatorial dos mesmos com auxílio de um estilete de aço inox de 1 mm de diâmetro e 3 mm de comprimento, sem ponta. Nos frutos com ferimentos, a inoculação foi realizada logo após as perfurações, mergulhando um pequeno pincel de pelo de camelo na suspensão de conídios (esporos) e aplicando na superfície perfurada. Nos frutos sem ferimentos, a aplicação do inóculo também foi efectuada na região equatorial (sem ferimento) utilizando procedimento descrito anteriormente. Para cada tratamento realizaram-se no mínimo 8 réplicas. De seguida, os frutos foram acondicionados em sacos de plásticos previamente umedecidos e transferidos para uma incubadora ajustada para 25° C e fotoperíodo de 12:12 h luz:escuro, durante um período de 14 dias. As avaliações constaram de número de pontos inoculados com e sem ferimentos que desenvolveram a doença e diâmetro das lesões onde houve desenvolvimento da doença nos pontos inoculados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As medições realizadas no aparelho ovipositor dos exemplares de mosca-das-frutas analisados permitiram obter médias de 0,797 mm de comprimento e 0,130 mm de diâmetro. Com esses dados foi possível determinar a área da abertura produzida na epiderme de uma maçã por ocasião de uma postura realizada pela mosca, com um valor de 0,03698 mm² (Figura 1).

Os conídios de *C. gloeosporioides* medem entre 2,5 a 4,0 µm (Figura 2). Assim, em uma abertura produzida pela mosca-das-frutas (visualizada como um círculo na Figura 1) poderiam caber em média entre 2958 e 7668 conídios. De acordo com Noe e Starkey (1982) não há infecção em tecido sadio para concentrações até 10³ esporos mL⁻¹. Segundo Kaul e Munjal (1981) *G. cingulata* pode infectar também frutos intactos, mas

não menciona a concentração de inóculo necessária. Em relação à presença de ferimentos há poucos estudos que mostram essa relação. Denardi et al. (2003) constataram que a agressividade é maior e a evolução da doença é mais rápida em frutos com ferimentos. Torna-se simples deduzir que em presença de ferimentos a infecção é indubitavelmente alcançada com um pequeno número de conídios viáveis, à semelhança da transferência realizada em laboratório, em placas contendo meio de cultura quando se utiliza a ponta de uma agulha histológica.

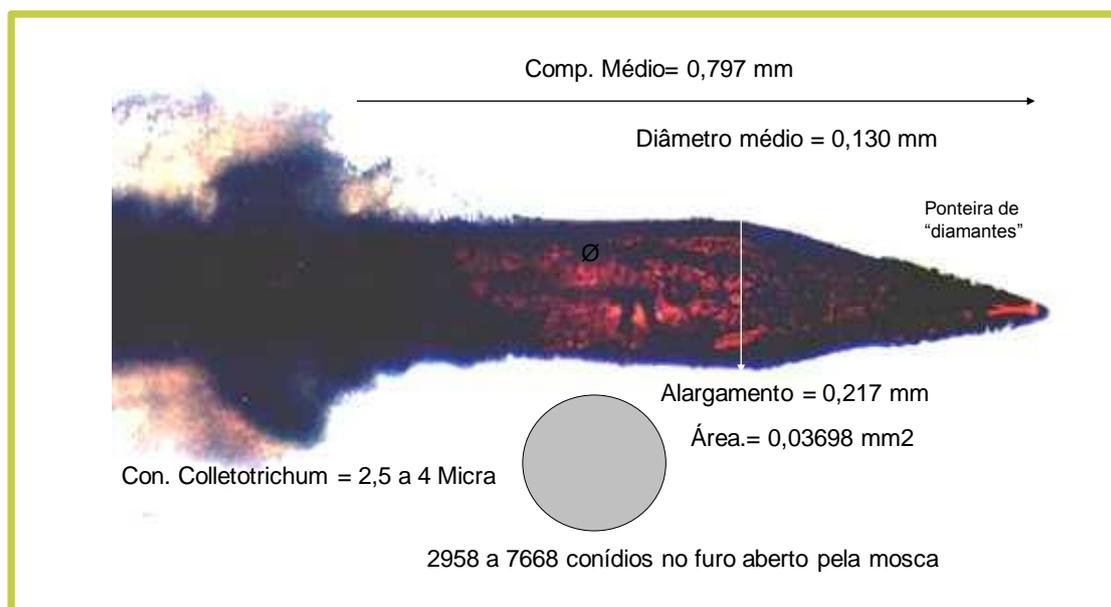


FIGURA 1: Aparelho ovipositor da mosca-das-frutas (M.O. 400 X). O termo Con. *Colletotrichum* refere-se a conídios de *Colletotrichum*.

A sequência de experimentos de laboratório nos quais se utilizou diferentes concentrações de inóculo de *C. gloeosporioides* em frutos de diferentes cultivares de maçã com e sem ferimentos mostraram que o fungo causador da podridão amarga requer ferimentos para causar a doença, mesmo mantendo todas as condições favoráveis ao patógeno. Na Figura 3 pode-se observar frutos de Gala inoculados com 5×10^5 esporos mL^{-1} com e sem ferimentos. Frutos sem ferimentos simplesmente não desenvolveram a doença. De forma semelhante, em frutos maduros utilizou-se 500×10^3 esporos $\times \text{mL}^{-1}$ e 3200×10^3 esporos $\times \text{mL}^{-1}$ em que frutos sem ferimentos não apresentaram a doença (Figura 4). Tanto em frutos jovens quanto em frutos maduros houve desenvolvimento de 100% das lesões quando as inoculações foram feitas após o ferimento.



FIGURA 2: Conídios de *Colletotrichum gloeosporioides* (dimensões: 2,5 a 4,0 μm) (M.O. 400 X).



FIGURA 3: Frutos jovens, entre 3 e 5 cm de diâmetro inoculados com 5×10^5 esporos.mL⁻¹ de *C. gloeosporioides* com fermentos (CF - esquerda) e sem fermentos (SF - direita). Na figura a seta amarela indica o local de ferimento, isto é onde se iniciou a infecção.

Outros autores, obtiveram resultados semelhantes para o fungo *Botryosphaeria dothidea* causador da podridão branca e da podridão negra em diferentes cultivares de maçã (Santos et al, 2008). No campo tem-se encontrado enormes diferenças na incidência de doenças por esses dois patógenos, dificultando o estabelecimento de sistemas de previsão que usam como parâmetros os períodos com número de horas de molhamento e a temperatura média desses períodos (Berton, 2009). O autor encontrou resultados de incidência nula da doença para *B. dothidea* apesar do número elevado de períodos favoráveis e críticos baseados em Parker e Sutton (1993).

Em contrapartida sabe-se da variabilidade de espécies de *Colletotrichum* tanto em patogenicidade quanto em virulência (capacidade de causar doença) decorrentes de diferenças morfológicas e genéticas (Gonzales & Sutton, 2004). Wallace et al (1962) constataram que *G. cingulata* foi de baixa virulência quando comparado com outros fungos fitopatogênicos na cultura da macieira. Mais tarde concluíram que a



FIGURA 4: Frutos maduros da cultivar Gala inoculados com 500×10^3 e 3200×10^3 esporos x mL⁻¹ com (esquerda, em cada fotografia) e sem (direita em cada fotografia) fermentos

baixa virulência era devido a níveis baixos de produção de enzimas pectolíticas⁶ extracelulares pelo fungo e que altas concentrações de inóculo eram requeridas para se conseguir altas taxas de desenvolvimento de lesões sobre frutos maduros em laboratório.

Não é possível descartar a possibilidade de espécies de *Colletotrichum* causarem doença na ausência de fermentos, entretanto, o que se quer ressaltar é que o rápido desenvolvimento de lesões de podridão amarga em campo e ocorrência de epidemias, ainda que, na maioria das vezes em áreas restritas, está indubitavelmente associado à presença de agentes causadores de fermentos nos frutos, dentre os quais destaca-se a mosca-das-frutas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Berton O. (2009). Cancros de ramos e outras doenças causadas por *Botryosphaeria* spp na cultura da macieira. Epagri. Florianópolis, SC. 51 pp. (Epagri. Boletim Técnico, 147).
- Bleicher J, Melzer R, Berton O, Boneti JIS, Driessen AC (1986). Doenças da Macieira In: Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária, Manual da cultura da macieira. Florianópolis, SC. 562 pp.
- Boneti JIS, Ribeiro LG, Katsurayama Y. (1999). Manual de identificação de pragas e doenças da macieira. Epagri. Florianópolis, SC. 149 pp.
- Denardi F, Berton O, Spengler MM. (2003). Resistência genética à podridão amarga em maçãs determinada pela taxa de desenvolvimento da doença em frutos com e sem fermentos. *Revista Brasileira de Fruticultura* 25 (3): 494-497.
- Gonzales E, Sutton TB (2004). Population Diversity within isolates of *Colletotrichum* spp. Causing *Glomerella* leaf spot and bitter rot of apples in three orchards in North Carolina. *Plant Disease* 88:1335-1340.
- Kaul JL, Munjal RL. (1981). Mode of entry, post infection, and histopathological changes in apple fruits due to rot causing fungal pathogens. *Gartenbauwissenschaft*. 46: 55-58
- Noe JP, Starkey TE. (1982). Relationship of apple fruit maturity and inoculum concentration to infection by *Glomerella cingulata*. *Plant Disease* 66: 379-381.
- Parker KC, Sutton, TB. (1993). Effect of temperature and wetness duration on apple fruit infection and eradicant activity of fungicides against *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Disease* 77: 181-185.
- Santos J P, Corrent AR, Berton O, Schwarz LL, Denardi F.(2008). Incidência de podridão branca em frutos de macieira com e sem fermentos. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30, n.1:118-121.
- Wallace JK, Willian EB. (1962). Production of extracellular enzymes by four pathogens of apple fruit. *Phytopathology* 52: 1004-1009.

⁶ Enzimas pectolíticas consistem em agentes químicos formados por proteínas que possuem a capacidade de desintegrar tecidos de plantas