

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NATASHA AKEMI HAMADA

EPIDEMIOLOGIA DA MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA EM MACIEIRA.

CURITIBA

2013

NATASHA AKEMI HAMADA

EPIDEMIOLOGIA DA MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA EM MACIEIRA.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, Área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof. Dr^a. Louise Larissa May De Mio

CURITIBA

2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL



PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a argüição da Tese de DOUTORADO, apresentada pela candidata **NATASHA AKEMI HAMADA**, sob o título **"EPIDEMIOLOGIA DA MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA EM MACIEIRA"**, para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata são de parecer pela **"APROVAÇÃO"** da Tese.

Curitiba, 18 de Fevereiro de 2013.

Professora Dra. Louise Larissa May De Mio
Coordenadora do Programa

Dr. Rui Pereira Leite Junior
Primeiro Examinador

Dr. Nilceu Ricetti Xavier de Nazareno
Segundo Examinador

Professora Dra. Luciene Martins Moreira
Terceira Examinadora

Professor Dr. Armando Bergamin Filho
Quarto Examinador

Professora Dra. Louise Larissa May De Mio
Presidente da Banca e Orientadora

Aos meus pais, Francisco e Maria Cristina, e ao meu noivo Wagner,
pelo amor e apoio em todos os momentos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar forças nos momentos mais difíceis e por me proporcionar momentos muito felizes ao longo do período de realização deste trabalho.

Aos meus pais, que sempre me apoiaram e me incentivaram ao longo de minha vida.

Aos meus irmãos Rafael e Mônica pela amizade e interesse em meu trabalho.

À professora Louise Larissa May De Mio pelos ensinamentos, orientação, dedicação, amizade e oportunidades proporcionadas.

Aos produtores Paulo Cosmo e Luiz Filipe Cosmo por cederem a área experimental para realização deste trabalho e apoio em todos os momentos.

Ao encarregado Fernando pelo importante auxílio na realização das atividades de campo.

À Lucimara, secretária do PGAPV, por todo o auxílio nestes quatro anos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – UFPR, área de concentração em Produção Vegetal.

Aos integrantes da banca de pré-defesa, Dr. Armando Bergamin Filho, Dr. Álvaro Figueredo dos Santos e Dr. Marcos A. Dolinski, pelas considerações.

À Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, por me proporcionar a realização deste curso.

À Fundação Araucária, pelo financiamento para a realização deste trabalho.

Ao Instituto Federal do Paraná – IFPR por permitir que eu conciliasse a realização deste trabalho com minhas funções docentes no Câmpus Palmas.

Ao Instituto Tecnológico SIMEPAR pela pronta disponibilização dos dados meteorológicos.

Aos membros da comissão examinadora, Dr. Armando Bergamin Filho, Dr. Rui Pereira Leite, Dr. Nilceu Ricetti X. Nazareno e Dra. Luciene Moreira, pela disponibilidade e auxílio no aperfeiçoamento dos dados aqui apresentados.

A todos os estagiários que auxiliaram nas atividades de campo e de laboratório, em especial ao Carlos A. M. Almeida e Flávia Ayduki.

A todos os amigos com os quais convivi neste período, em especial Ana Cláudia, Hágata, Rafaele, Giselda, Luciane Bertolotti, Marcos, Gabriel, Renato, Fernando, Leonardo, Paulo L., Josiane F. e Juliana Marta.

Ao Cristiano Nesi, pela amizade e apoio na realização das análises estatísticas.

Às laboratoristas do LEMID, Natália e Carol, pelo apoio.

Agradecimento especial ao meu noivo Wagner, pelos incontáveis finais de semana no campo e no laboratório, apoio e incentivo mesmo naqueles momentos em que nada parecia dar certo, interesse em meu trabalho e determinação.

A todos que, mesmo não citados aqui, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

RESUMO

A Mancha Foliar de *Glomerella* (MFG) é causada por espécies de *Colletotrichum* e é a principal doença de verão da cultura da macieira, ocasionando sintomas em folhas e frutos e prejudicando a produção do ano subsequente à sua ocorrência devido à intensa desfolha que provoca nas plantas. Os objetivos deste trabalho foram (I) verificar as fontes de inóculo primário existentes em um pomar com alta pressão de inóculo, (II) monitorar a densidade de conídios de *Colletotrichum* spp. disseminados pelo ar e pela água em diferentes alturas da planta, em áreas sem e com tratamento químico, e verificar se ocorre a dispersão dos conídios por insetos-praga da cultura e (III) verificar a época de início da epidemia, o progresso da doença e a relação entre a severidade da MFG com a desfolha das plantas, de acordo com a localização das folhas no dossel. Para avaliação da sobrevivência do patógeno no outono e no inverno, coletas mensais de ramos e gemas dormentes, folhas caídas e de solo foram realizadas entre os meses de abril e agosto, e para avaliação da sobrevivência do patógeno de forma epifítica, coletas mensais de folhas assintomáticas foram realizadas entre setembro e março, durante dois anos. A patogenicidade dos isolados foi verificada em frutos com e sem ferimento e em folhas. A densidade de conídios de *Colletotrichum* spp. ao longo do tempo foi determinada pela coleta destes com armadilhas caça-esporos instaladas a 0,3, 1,0 e 2,5 m de altura em relação ao solo e com a coleta do escorrimento interno de água na planta a 0,3 e 1,0 m de altura em relação ao solo. Insetos-praga da cultura (*Grapholita molesta* e *Bonagota cranaodes*) foram coletados quinzenalmente para verificação da presença do patógeno externamente a estes. A incidência, severidade e desfolha ocasionada pela MFG foram quantificadas em 10 folhas por ramo, posicionados a 0,3, 1,0 e 1,8 m de altura em relação ao solo. Detectou-se a presença de inóculo do patógeno no outono/inverno em ramos e gemas dormentes e em folhas caídas no solo, sendo que o número de isolados e sua patogenicidade variou de acordo com o órgão vegetal de origem e o ano de obtenção. Em nenhum momento foi observada a presença de *Colletotrichum* spp. no solo durante o período de outono/inverno, e em folhas assintomáticas durante o período vegetativo. A disseminação de conídios de *Colletotrichum* spp. foi observada a partir dos meses de outubro e novembro em áreas sem tratamento e a partir dos meses de novembro e janeiro em áreas com tratamento, cessando em meados do mês de abril. A maior densidade de conídios foi observada nos meses de janeiro e fevereiro, independentemente do manejo fitossanitário. Em ano com maior pressão de inóculo a aplicação de fungicidas não foi capaz de reduzir a área abaixo da curva calculada a partir da quantidade de conídios ao longo do tempo. A maior captura de conídios ocorreu próximo ao solo e a presença destes foi constatada tanto no ar quanto no escorrimento de água no interior da planta. Não foram observados conídios de *Colletotrichum* spp. em *G. molesta* e *B. cranaodes*. A quantidade de sintomas de MFG foi altamente dependente das condições ambientais observadas, principalmente a quantidade de precipitação e a umidade relativa do ar, havendo correlação positiva entre a severidade imediatamente anterior a queda e o tempo de permanência da folha na planta para todas as alturas avaliadas. A desfolha mostrou-se mais acentuada nas partes altas do dossel das plantas.

Palavras-chave: *Colletotrichum* spp. Sobrevivência. Disseminação. Progresso temporal.

EPIDEMIOLOGY OF GLOMERELLA LEAF SPOT ON APPLE

ABSTRACT

Glomerella Leaf Spot (GLS) is caused by *Colletotrichum* spp. and is the main summer disease of apple, causing symptoms on leaves and fruits and affecting the production of the subsequent year due to severe defoliation often plants. The aims of this study were (I) verify the sources of primary inoculum in the orchard with high inoculum pressure, (II) monitoring the conidia density of *Colletotrichum* spp. disseminated by air and water at different heights of the plant, in areas with and without chemical treatment, and verify that the dispersal of conidia occurs by insects of crop, (III) verified the time of epidemic onset, the disease progress and the relation between the severity of GLS with the plant defoliation, according to the position of leaves in the canopy. To evaluate the survival of the pathogen in the autumn and winter, monthly collections of dormant twigs and buds, falling leaves and soil were carried out between April and August, and to evaluate the epiphytic survival of the pathogen, asymptomatic leaves were collected between September and March, for two years. The pathogenicity of the isolates was verified at fruits with and without injury and at leaves. The conidia density of *Colletotrichum* spp. over time was determined by collection of these with spore traps placed at 0.3, 1.0 e 2.5 m of height above the ground and by collecting the runoff water inside the plant at 0.3 and 1.0 m of height above the ground. Insect pests of crop (*Grapholita molesta* and *Bonagota cranaodes*) were collected every two weeks to determine the presence of conidia often to them. Incidence, severity and defoliation caused by GLS were quantified based on evaluation of 10 leaves per branch, at 0.3, 1.0 and 1.8 m of height above the ground. The presence of the pathogen in the autumn/winter was observed in dormant twigs and buds and in fallen leaves on the ground. The number of isolates and their pathogenicity varied according to the plant part and season. Absence of *Colletotrichum* spp. at the ground during the autumn/winter and at asymptomatic leaves during the growing season was noticed. The conidia dissemination of *Colletotrichum* spp. was observed from October and November in untreated areas and from November and January in treated areas, stopping in mid-April. The highest conidia density was observed at January and February, regardless of pest management. At high inoculum pressure the fungicide was not able to reduce the area under the amount of conidia over time curve. Most conidia capture occurred near the ground and their presence was observed in both, air and water runoff inside the plant. There were no *Colletotrichum* spp. conidia at *G. molesta* and *B. cranaodes*. The amount of symptoms was dependent of the environmental conditions, especially the amount of precipitation and relative humidity of air. There was a positive correlation between the disease severity immediately preceding the fall and the leaf time permanence at the plant for all heights evaluate. Defoliation was more pronounced at upper positions at the plant canopy.

Key words: *Colletotrichum* spp. Survival. Dissemination. Temporal progress.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 ORIGEM E CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA MACIEIRA.....	4
2.2 A CULTURA DA MACIEIRA NO BRASIL	4
2.3 A MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA.....	5
2.4 ETIOLOGIA.....	8
2.5 CICLO DA RELAÇÃO PATÓGENO HOSPEDEIRO	10
3 CAPÍTULO I - SOBREVIVÊNCIA E PATOGENICIDADE DE <i>Colletotrichum</i> spp. ASSOCIADO A MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA EM MACIEIRA. .	15
3.1 RESUMO.....	15
3.2 ABSTRACT	16
3.3 INTRODUÇÃO	17
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.4.1 Área de estudo	18
3.4.2 Sobrevivência de <i>Colletotrichum</i> spp. no outono/ inverno.....	19
3.4.3 Sobrevivência de <i>Colletotrichum</i> spp. no período vegetativo	20
3.4.4 Patogenicidade dos isolados	21
3.5 RESULTADOS	22
3.5.1 Sobrevivência de <i>Colletotrichum</i> spp. no outono/ inverno.....	22
3.5.2 Sobrevivência de <i>Colletotrichum</i> spp. no período vegetativo	22
3.5.3 Patogenicidade dos isolados	23
3.6 DISCUSSÃO	24
3.7 CONCLUSÃO	28
3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
4 CAPÍTULO II - MONITORAMENTO DA QUANTIDADE E DISPERSÃO DO INÓCULO DE <i>Colletotrichum</i> spp. ASSOCIADO A MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA, EM MACIEIRA.	36
4.1 RESUMO.....	36
4.2 ABSTRACT	37

4.3 INTRODUÇÃO	38
4.4 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.4.1 Área de estudo	39
4.4.2 Dispersão dos conídios pelo ar	41
4.4.3 Dispersão dos conídios pelo escorrimento no interior da planta	42
4.4.4 Disseminação de conídios por insetos.....	42
4.4.5 Análise dos dados	43
4.5 RESULTADOS	43
4.5.1 Dispersão dos conídios pelo ar	44
4.5.2 Dispersão dos conídios pelo escorrimento no interior da planta	45
4.5.3 Disseminação de conídios por insetos.....	46
4.6 DISCUSSÃO	46
4.7 CONCLUSÃO	49
4.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
5 CAPÍTULO III - PROGRESSO TEMPORAL DA MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA EM MACIEIRA EM DIFERENTES POSIÇÕES DA COPA, RELACIONADO A DESFOLHA DA PLANTA.	60
5.1 RESUMO.....	60
5.2 ABSTRACT	61
5.3 INTRODUÇÃO	62
5.4 MATERIAL E MÉTODOS	63
5.4.1 Área de estudo	63
5.4.2 Análise dos dados	65
5.5 RESULTADOS	66
5.6 DISCUSSÃO	68
5.7 CONCLUSÃO	73
5.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
6 CONCLUSÕES GERAIS	88
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
REFERÊNCIAS GERAIS	90
APÊNDICES	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sintomas de Mancha Foliar de *Glomerella* em folhas (A) e em frutos (B) de macieira da cv. Gala (*Malus domestica*). Fotos: HAMADA, N.A. 7

CAPÍTULO II

Figura 1 – Número de conídios de *Colletotrichum* spp. coletados com diferentes modelos de armadilhas caça-esporos posicionadas a 0,3, 1,0 e 2,5 m de altura em relação ao solo, leitura na área de uma lâminula 18 x 18 mm (A), concentração de conídios observada no escoamento de água na parte interna da planta, capturado em tubos Eppendorf a 0,3 e 1,0 m de altura em relação ao solo (B), precipitação (mm) e umidade relativa do ar média (UR%) (C), temperaturas (T) máxima, média e mínima (D) observadas em um pomar comercial do município de Campo Largo/PR (Área 1). Dados semanais das safras 2009/10 e 2010/11, as barras na parte superior da figura indicam o período vegetativo da cultura (setembro a abril)..... 57

Figura 2 – Número de conídios de *Colletotrichum* spp. coletados com diferentes modelos de armadilhas caça-esporos posicionadas a 0,3, 1,0 e 2,5 m de altura em relação ao solo, leitura na área de uma lâminula 18 x 18 mm (A), concentração de conídios observada no escoamento de água na parte interna da planta, capturado em tubos Eppendorf a 0,3 e 1,0 m de altura em relação ao solo (B), precipitação (mm) e umidade relativa do ar média (UR%) (C), temperaturas (T) máxima, média e mínima (D) observadas em um pomar comercial do município de Campo Largo/PR (Área 2). Dados semanais das safras 2010/11 e 2011/12, as barras na parte superior da figura indicam o período vegetativo da cultura (setembro a abril)..... 58

Figura 3 - Número de conídios de *Colletotrichum* spp. coletados com diferentes modelos de armadilhas caça-esporos posicionadas a 0,3, 1,0 e 2,5 m de altura em relação ao solo, leitura na área de uma lâminula 18 x 18 mm (A), concentração de conídios observada no escoamento de água na parte interna da planta, capturado em tubos Eppendorf a 0,3 e 1,0 m de altura em relação ao solo (B), precipitação (mm) e umidade relativa do ar média (UR%) (C), temperaturas (T) máxima, média e mínima (D) observadas em um pomar experimental (Área 3), no município de Pinhais/PR. Dados semanais das safras 2009/10 e 2010/11, as barras na parte superior da figura indicam o período vegetativo da cultura (setembro a abril). 59

CAPÍTULO III

- Figura 1 – Curvas do modelo logístico ajustado aos dados de incidência da Mancha foliar de *Glomerella* em ramos altos (A), médios (B) e baixos (C), e severidade da Mancha Foliar de *Glomerella* em ramos altos (D), médios (E) e baixos (F). Número de folhas ao longo do tempo em ramos altos (G), médios (H) e baixos (I). Avaliação de 5 ramos com 10 folhas cada um, por altura. Avaliações realizadas na safra 2010/11 em um pomar comercial (A1) no município de Campo Largo/ PR. Início das avaliações em 01/11/2010. 85
- Figura 2 – Curvas do modelo logístico ajustadas aos dados de incidência da Mancha foliar de *Glomerella* em ramos altos (A), médios (B) e baixos (C), e severidade da Mancha Foliar de *Glomerella* em ramos altos (D), médios (E) e baixos (F). Número de folhas ao longo do tempo em ramos altos (G), médios (H) e baixos (I). Avaliação de 5 ramos com 10 folhas cada um, por altura. Avaliações realizadas na safra 2010/11 em um pomar comercial (A2) no município de Campo Largo/ PR. Início das avaliações em 01/11/2010. 86
- Figura 3 – Curvas do modelo logístico ajustadas aos dados de incidência da Mancha foliar de *Glomerella* em ramos altos (A), médios (B) e baixos (C), e severidade da Mancha Foliar de *Glomerella* em ramos altos (D), médios (E) e baixos (F). NNúmero de folhas ao longo do tempo em ramos altos (G), médios (H) e baixos (I). Avaliação de 5 ramos com 10 folhas cada um, por altura. Avaliações realizadas na safra 2011/12 em um pomar comercial (A2) no município de Campo Largo/ PR. Início das avaliações em 14/11/2011. 87

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1 – Tratamento fitossanitário visando o controle da mancha foliar de *Glomerella* (MFG) realizado em duas áreas (A1 e A2) de um pomar comercial no município de Campo Largo/PR, de acordo com o número de pulverizações e modo de ação dos fungicidas¹, e tratamentos cúpricos com sulfato de cobre e hidróxido de cobre². Safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12.....32
- Tabela 2 – Estádio fenológico (EF)¹ e número de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos a partir de gemas dormentes, ramos dormentes e de folhas caídas no período do inverno, de macieiras da cv. Gala, e a partir do solo correspondente à região de projeção da copa das árvores. Materiais coletados² em duas áreas comerciais (A1 e A2) no município de Campo Largo/ PR, nos anos de 2010, 2011, 2012.33
- Tabela 3 – Porcentagem de isolados de *Colletotrichum* spp. patogênicos a frutos, com e sem ferimento (CF e SF, respectivamente), e folhas de macieira sem ferimento da cv. Gala, obtidos durante o período de dormência das plantas, nos anos de 2010, 2011 e 2012. Obtenção dos isolados a partir de gemas dormentes (GD), ramos dormentes (RD), folhas caídas na projeção da copa das plantas (FC). ...34
- Tabela 4 – Precipitação acumulada (Pp) (mm), número de dias com chuva (DC), número de dias consecutivos com chuva (DCC), temperatura máxima, mínima e média (°C) e umidade relativa do ar (UR%) em Curitiba/Campo Largo- PR. Dados mensais dos anos 2010, 2011, 2012.35

CAPÍTULO II

- Tabela 1 – Estádio fenológico (EF)¹ das plantas de macieira, número de dias favoráveis (DF)² para a ocorrência da mancha foliar de *Glomerella* (MFG) em pomares de macieira com (A1 e A2) e sem tratamento químico (A3) e número de pulverizações (NP)³ para o controle da MFG. Dados semanais das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12.54
- Tabela 2 – Área abaixo da curva formada pela densidade de conídios de *Colletotrichum* spp. ao longo do tempo¹, coletados no ar com diferentes modelos de armadilhas caça-esporos, posicionadas em diferentes alturas em relação ao solo, e

coletados através do escorrimento interno de água na planta, em diferentes alturas, ao longo das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12 em pomares de macieira com (A1 e A2) e sem tratamento químico (A3).....56

CAPÍTULO III

- Tabela 1 – Estádio fenológico (EF)¹, Número de pulverizações (NP)² visando o controle da mancha foliar de *Glomerella* (MFG), volume de precipitação pluviométrica (PP) (mm), umidade relativa do ar média (UR%), temperaturas mínima (T min), máxima (T max) e média (T med) (°C) e número de dias favoráveis (DF)³ a ocorrência da MFG. Dados mensais relativos ao número de dias após o início da avaliação (DAA)⁴ da incidência, severidade e número de folhas da MFG em um pomar comercial no município de Campo Largo/PR. Safras 2010/11 e 2011/12.79
- Tabela 2 – Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACP) de Mancha foliar de *Glomerella* em folhas¹ situadas em ramos altos (1,8 m), médios (1,0 m) e baixos (0,3 m), em duas áreas comerciais (A1 e A2) no município de Campo Largo/PR. Avaliação nas safras 2010/11 e 2011/12.80
- Tabela 3 – Número de dias para o início da queda das folhas (DIQ), número de dias para desfolha total (DDF), severidade média imediatamente anterior a queda das folhas (SAQ) e valor da correlação (r^2) entre o DDF e a SAQ. Avaliação da Mancha Foliar de *Glomerella* (MFG) em duas áreas (A1 e A2) na safra 2010/11 e de uma área (A2) na safra 2011/12, áreas comerciais localizadas no município de Campo Largo/ PR.81
- Tabela 4 – Estimativas dos parâmetros¹ do modelo logístico para os dados de incidência e do modelo exponencial para os dados de severidade da Mancha Foliar de *Glomerella* nos terços superior, médio e inferior do dossel² de macieira, cv. Imperial Gala, em duas áreas comerciais (A1 e A2) localizadas no município de Campo Largo/ PR. Safras 2010/11 e 2011/12.82
- Tabela 5 - Comparação dos valores¹ dos parâmetros estimados² a partir dos dados de incidência da Mancha Foliar de *Glomerella*, pelo modelo logístico. Avaliação em duas áreas comerciais (A1 e A2) localizadas no município de Campo Largo – PR, nas safras 2010/11 e 2011/12.83
- Tabela 6 - Comparação dos valores¹ dos parâmetros estimados² a partir dos dados de severidade da Mancha Foliar de *Glomerella*, pelo modelo exponencial.

Avaliação em duas áreas comerciais (A1 e A2) localizadas no município de Campo Largo – PR, nas safras 2010/11 e 2011/12.....	84
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

µL	Microlitros
AACPD	Área abaixo da curva de progresso da doença
BDA	Batata-dextrose-ágar
CF	Com fermento
Cfb	Clima subtropical úmido
cm	Centímetros
cv.	Cultivar
DAI	Dias após a inoculação
DC	Número de dias com chuva
DCC	Número de dias consecutivos com chuva
DDF	Número de dias para desfolha total
DF	Dias favoráveis à ocorrência da doença
DIA	Dias após o início da avaliação
DIQ	Número de dias para o início da queda das folhas
EF	Estádio fenológico
FC	Folhas caídas na projeção da copa das plantas
g	Gramas
GD	Gemas dormentes
ha	Hectares
IC	Índice de correlação
ITS	Internal transcribed space
L	Litros
m	Metro
MFG	Mancha foliar de Glomerella
mg	Miligramas
min	Minuto
mL	Mililitros
mm	Milímetro
NP	Número de pulverizações
PA	Podridão amarga
PMF	Período de molhamento foliar

PP	Precipitação acumulada
PR	Paraná
QoI	Inibidores da quinona externa
r	Taxa de progresso da doença
R^2	Coefficiente de determinação para regressão linear
RD	Ramos dormentes
rpm	Rotações por minuto
SAQ	Severidade média imediatamente anterior a queda das folhas
SC	Santa Catarina
SF	Sem ferimento
spp.	Espécies
UR	Umidade relativa do ar
y_0	Inóculo inicial
μm	Micrômetro

INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da macieira (*Malus domestica* Borkh) no Brasil iniciou seu desenvolvimento comercial na década de 70, sendo que até este período foram poucos os plantios comerciais, representando menos de 100 ha (PETRI et al., 2011). Atualmente, a pomicultura é uma atividade consolidada no país e de grande importância sócio-econômica, principalmente na região Sul, onde se concentra mais de 99% da área plantada e da produção nacional (IBGE, 2012).

As maiores áreas produtoras situam-se na região de Vacaria, no Rio Grande do Sul, que apresentava 6500 ha em produção no ano de 2009 (IBGE, 2012), nas regiões de São Joaquim e Fraiburgo, no Estado de Santa Catarina, com 4000 ha e 7000 ha em produção, respectivamente, no ano de 2009 (IBGE, 2012), e de Palmas, no Estado do Paraná, que apresentava 644 ha produtivos no ano de 2009 (IBGE, 2012). A cultura vem se expandindo para outras regiões, inclusive as não tradicionais ao cultivo de frutas de clima temperado (PETRI et al., 2011).

Uma das maiores limitações da cultura, desde a época de sua implantação no país, é a ocorrência de problemas fitossanitários. A Mancha Foliar de *Glomerella* (MFG), também conhecida como Mancha da Gala, foi relatada pela primeira vez em 1983, no Paraná, por Leite et al. (1988). A doença é considerada a principal “doença de verão” da cultura e provoca pontuações deprimidas nos frutos e manchas avermelhadas nas folhas; o principal dano ocasionado é a desfolha precoce das plantas que pode ser superior a 75% em anos favoráveis e na ausência de medidas de controle, o que compromete a produção do ano subsequente (BONETI et al., 1998). No Paraná, a MFG é o principal problema fitossanitário da cultura, visto que a doença atinge elevados níveis de severidade devido ao clima extremamente favorável, o que deixa os pomares em uma condição de alta pressão de inóculo (KOWATA et al., 2010).

No Brasil a espécie *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. foi inicialmente identificada como agente causal da doença (LEITE et al., 1988) e mais tarde *C. acutatum* J.H. Simmonds e *Colletotrichum* sp. foram também associadas à MFG, sendo *C. gloeosporioides* mais agressiva e de maior frequência nos pomares (KATSURAYAMA et al., 2000).

A MFG foi relatada também nos Estados Unidos, provocando sintomas em folhas e frutos, semelhantes aos observados no Brasil, e afetando plantas da cv. Golden Delicious no

Estado da Georgia e tendo como agente causal *Glomerella cingulata* (Stonemam) Spauld & Schrenk (TAYLOR, 1971), e também afetando plantas da cv. Gala nos Estados do Tennessee, Georgia e Carolina do Norte, tendo como agente causal *C. gloeosporioides* (GONZÁLEZ e SUTTON, 1999) e *C. acutatum* (GONZÁLEZ e SUTTON, 2004). Recentemente Wang et al. (2012) relataram a ocorrência da MFG em pomares comerciais da China, nas cvs. Gala e Golden Delicious, e identificaram o fungo *Glomerella cingulata* como agente causal por caracterização morfológica, avaliando características como coloração do micélio, forma e tamanho de conídios e formação de apressório, e com identificação molecular com marcadores ITS (“Internal transcribed space”).

É importante salientar que no Brasil *Glomerella cingulata* (fase perfeita de *C. gloeosporioides*) é causadora da doença denominada Podridão amarga (PA), que ocasiona sintomas principalmente em frutos e raramente em folhas (GONZÁLEZ e SUTTON, 1999). Lesões de MFG em frutos não evoluem para PA, como apresentado no trabalho realizado por Katsurayama et al. (2004) em que lesões de MFG em frutos mantidos durante um mês a 24 °C ou armazenados durante seis meses em câmara úmida a 5 °C não evoluíram para sintomas de PA.

Em patossistemas temperados, como no caso da MFG, o aumento da intensidade da doença em função do tempo fundamenta-se na produção de esporos durante o período infeccioso associada ao período latente da doença (BERGAMIN FILHO e AMORIM, 2001). Assim, para compreender a evolução da epidemia é necessário o conhecimento de todo o ciclo patógeno hospedeiro, ou seja, sua fase infecciosa que ocorre no período vegetativo da cultura e sua fase de sobrevivência, que no caso da MFG ocorre no período dormente das plantas. Apesar de alguns aspectos da doença já estarem bem esclarecidos, como as condições ideais para sua ocorrência (KATSURAYAMA et al., 2000; CRUSIUS et al., 2002; HAMADA, 2005; KATSURAYAMA e BONETI, 2009) e a eficácia de produtos químicos frente ao patógeno (CEREZINE et al., 1992; KOWATA et al., 2010; KATSURAYAMA e BONETI, 2012; HAMADA et al., 2012), ainda existem muitas dúvidas em relação ao ciclo da doença como o modo de sobrevivência do patógeno, sua disseminação dentro do pomar, e também sobre o início da epidemia e a distribuição da doença no dossel das plantas.

O esclarecimento dos aspectos epidemiológicos de uma doença é fundamental para que se compreenda a epidemia, pois é a partir desta compreensão que será possível manejá-la de maneira mais adequada (MADDEN, 1993b; JESUS Jr. e BASSANEZI, 2004).

Neste contexto, o trabalho foi realizado com o objetivo de (I) verificar as fontes de inóculo primário existentes em um pomar com alta pressão de inóculo, (II) monitorar a densidade de conídios de *Colletotrichum* spp. disseminados pelo ar e pela água em diferentes

alturas da planta e verificar se ocorre a dispersão dos conídios por insetos-praga da cultura e (III) observar a época de início da epidemia, o progresso da doença e a relação entre a severidade da MFG com a desfolha das plantas, de acordo com a localização das folhas no dossel.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ORIGEM E CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA MACIEIRA

A origem exata da espécie *Malus domestica* Borkh não é conhecida. O provável centro de origem da macieira está entre o Cáucaso e o leste da China, sendo que os povos euro-asiáticos devem ter colaborado para a disseminação das formas primitivas das macieiras atuais (BLEICHER, 2002). Existem indícios de que a espécie *M. domestica* seja derivada da espécie *M. pumila* Mill., que ocorre naturalmente no leste europeu e oeste asiático ou da espécie *M. sieversii* (Ledeb.) M. Roem, encontrada nas montanhas da Ásia Central (NACHTIGALL, 2004).

A macieira é uma espécie frutífera lenhosa, decídua, temperada, que é muito adaptável a diferentes climas, crescendo desde os trópicos até altas altitudes. Pertence à família das Rosaceae e subfamília Pomoideae. As flores são brancas ou rosas dispostas em inflorescência denominada umbela. O fruto é um pomo, constituído por grande receptáculo carnudo que envolve os ovários, cujo endocarpo é coriáceo ou pétreo. É uma espécie alógama, ou seja, necessita da transferência do pólen de uma planta para o estigma de outra, para que haja fertilização do óvulo e a consequente produção de sementes e frutos (IUCHI, 2002).

2.2 A CULTURA DA MACIEIRA NO BRASIL

O primeiro cultivo comercial da macieira no Brasil foi em 1926 no estado de São Paulo, com a cv. Ohio Beauty, sendo que em 1948 esta cultivar era também plantada no estado do Rio Grande do Sul (PETRI et al., 2011). Entretanto, a cultura atingiu importância em escala comercial na década de 70 quando grandes empresas, atraídas por incentivos de políticas públicas, estabeleceram-se no país. Desde então, gradativamente a participação da maçã na balança comercial brasileira modificou-se, passando de segundo principal item agrícola em importação no começo dos anos 1960 para geradora de divisas através da exportação a partir do final dos anos 1980 (CARVALHO, 2010).

Durante os pouco mais de 40 anos de cultivo em escala comercial, a produção nacional da fruta, que em 1973 era de 1.528 toneladas (BONETI et al., 2002a) cresceu para 1.300.000 toneladas no ano de 2011 (IBGE, 2012). A área plantada com a espécie aumentou entre os anos de 1987 e 2011, de 22.073 ha para 38.500 ha, e os Estados da região Sul são responsáveis por mais de 99% desta área e produção (IBGE, 2012). Na atividade estão envolvidos mais de 3 mil produtores, gerando em torno de 150 mil empregos diretos e indiretos (PETRI et al., 2011).

Os estados do Sul possuem as melhores condições para seu cultivo no Brasil, devido à quantidade de horas-frio que é considerada suficiente para atender às necessidades exigidas pela planta, proporcionando condições para se alcançar uma produtividade competitiva e melhor qualidade do fruto (ICEPA, 2012).

Entre os fatores que afetam a produtividade da macieira, destacam-se o baixo número de horas de frio (PETRI et al., 2002), além da alta precipitação e umidade relativa do ar na primavera/verão que favorecem a ocorrência de doenças (BONETI et al., 2004). O controle de doenças tem sido o principal fator limitante da cultura na atualidade, respondendo por cerca de 20% do custo de produção (KATSURAYAMA e BONETI, 2009).

As cultivares Gala e Fuji e seus respectivos clones (ex: Royal Gala, Fuji Suprema), apresentam as características agronômicas desejáveis para as exigências de mercado, tais como coloração, tamanho, exigência em frio (BONETI et al., 2002a) e atualmente representam 14,89% e 7,20% da produção mundial, respectivamente. Estima-se que, em 2020, estarão na terceira colocação em volume mundial de produção. No Brasil, os grupos Gala e Fuji (e seus clones como Royal Gala, Imperial Gala, Maxi Gala, Brookfield, Fuji Suprema) representam em torno de 60% e 30% da produção, respectivamente. Para as regiões com pouco frio, destaca-se a cv. Eva, que é comercializada nos meses de dezembro e janeiro (PETRI et al., 2011).

2.3 A MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA

A doença é relatada nos Estados Unidos afetando plantas da cv. Golden Delicious no Estado da Georgia (TAYLOR 1971) e da cv. Gala nos Estados do Tennessee, Georgia e Carolina do Norte (GONZÁLEZ e SUTTON, 1999), na China (WANG et al., 2012) afetando as cvs. Gala e Golden Delicious, e no Brasil afetando a cultivar Gala e seus clones (BONETI et al., 2002b).

Considerada a principal doença de verão da cultura da macieira no Brasil, a Mancha Foliar de *Glomerella* (MFG), também conhecida como Mancha da Gala ou Mancha Foliar da Gala, foi constatada pela primeira vez em 1983 no município de Porto Amazonas/ PR (LEITE et al. 1988), ficando restrita ao estado do Paraná durante aproximadamente 6 anos, disseminando-se mais tarde pelos pomares de Fraiburgo - SC e Vacaria - RS (ciclo 1989/90). Em São Joaquim - SC a doença se estabeleceu em 1993, na comunidade de Luizinho (KATSURAYAMA e BONETI, 1999). A doença encontra-se disseminada por praticamente todas as regiões produtoras de maçã no Brasil, inclusive nas de altitude acima de 1.400 metros (BONETI et al., 2004).

O primeiro agente causal identificado no Brasil foi *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.), à semelhança do identificado na China (WANG et al., 2012). Posteriormente, observou-se que *C. acutatum* J.H. Simmonds e uma espécie ainda não identificada de *Colletotrichum*, também estão associadas a essa doença, mas a primeira espécie é a mais importante por sua frequência e potencial patogênico (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2002).

A MFG se manifesta durante o verão, causando desfolhamento severo das macieiras, provocando lesões em folhas e frutos da cv. Gala e seus clones (BONETI et al., 2002b). Os sintomas iniciais da doença são manchas de coloração variando de vermelho a roxo, dois dias após a infecção em plantas inoculadas e que evoluem para uma mancha necrótica com formato irregular. As folhas lesionadas ficam inteiramente marrons e desidratadas, ou amarelecem e caem entre oito a dez dias (CRUSIUS et al., 2002) (Figura 1A). Nos frutos surgem numerosas pontuações deprimidas, de aproximadamente 1mm de diâmetro e de cor marrom-clara a marrom-escuro (Figura 1B), que não evoluem para lesões de podridão amarga. Nos ramos verdes, também são visíveis sintomas da MFG que surgem como lesões longitudinais, de cor marrom clara, que se tornam corticentas e com borda saliente (KATSURAYAMA e BONETI, 2009).



Figura 1 – Sintomas de Mancha Foliar de *Glomerella* em folhas (A) e em frutos (B) de macieira da cv. Gala (*Malus domestica*). Fotos: HAMADA, N.A.

A doença pode provocar desfolhamento superior a 75% (KATSURAYAMA e BONETI, 2009), comprometendo a produção no ano subsequente visto que a manutenção das folhas em espécies frutíferas de clima temperado é essencial para o processo de acúmulo de reservas, que serão utilizadas como fonte de energia no início da safra seguinte (HIDALGO, 1993). Ainda, a desfolha precoce na macieira promove uma dormência menos profunda e reduz o potencial máximo de brotação do ciclo seguinte (ANZANELLO et al., 2012).

Estudos anteriores mostram que a doença pode se manifestar em uma ampla faixa de temperatura, que varia entre 12 °C a 28 °C, sendo que quanto maior a temperatura, menor é o período de molhamento foliar necessário para que a doença se manifeste (HAMADA, 2005).

Em anos de clima favorável à doença, a MFG tem causado elevadas perdas de produção, que em algumas áreas do Brasil, como no estado de Santa Catarina, excederam a 20% da safra. Prejuízos na ordem de 20% apesar do elevado número de tratamentos com fungicidas protetores, aumentam o custo de produção em 10% (KATSURAYAMA e BONETI, 2012).

O controle da MFG tem sido efetuado com a aplicação, principalmente, de fungicidas do grupo dos ditiocarbamatos (mancozebe, metiram e propinebe), que apresentam alto índice de controle (IC) no início do ciclo vegetativo da macieira (IC > 80%) e mediano (IC > 70%) no final, quando a pressão da doença aumenta (KATSURAYAMA e BONETI, 2012). O controle baseado na aplicação de fungicidas protetores resulta em elevado número de pulverizações que pode chegar a até 15 por safra no estado de Santa Catarina (KATSURAYAMA e BONETI, 2012).

Entretanto, as normas de Produção Integrada de Maçã no Brasil (IN SDC N° 01 de 14/09/2006)¹ limitam o uso de fungicidas por safra, muitas vezes inviabilizando esse sistema de controle. Considerando-se que o período que antecede a colheita é o mais crítico em relação ao ataque da doença, pode-se afirmar que os tratamentos utilizados atualmente não são eficazes devido às restrições quanto ao período de carência dos fungicidas. (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2002; KATSURAYAMA e BONETI, 2009; KATSURAYAMA e BONETI, 2012).

2.4 ETIOLOGIA

O gênero *Colletotrichum* engloba os fungos imperfeitos pertencentes à ordem *Melanconiales* da classe *Coelomycetes*, os quais apresentam uma associação teleomórfica com estirpes homotáticas ou heterotáticas de ascomicetos do gênero *Glomerella* (BAXTER et al., 1985; SKIPP et al., 1995). Os fungos filamentosos deste gênero e sua forma perfeita *Glomerella* são considerados os principais patógenos de plantas em todo o mundo, causando danos econômicos significativos em culturas de regiões tropicais, subtropicais e temperadas (FREEMAN et al., 1998).

Este gênero compreende várias espécies, incluindo saprófitas e fitopatogênicas, sendo estas responsáveis por muitas doenças economicamente importantes e que ocorrem numa ampla gama de hospedeiros (MENEZES, 2002), que compreende cereais, gramíneas, leguminosas, culturas perenes e frutíferas (LUBBE et al. 2006; RATANACHERDCHAI et al. 2007; ABANG et al. 2009; CROUCH e BEIRN, 2009; KIM et al. 2009; MASYAHIT et al. 2009; RATANACHERDCHAI et al., 2010). Sutton (1992) e Cai et al. (2009) esclarecem em seus trabalhos que uma única espécie pode causar doença em vários hospedeiros, como também, um único hospedeiro pode ser atacado por várias espécies de *Colletotrichum*, como ocorre em macieira com a MFG (KATSURAYAMA et al., 2000; GONZÁLEZ et al., 2006) e com a podridão amarga (JOHNSTON e MANNING, 2005) em que *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* estão associados a ocorrência de ambas as doenças.

No Brasil, espécies de *Colletotrichum* estão envolvidas na ocorrência de Podridão amarga (PA) causada por *C. gloeosporioides* e sua fase perfeita *Glomerella cingulata*, que

¹ Instrução normativa SDC N° 1 de 14 de setembro de 2006, que aprova as normas técnicas específicas para a produção integrada de maçã, NTEPI-Maçã. Publicada no Diário Oficial da União em 21 de setembro de 2006.

causa podridões com a presença de abundante esporulação em frutos e ocorre de forma generalizada na região Sul do Brasil (BLEICHER, 1997), e com a ocorrência da MFG causada por *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Colletotrichum* spp. (LEITE et al., 1988; KATSURAYAMA et al., 2000). Lesões de MFG, tanto em frutos quanto em folhas, não evoluem para PA e o contrário também é verdadeiro (KATSURAYAMA et al., 2004).

Representantes do gênero apresentam acérvulos em forma de disco achatado, subepidérmico, com espinhos ou setas, conidióforo simples e alongado (BARNETT e HUNTER, 1998), e os conídios podem ser produzidos nestes acérvulos ou em ramificações laterais do micélio (MENEZES, 2006). Em determinadas condições do ambiente, as setas podem produzir conídios na sua extremidade, como já observado em *C. gloeosporioides* (Penzig) Penzig & Sacc e *C. gossypii* South. (MENEZES et al., 1996).

Os conídios nos acérvulos estão envolvidos por uma matriz gelatinosa constituída de polissacarídeos e proteínas solúveis em água. Essa matriz provavelmente protege os conídios da dessecação e aumenta a eficiência de germinação e penetração no tecido do hospedeiro (MENEZES, 2006).

A forma e o tamanho dos conídios de *Colletotrichum* podem variar muito entre as espécies. Os conídios de *C. gloeosporioides* são hialinos em forma de bastonetes (BECKER et al., 2000), com ápices obtusos e bases, às vezes, truncadas, medindo 12-17 μm x 3,5-6 μm , sendo os apressórios formados por essa espécie clavados, ovalados, obovados ou lobados, de coloração castanha e medindo 6-20 μm x 4-12 μm (SUTTON, 1992). A forma teleomórfica (*Glomerella cingulata*) produz ascósporos hialinos, de forma alantóide que medem em média 12-24 μm x 4-6 μm (RIBEIRO, 1997; ROCA et al., 2003).

Em meio de cultura, *C. gloeosporioides* caracteriza-se pela produção de peritécios em isolados homotáticos e ausência da fase sexuada *in vitro* em isolados heterotáticos (KATSURAYAMA e BONETI, 2009). Em meio de cultura as colônias de *C. gloeosporioides* são variáveis, de coloração branco-gelo a cinza escuro e micélios aéreos geralmente uniformes, aveludados ou repletos de conidiomatos (LOPEZ, 2001). Já *C. acutatum* produz conídios hialinos geralmente elípticos e fusiformes, com pelo menos uma das extremidades afuniladas (SUTTON, 1992; ADASKAVEG e FÖRSTER, 2000); a espécie forma colônias de coloração rosada (SHI et al., 1996). A fase sexuada de *C. acutatum* foi relatada por Guerber e Correl (2001) e denominada de *G. acutata*, apresentando asposcoros oblongos a elípticos, medindo 8,5-25,1 μm x 3,1-8,1 μm .

A germinação dos conídios ocorre somente na presença de água livre ou em elevada umidade relativa (> 90%) (MENEZES, 2006). Estruturas especializadas de infecção são

produzidas por espécies do gênero *Colletotrichum* como tubo germinativo, apressório, hifas intracelulares e hifas necrotróficas secundárias (ROJAS et al., 2010). Seus hospedeiros são atacados por vários mecanismos, podendo ocorrer a penetração do tecido cuticularizado por apressórios ou não. Também pode ocorrer penetração direta por hifas não diferenciadas em células não cuticularizadas, estômatos e ferimentos (VAN DER BRUGGEN e MARAITE, 1987; ZAKARIA, 1995; LOPEZ, 1999). A interação do patógeno com sua planta hospedeira é caracterizada por uma curta fase biotrófica, quando os dois organismos ficam em contato direto na superfície celular, seguido de uma fase necrofítica destrutiva. Sintomas são visíveis neste último estágio, nas partes aéreas de plantas suscetíveis. Posteriormente, rapidamente expande-se em áreas necróticas que se desenvolvem em brotos apicais de plântulas jovens, em caules, em folhas de plantas adultas e nos frutos (BAILEY e ROWELL, 1980; KUC, 1985; ESQUERRÉ-TUGAYÉ et al., 1992).

Dependendo das condições ambiente ou do grau de maturidade do hospedeiro, a penetração não ocorre imediatamente e os apressórios entram num período de quiescência, constituindo uma forma de sobrevivência até que ocorra a penetração (RATANACHERDCHAI et al., 2010). Esta propriedade é de importância considerável para espécies de *Colletotrichum* que causam infecções latentes em frutas (LOPEZ, 2001).

2.5 CICLO DA RELAÇÃO PATÓGENO HOSPEDEIRO

O estabelecimento e o desenvolvimento de uma doença são resultados da sucessão de uma série de fases ou eventos distintos, que conjuntamente resultam no chamado “ciclo de doença” (AGRIOS, 2005). O ciclo de uma doença é constituído de cinco processos básicos: sobrevivência, disseminação, infecção, colonização e reprodução (AMORIM & PASCHOLATI, 2011), sendo que cada uma das diferentes fases apresenta características próprias e têm função definida.

A sobrevivência de um fitopatógeno é considerada a primeira fase no ciclo das relações patógeno-hospedeiro. Nesta fase, o local de sobrevivência do patógeno representa a fonte de inóculo, que serve para diferenciar o ciclo primário e o ciclo secundário de uma doença, bem como estabelecer os critérios de controle integrado visando a redução do inóculo inicial e, ou, redução na taxa de infecção. Segundo Mishra e Siradhana (1979) os conídios não constituem estruturas de sobrevivência porque sua viabilidade diminui rapidamente.

Entretanto, o micélio pode permanecer viável por longo período em sementes infectadas, em restos de cultura, ou ainda como infecções latentes, sem que as plantas exteriorizem sintomas das doenças. Assim, o conhecimento detalhado da sobrevivência de um patógeno é fundamental para a adoção do manejo integrado de uma doença (REIS e CASA, 2004).

Fungos patogênicos mostram uma enorme variabilidade dentro da sua estratégia de vida e no modo pelo qual interagem com seu hospedeiro (BURDON e SILK, 1997). De uma maneira geral, fungos fitopatogênicos que incidem sobre hospedeiros perenes de folhas caducas (como é o caso da macieira) sobrevivem saprofiticamente como micélio, colonizando os tecidos e produzindo inóculo até a estação seguinte de crescimento vegetativo do hospedeiro. Patógenos de espécies perenes de folhas caducas podem sobreviver como micélio ou outras estruturas dormentes em gemas e axilas, no inverno, quando o hospedeiro também está dormente (REIS e CASA, 2004).

Algumas espécies de *Colletotrichum* produzem micro-escleródios que permanecem dormentes no solo durante o inverno ou em condições de estresse, entretanto, este modo de sobrevivência não é observado em todas as espécies vegetais (PHOULIVONG, 2011), a exemplo da macieira.

Não se sabe ao certo como *C. gloeosporioides* relacionado a MFG sobrevive de um ano para o outro, pois existem poucos estudos e muitas informações desconhecidas sobre o assunto (STADNIK et al., 2009). A sobrevivência do patógeno tem sido associada à presença do fungo sobre ramos e gemas dormentes de plantas infectadas da safra anterior (CRUSIUS et al., 2002; VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2002), assim como ocorre em café em que o inóculo primário é oriundo de gemas florais dormentes (VAN DER VOSSEN e WALYARO, 2009). Porém, há relatos de que *Colletotrichum* spp. possa sobreviver em frutos mumificados, em cancos e na superfície das plantas de macieira (VALDEBENITO-SANHUEZA e BETTI, 2005). Em relação às folhas caídas no solo durante o período de inverno, Boneti et al. (1999) e Crusius et al. (2002) não detectaram a presença de inóculo relacionado a MFG nestas.

Crusius et al. (2002) afirmaram que o inóculo de *Colletotrichum*, relacionado com a MFG, no campo, variou em função da parte da planta amostrada, do ano, data e local da coleta; e apenas os isolados obtidos em gemas e ramos dormentes foram patogênicos a folhas de macieira da cv. Gala, ocasionando sintomas típicos da doença.

Em relação às espécies de *Colletotrichum* causadoras da podridão amarga em macieira (*C. gloeosporioides* e *C. acutatum*), Taylor (1971) relatou que peritécios com ascosporos maduros são encontrados nas folhas durante o inverno, e posteriormente Jones e Sutton (1996) afirmaram que *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* permaneceram durante o inverno em

ramos dormentes ou frutos mumificados na própria planta. Na Noruega Borve e Stensvand (2007) detectaram a presença de *C. acutatum* em gemas dormentes de macieira. No Brasil inóculo de *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides*) relacionado à podridão amarga (PA) foi encontrado em gemas de macieira (BERNARDI et al., 1983), principalmente em meses que apresentaram alto volume de precipitação, sendo este inóculo patogênico a frutos de macieira da cv. Red Delicious.

De acordo com Campbell e Madden (1990) a disseminação do patógeno e o progresso da doença são dependentes do arranjo das plantas, da intensidade de doença na fonte de inóculo e da forma de disseminação do patógeno. A dispersão de inóculo por respingos de chuva é um importante mecanismo de movimentação de *Colletotrichum* spp. a curtas distâncias em muitas culturas, a exemplo do morango (MADDEN et al., 1993a). Ntahimpera et al. (1997), em trabalho realizado com morango, afirmaram que quanto mais próximo da fonte de inóculo o vegetal estiver, maior será a intensidade de doença. À semelhança do que ocorre em outros *Coelomycetes*, os respingos de água são imprescindíveis para liberar e disseminar os conídios contidos nas massas mucilaginosas dos acérvulos de *C. gloeosporioides* associados com a MFG (MEYER et al., 2008; STADNIK et al., 2009; BEDIMO et al., 2010). Em abacate, citros, manga e mamão, foi demonstrado que as folhas infectadas na copa são a principal fonte de inóculo, com conídios dispersos por respingos de chuva (HINDORF et al., 2000). A disseminação de isolados de *Colletotrichum* relacionados com a PA de maçãs pode ser realizada por meio de conídios e ascósporos, sendo os primeiros disseminados pela chuva e os ascósporos liberados pela chuva, mas transportados pelo vento (JONES e SUTTON, 1996). Sutton e Shane (1983) confirmaram que a liberação dos ascósporos produzidos em peritécios localizados em ramos dormentes ocorre durante a chuva, sendo esses transportados pelo vento.

A disseminação de patógenos pode ocorrer também por meio de insetos, como relatado em culturas frutíferas como citrus (PEÑA e DUNCAN, 1989) e manga (ATINSKY et al., 2009) e em culturas anuais como o trigo (HASAN, 1982). Já em relação à disseminação de isolados de *Colletotrichum* causadores da MFG as informações são raras, podendo-se citar o trabalho realizado por Crusius et al. (2002) em pomares comerciais do estado do Rio Grande do Sul, que não detectaram a presença de conídios ou ascósporos no ar, em períodos de condições favoráveis ao patógeno.

Em relação à infecção sabe-se que a doença se manifesta no início do verão, quando há elevação da temperatura, e quando a temperatura ultrapassa os 20 °C, e 10 horas de período de molhamento foliar (PMF), ocorre a infecção e os sintomas aparecem em apenas 45 horas

(KATSURAYAMA e BONETI, 1999). Em relação aos frutos, quando submetidos a este mesmo PMF, o período de incubação da doença varia de 3 a 4 dias e esta é favorecida pela elevação da temperatura. Entretanto, a doença também pode se estabelecer sob baixas temperaturas, como a 12°C, desde que o PMF seja bastante longo, superior a 72 horas (HAMADA, 2005).

Alguns estudos indicam que, em condições de campo, temperatura média diária maior ou igual a 18 °C favorece a doença. Entretanto, sob temperaturas superiores a 24 °C que a doença se manifesta com maior severidade. Observa-se que outros fatores, tais como a adubação nitrogenada e sombreamentos excessivos da planta, podem favorecer a epidemia (BONETI et al., 2002c). De acordo com Katsurayama e Boneti (1999) a temperatura ótima para a ocorrência da MFG é de 28 °C, sendo que nessa temperatura o molhamento foliar deve ser igual ou superior a oito horas. Valdebenito-Sanhueza (1999) afirma que além da temperatura, o acúmulo de umidade e uma longa duração do período de molhamento foliar são muito importantes para o desenvolvimento do patógeno em ramos, folhas e frutos de macieira.

Além das condições ideais para a ocorrência da doença, é necessário o conhecimento da evolução da doença a campo para que se possa construir curvas de progresso que permitirão analisar o comportamento da epidemia e a partir daí estabelecer estratégias de manejo adequadas, por integrarem em um único gráfico os efeitos do patógeno, do hospedeiro e do ambiente (CAMPBELL e MADDEN, 1990). O conhecimento detalhado da dinâmica espaço-temporal das doenças possibilita uma visão mais completa da estrutura e do comportamento de patossistemas (BERGAMIN FILHO et al., 2002) possibilitando, entre outras ações, o entendimento do desenvolvimento de doenças (TURECHEK e MADDEN, 1999; XU e RIDOUT, 2001), a avaliação da eficácia de diferentes tratamentos (MADDEN, 1993b) e a caracterização das perdas na produção que são ocasionadas pela doença (FERRANDINO, 1989).

Um dos primeiros passos para a determinação da dinâmica espaço-temporal é a quantificação dos sintomas ao longo do tempo. De acordo com Spósito et al. (2004) a quantificação de doenças é fundamental para estudos epidemiológicos e para a avaliação de estratégias de controle, sendo necessária para descrever o progresso da epidemia e sua relação com o clima ou com medidas de controle, e para a validação de modelos de previsão ou para a aplicação de um sistema de manejo integrado.

Em relação à MFG poucos são os estudos a respeito da evolução da doença a campo, podendo-se citar os desenvolvidos por Cerezine et al. (1992) na região centro-sul do estado do

Paraná, avaliando a eficácia de diferentes produtos no controle da doença, por Kowata et al. (2010) que em trabalho realizado na região metropolitana de Curitiba – PR, desenvolveram uma escala diagramática para avaliação da severidade da doença e testaram a eficácia de tratamentos químicos frente a MFG, e o trabalho realizado por Hamada et al. (2012) que descreveram a evolução da MFG, em pomar comercial no estado do Paraná, em plantas sem controle fitossanitário e entre aquelas submetidas a pulverizações com fungicidas protetores, sistêmicos e com fosfitos de potássio. Entretanto, não existem estudos no Brasil que relacionem a quantidade de sintomas e a evolução destes em diferentes posições do dossel da planta.

Estudos a respeito da evolução da doença em diferentes posições do dossel são necessários pelo fato da doença nem sempre se distribuir de maneira uniforme dentro das plantas, visto que a arquitetura destas possui grande efeito na dispersão do inóculo dos patógenos, que é um dos fatores determinantes na quantidade de doença em determinado ponto do hospedeiro (WALKLATE et al., 1989; MADDEN, 1992; BROUDEAU e MADDEN, 1995). Wittich (1995) nos EUA, observou que em plantas de macieira cultivadas em uma mesma área, a duração do período de molhamento foliar (PMF) foi variável nas diferentes partes do dossel da planta, sendo maior no terço superior. Paula et al. (2012) em trabalho realizado no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, observaram que em pomares de macieira a céu aberto conduzidos sob o sistema adensado, o maior PMF ocorreu nas partes inferiores da planta. PMF variáveis em diferentes partes do dossel são também relatados nas culturas do algodão (*Gossypium hirsutum* L.), café (*Coffea arabica* L.) e banana (*Musa X paradisiaca* L.) (SANTOS et al., 2008). Em termos práticos, o maior ou menor PMF determinará uma maior ou menor quantidade de doença, visto que o desenvolvimento de doenças causadas por *Colletotrichum* spp. é fortemente influenciado por este fator (AGOSTINI et al., 1993; TIMMER e ZITKO, 1993; HUERTA-PALACIOS et al., 2009; BEDIMO et al., 2010; TALHINHAS et al., 2011).

3 CAPÍTULO I - SOBREVIVÊNCIA E PATOGENICIDADE DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADO A MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA EM MACIEIRA.

3.1 RESUMO

A Mancha Foliar de Glomerella (MFG), causada por *Colletotrichum* spp., é um dos principais problemas fitossanitários da cultura da macieira e embora já relatada há aproximadamente 30 anos no Brasil, muitas são as dúvidas a respeito da sobrevivência do patógeno. Esse trabalho objetivou verificar qual(is) a(s) fonte(s) de inóculo primário de *Colletotrichum* spp. associado a MFG existe(m) em um pomar com alta pressão de inóculo, durante anos consecutivos e sob efeito de tratamentos fitossanitários, e testar a patogenicidade dos isolados obtidos em folhas e frutos de macieira, cv. Gala. O trabalho foi desenvolvido em duas áreas de produção comercial com programas de manejo fitossanitário distintos, durante os anos 2010, 2011 e 2012. Para avaliação da sobrevivência do patógeno no outono/ inverno foram realizadas coletas mensais, entre abril e agosto, de ramos e gemas dormentes, folhas caídas e de solo, a partir dos quais se procedeu ao isolamento do fungo. Para verificação da sobrevivência de *Colletotrichum* spp. de forma epifítica foram coletadas mensalmente folhas assintomáticas de macieira, cv. Gala, durante o período vegetativo das plantas (setembro a março). Os isolados obtidos foram inoculados em folhas e frutos (com e sem ferimento) de macieira da cv. Gala, para determinação de sua patogenicidade. Constatou-se que *Colletotrichum* spp. pode sobreviver durante o outono/ inverno em ramos e gemas dormentes e, em folhas caídas no solo, sendo mais frequente nestas últimas. Em nenhum momento foi observada a presença de *Colletotrichum* spp. no solo durante o período de outono/ inverno, e em folhas assintomáticas durante o período vegetativo. Isolados obtidos de gemas dormentes no ano de 2010 (n = 8) foram patogênicos apenas a frutos com ferimento (75%), já os obtidos no ano de 2011 (n = 16) foram patogênicos a frutos com e sem ferimento (81,3% e 37,5%, respectivamente) e a folhas (71,4%) ocasionando sintomas típicos de MFG. Isolados obtidos a partir de ramos dormentes no ano de 2011 (n = 22) foram patogênicos a frutos com e sem ferimento e a folhas (100%, 63,6% e 100%, respectivamente). Os isolados obtidos de folhas caídas foram patogênicos a frutos com e sem ferimento e a folhas, tanto os isolados de 2011 (88,9%, 37,5% e 100%, respectivamente) quanto os isolados de 2012 (71,4%, 28,6% e 75%, respectivamente). Os tratamentos a base de cobre reduziram a quantidade de inóculo no pomar, mas não o eliminou totalmente.

Palavras-chave: Dormência vegetal. Inóculo primário. Sintomatologia.

SURVIVAL AND PATHOGENICITY OF *Colletotrichum* spp. ASSOCIATED TO GLOMERELLA LEAF SPOT ON APPLE.

3.2 ABSTRACT

Glomerella Leaf Spot (GLS), caused by *Colletotrichum* spp., is one of the most important problems in apple and although reported about 30 years ago in Brazil, there are many questions regarding the survival of the pathogen. This study aimed to determinate the site(s) where *Colletotrichum* spp. related to GLS survival in orchard with high inoculum pressure, during consecutive years and under the effect of chemical treatments, and to test the pathogenicity of the isolates on leaves and apple fruits of cv. Gala. The study was conducted in two areas of commercial production with distinct programs of sprays, during the 2010, 2011 and 2012 seasons. For evaluation of the pathogen survival in autumn/ winter, samples were collected monthly, between April and August, dormant buds and twigs, fallen leaves and soil, for isolation of the fungi. To check the *Colletotrichum* spp. survival as epiphyte, as asymptomatic leaves of apple, cv. Gala, were collected monthly during the growing season (September to March). The isolates were inoculated on leaves and fruits (with and without injury) of apple, cv. Gala, for determination of the pathogenicity. *Colletotrichum* spp. can survive during the autumn/ winter in dormant buds and twigs and on fallen leaves on the ground, being more frequent in the latter. At no time was observed the presence of *Colletotrichum* spp. in the soil during the autumn/ winter and on asymptomatic leaves during the grown season. Isolates from dormant buds in 2010 season (n = 8) were only pathogenic to fruits with injury (75%) and those obtained in 2011 season (n = 16) were pathogenic to fruits with and without injury (81,3% and 37,5%, respectively) and on leaves (71,4%) causing typical symptoms of GLS. Isolates from dormant twigs from the 2011 season (n = 22) were pathogenic to fruits with and without injury and to leaves (100%, 63,6% and 100%, respectively). These isolates from fallen leaves were pathogenic to fruits with and without injury and to leaves, both isolate at 2011 season (88,9%, 37,5% and 100%, respectively) and those isolate at 2012 season (71,4%, 28,6% and 75%, respectively). Copper sprays during the dormant stage reduced inoculum density in the orchard, but was not able to completely eliminate the inoculum.

Key words: Plant dormancy. Primary inoculum. Symptomatology.

3.3 INTRODUÇÃO

Espécies de *Colletotrichum*, principalmente *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. e *C. acutatum* J.H. Simmonds, ocasionam a Mancha Foliar de Glomerella (MFG) em macieira. No campo a doença é observada na forma de lesões em folhas e em frutos e torna-se mais severa em condições de temperaturas acima de 20 °C e de período de molhamento foliar acima de 10 horas (KATSURAYAMA et al., 2000a; SANHUEZA et al., 2002).

O principal dano ocasionado pela MFG é a desfolha antecipada das plantas, que compromete a produção dos anos subsequentes (BONETI e KATSURAYAMA, 1998) por não possibilitar à planta síntese e armazenagem de fotoassimilados em quantidade suficiente para uma brotação adequada na safra seguinte (ANZANELLO et al., 2012).

O controle da doença é realizado de forma preventiva devido à falta de fungicidas de ação curativa, com exceção dos fungicidas inibidores da quinona externa (QoI) (KATSURAYAMA e BONETI, 2012), o que resulta em média em 16 pulverizações para o controle da doença, iniciadas a partir do final da floração até o período de pós-colheita da fruta (KATSURAYAMA et al., 2000a). A escassez de fungicidas de ação curativa é ocasionada em parte pelo curto período de incubação da doença, de apenas 45 horas em temperaturas acima de 20 °C, o que compromete a eficácia de tratamentos dessa natureza (KATSURAYAMA e BONETI, 2012).

Uma estratégia para otimizar o manejo da MFG é prever a sua ocorrência (CRUSIUS et al., 2002; KATSURAYAMA e BONETI, 2012), sendo relevante, por exemplo, a compreensão do local de produção do inóculo primário (COPES e THOMSON, 2008) que no caso de plantas decíduas como a macieira ocorre no início da brotação, ou seja, decorre do período de sobrevivência do patógeno no inverno (STADNIK et al., 2009).

Em relação ao modo de sobrevivência de *Colletotrichum* spp. durante o período de dormência das macieiras ainda existem muitas dúvidas, pois poucos são os estudos a esse respeito, podendo-se citar o realizado por Crusius et al. (2002) que afirmaram que o patógeno pode sobreviver assintomaticamente em ramos e gemas dormentes, entretanto não realizaram repetições entre anos e locais de amostragem, tampouco avaliações da sobrevivência do patógeno frente ao tratamento realizado pelos produtores.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar qual(is) a(s) fonte(s) de inóculo primário de *Colletotrichum* spp. associado a MFG existe(m) em um pomar com alta pressão de inóculo, durante anos consecutivos e sob efeito do tratamento fitossanitário realizado pelo

produtor, e testar a patogenicidade dos isolados obtidos em folhas e frutos de macieira, cv. Gala.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Área de estudo

O trabalho foi desenvolvido em duas áreas de um pomar comercial (A1 e A2), situado no município de Campo Largo/ PR, durante três anos consecutivos (2010, 2011, 2012). As plantas eram da cultivar Imperial Gala, com 13 anos de idade, enxertadas sobre porta-enxerto M9 e conduzidas sob o sistema de líder central. O clima na região, de acordo com a classificação de Koppen, é do tipo subtropical úmido, de verões frescos e sem estação seca definida (Cfb).

As plantas na A1 eram dispostas em filas duplas (3,3 x 2,2 x 1,0 m) e foram submetidas a 22 pulverizações na safra 2009/10 e 22 pulverizações na safra 2010/11 (a área foi erradicada no final do mês de agosto de 2011), apresentando um histórico de alta intensidade de MFG. As plantas da A2 eram dispostas no espaçamento 4,0 x 0,75 m e foram submetidas a um maior número de pulverizações, sendo 31 na safra 2009/10, 28 na safra 2010/11 e 35 na safra 2011/12 (Tabela 1). Os fungicidas utilizados na A1 e A2 foram os mesmos e, em relação ao seu modo de ação foram classificados em fungicidas protetores (mancozebe e clorotalonil) e sistêmicos (tiofanato metílico e piraclostrobina + metiram). Além dos fungicidas citados, foi realizada a aplicação de sulfato de cobre (Bordasul[®]) na concentração de 0,38% e de hidróxido de cobre (Kocide[®]) na concentração de 0,35%, nos meses de março e abril nas A1 e A2 (Tabela 1). Em junho o tratamento de inverno realizado nas A1 e A2 consistiu na aplicação de calda bordalesa (Bordasul[®]) em meados do mês, na concentração de 0,38%. No ano de 2010 foi realizada a aplicação de calda sulfocálcica (Sulfocal[®]) nas A1 e A2 no final do mês de junho, na concentração de 2,0%.

Durante a realização do trabalho, as condições ambientais (temperatura e umidade relativa do ar) foram monitoradas coletando-se os dados da estação meteorológica do Instituto Tecnológico SIMEPAR, localizada em Curitiba (estação número 25.264.916), à altitude de 935 metros em relação ao nível do mar, e distante 30 Km (em linha reta) do pomar em que

foram realizadas as coletas. A precipitação foi quantificada diariamente utilizando-se pluviômetros (Marca JProLab, modelo cunha) existentes na área experimental, situados no início da linha central de cada talhão.

3.4.2 Sobrevivência de *Colletotrichum* spp. no outono/ inverno

A avaliação da sobrevivência do patógeno foi realizada monitorando-se a presença do inóculo ao longo do tempo com a coleta de material vegetal (gemas, ramos, folhas caídas) na época de dormência de macieiras cv. Imperial Gala, bem como do solo correspondente à região da projeção da copa das árvores, na profundidade de 1 cm.

Para cada ano foram realizadas coletas mensais, entre os meses de abril e agosto, exceto no ano de 2010 em que foi realizada uma única coleta no mês de agosto, sempre ao final da primeira quinzena de cada mês. No primeiro e segundo anos avaliados foram amostradas duas áreas dentro do pomar (A1 e A2). No ano de 2012 a A1 foi erradicada e a coleta foi realizada apenas na A2.

A coleta dos diferentes materiais foi feita ao acaso, ao longo de três linhas paralelas de cada área, amostrando-se cinco pontos diferentes por área e após foi constituída uma amostra composta, a partir da qual foram realizadas as análises.

Para o material vegetal o isolamento foi realizado amostrando-se 50 gramas de ramos, 5 gramas de gemas dormentes, 20 gramas de folhas caídas, que foram suspensos em 100, 50 e 200 mL de água esterilizada, respectivamente, juntamente com Tween 20 (Biotec[®]) na concentração de 20 $\mu\text{L.L}^{-1}$ e agitadas durante 60 minutos, a 60 rpm, em agitador orbital (Labstore[®], modelo 109/TCM). A suspensão resultante foi transferida para placas (100 μL por placa) contendo meio de cultura semi-seletivo para *Colletotrichum* spp., descrito por Ureña-Padilha et al. (2001), sendo: 39 g do meio batata-dextrose-ágar (BDA), 250 mg de ampicilina, 150 mg de sulfato de estreptomicina, 5 mg de iprodione, 100 μl de tergitol, 1 litro de água destilada.

Para a verificação da presença do patógeno no solo amostrou-se 100 gramas de solo peneirado e seco ao ar, coletado em um único ponto da região de projeção da copa e a uma profundidade de 1 cm, aos quais adicionou-se 200 mL de água esterilizada juntamente com Tween 20 (Biotec[®]) na concentração de 20 $\mu\text{L.L}^{-1}$. A amostra foi então submetida a agitação durante 60 minutos a 60 rpm, em agitador orbital (Labstore[®], modelo 109/TCM). O material

foi deixado sobre a bancada, em condições de laboratório, durante uma hora para que ocorresse a decantação. Após, a suspensão resultante foi transferida para placas (100 µL por placa) contendo meio de cultura semi-seletivo descrito por Ekefan et al. (2000), para o isolamento de *Colletotrichum gloeosporioides* oriundo de solo, sendo: meio de cultura batata-dextrose-ágar suplementado com pencycuron (50 mg.L⁻¹) + tolclofosmethyl (10 mg.L⁻¹) + clorotetraciclina (100 mg.L⁻¹).

A concentração de conídios de *Colletotrichum* spp. na suspensão resultante de todas as partes vegetais e de solo foi quantificada em câmara de Neubauer.

Para todo o material amostrado foram feitas 5 repetições, sendo cada placa uma repetição. As placas foram mantidas em B.O.D. (Eletrolab[®], modelo 122 FC) regulada a temperatura de 25°C ± 1°C até o aparecimento das primeiras colônias, quando estas foram repicadas para placas contendo 15 mL de BDA (Himedia[®]) na concentração de 39 g.L⁻¹. Após sete dias as colônias de *Colletotrichum* spp. foram analisadas e identificadas de acordo com suas características culturais e morfológicas (BONETI et al., 1999). A quantificação baseou-se na determinação do número de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos em cada coleta, sendo que cada colônia observada no meio semi-seletivo representou um isolado.

3.4.3 Sobrevivência de *Colletotrichum* spp. no período vegetativo

Folhas de macieira da cv. Imperial Gala, sem sintomas, foram coletadas mensalmente entre setembro e março, durante 3 safras (2009/10, 2010/11, 2011/12). Uma quantidade de 20 gramas de folhas foi colocada em erlenmeyer, juntamente com 200 mL de água esterilizada mais Tween 20 (Biotec[®]) na concentração de 20 µL.L⁻¹, sendo agitadas durante 60 minutos a 60 rpm em agitador orbital (Labstore[®], modelo 109/TCM). A suspensão resultante foi quantificada em câmara de Neubauer para confirmação da presença e determinação da concentração de conídios e após transferida para placas contendo meio de cultura semi-seletivo para *Colletotrichum* spp., descrito por Ureña-Padilha et al. (2001), no volume de 100 µL por placa. A quantificação baseou-se na determinação do número de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos em cada coleta, sendo que cada colônia observada no meio semi-seletivo representou um isolado.

3.4.4 Patogenicidade dos isolados

Os isolados obtidos foram inoculados em folhas e frutos sadios de macieira da cv. Gala, para verificação de sua patogenicidade.

Para a inoculação dos frutos foi utilizado disco de micélio de 3 mm de diâmetro retirado de culturas com 7 dias de idade, depositados em frutos com e sem fermento. Cada disco de micélio foi depositado em um fruto, sendo 4 frutos (repetições) para cada condição avaliada (com e sem fermento). O fermento foi feito com a utilização de alfinete entomológico, à profundidade de 1 mm, e sobre este foi depositado o disco de micélio. Avaliou-se o aparecimento de lesões até os 16 dias após a inoculação (DAI). Na verificação da patogenicidade em frutos foram inoculados todos os 77 isolados obtidos nos diferentes ensaios de sobrevivência.

Para a inoculação das folhas, utilizou-se plântulas de macieira da cv. Gala, com 4 meses de idade, plantadas em tubetes preenchidos com substrato (Tropstrato – HT Hortaliças) e mantidas em casa-de-vegetação. Os isolados foram cultivados em meio de cultura BDA (Himedia[®]) e incubados em BOD (Eletrolab[®], modelo 122 FC) regulada a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 7 dias, quando foi realizada a raspagem superficial do micélio na presença de água esterilizada para a obtenção da suspensão de conídios. A concentração da suspensão foi determinada em câmara de Neubauer e ajustada para $1,0 \times 10^4$ conídios.mL⁻¹ diluindo-se a suspensão em água esterilizada. A inoculação das folhas (sem fermentos) foi feita pulverizando-se a suspensão de conídios com pulverizador manual tipo Wilbes com capacidade de 340 mL e vazão aproximada de 10 mL.min⁻¹, até a completa cobertura das folhas. Após a inoculação as plantas foram mantidas em câmara úmida (25°C e 100% UR) durante 48 horas, sendo observado o aparecimento de sintomas típicos da doença até os 14 dias após a inoculação.

No ensaio de patogenicidade em folhas, não foram inoculados todos os isolados, visto as limitações operacionais existentes, sendo que se trabalhou com amostras de acordo com a parte da planta de que o isolado proveio. Selecionou-se isolados de cada parte vegetal e de cada área, de acordo com a sua capacidade de esporulação, o que resultou na inoculação de 7 isolados obtidos no ano de 2010 e 7 obtidos no ano de 2011 a partir de gemas dormentes, 5 isolados de ramos dormentes obtidos no ano de 2011, e 11 isolados obtidos no ano de 2011 e 5 obtidos no ano de 2012 a partir de folhas caídas.

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Sobrevivência de *Colletotrichum* spp. no outono/ inverno

Não foram constatados conídios de *Colletotrichum* spp. na suspensão observada ao microscópio, em nenhuma das coletas dos diferentes anos avaliados. Quando a suspensão foi depositada em placas com meio semi-seletivo observou-se, após sete dias de incubação, o desenvolvimento de colônias de *Colletotrichum* spp. O número de isolados obtidos variou entre safras, áreas, meses e entre os diferentes materiais amostrados.

No ano de 2010 foram obtidos 8 isolados, no ano de 2011 foram obtidos 62 isolados, e no ano de 2012 obteve-se 7 isolados. Os isolados do ano de 2010 foram obtidos no mês de agosto, sendo que nos anos seguintes (2011 e 2012) não foi mais observado inóculo neste mês (Tabela 2). Com exceção do ano de 2010, após o mês de junho não se observou mais inóculo nos diferentes materiais amostrados.

A maior quantidade de isolados foi obtida nas folhas caídas no solo ($n = 31$); a quantidade detectada em gemas e ramos dormentes foi semelhante ($n = 22$ e $n = 24$, respectivamente).

Ao longo dos anos trabalhados obteve-se 24 isolados na A1, sendo 18 oriundos de gemas dormentes e 6 oriundos de folhas caídas no solo; na A2 foram obtidos 53 isolados, sendo 6 de gemas dormentes, 22 de ramos dormentes e 25 de folhas caídas no solo (Tabela 2).

Em nenhum momento foi observada a presença de *Colletotrichum* spp. no solo coletado (Tabela 2).

3.5.2 Sobrevivência de *Colletotrichum* spp. no período vegetativo

Nas folhas assintomáticas coletadas durante o período vegetativo das plantas (setembro a março) inóculo de *Colletotrichum* spp. não foi observado na suspensão e nas placas inoculadas e incubadas em BOD, nos diferentes meses e anos amostrados.

3.5.3 Patogenicidade dos isolados

Os isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos a partir de gemas dormentes apresentaram diferenças em relação a sua patogenicidade de acordo com o ano de coleta, quando inoculados em frutos e em folhas de macieira, cv. Gala. Os isolados obtidos em 2010 não causaram sintomas em frutos sem ferimento e em folhas, sendo que 75% deles quando inoculados em frutos com ferimento, ocasionaram sintomas de Podridão amarga (PA). Já para os obtidos no ano de 2011 foi observada maior frequência de isolados patogênicos pois além de grande parte (81,3%) ocasionar sintomas de PA em frutos com ferimento (à semelhança dos obtidos no ano anterior), parte deles (37,5%) também foi capaz de ocasionar os mesmos sintomas em frutos sem ferimento; além disso quando inoculados em folhas, a maioria dos isolados (71,4%) foi patogênica, ocasionando sintomas típicos de MFG (Tabela 3).

A comparação da patogenicidade de isolados oriundos de ramos dormentes nos diferentes anos de coleta não foi possível pois estes só foram obtidos no ano de 2011. Estes isolados apresentaram o maior número de indivíduos patogênicos em relação aos obtidos, a partir de gemas dormentes e de folhas caídas no solo, neste mesmo ano. Quando inoculados em frutos com e sem ferimento causaram sintomas de PA (100% e 63,6%, respectivamente) e quando inoculados em folhas ocasionaram sintomas típicos de MFG (100%) (Tabela 3).

Isolados obtidos a partir de folhas caídas no solo mostraram-se patogênicos quando inoculados em frutos com e sem ferimento ocasionando sintomas de PA, tanto os obtidos no ano de 2011 (88,9% e 11,1%, respectivamente) quanto os de 2012 (71,4% e 28,6%, respectivamente). Estes isolados quando inoculados em folhas causaram sintomas típicos de MFG (100% dos inoculados e coletados em 2011 e 80% dos inoculados e coletados em 2012) (Tabela 3).

O volume acumulado de precipitação pluviométrica durante o período de março a agosto foi de 773 mm no ano de 2010, 666 mm no ano de 2011 e de 707 mm no ano de 2012, sendo o ano de 2012 o que apresentou o maior número de dias consecutivos de chuva, seguido de 2010 e 2011. A amplitude térmica entre os meses, considerando-se a temperatura média, foi semelhante nos três anos observados, sendo de 6,4, 6,0 e 6,5 °C nos anos de 2010, 2011 e 2012, respectivamente. A menor porcentagem de umidade relativa nos meses observados foi de 75,7, 79,0 e 75,7% nos anos de 2010, 2011 e 2012, respectivamente, e a maior de 86,0, 87,8 e 89,9% nos anos de 2010, 2011 e 2012, respectivamente (Tabela 4).

3.6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostraram que *Colletotrichum* spp. associado a MFG possui diversas fontes de inóculo primário no pomar, podendo sobreviver na própria planta durante o período dormente em gemas e ramos, e também em folhas caídas no solo.

Apesar de não se ter observado conídios de *Colletotrichum* spp. nas suspensões obtidas, estes estavam presentes pois, quando estas foram plaqueadas em meio semi-seletivo observou-se o desenvolvimento de colônias do patógeno. Isto ocorreu provavelmente devido ao baixo número de conídios presentes na suspensão resultante dos protocolos de isolamento. Recomenda-se a adequação destes protocolos em relação à quantidade de material amostrado e de suspensão resultante, bem como a ponderação da realização de centrifugação da amostra após o período de agitação.

A presença de conídios de *Colletotrichum* spp. em ramos e gemas dormentes, durante o período de outono/ inverno, assim como observado neste estudo, foi anteriormente relatada em macieira por Crusius et al. (2002) trabalhando com a MFG no Brasil e por Borge e Stensvand (2007) em trabalho com *C. acutatum* realizado na Noruega. Cita-se ainda os relatos realizados por Copes e Thomson (2008) que detectaram a presença de *C. gloeosporioides* em ramos de camélia (*Camellia japonica* L.) nos Estados Unidos, e por Talhinhos et al. (2011) que detectaram a presença de *C. acutatum* e de *C. gloeosporioides* em gemas e ramos de oliveira (*Olea europaea* L.) em Portugal. A menor quantidade de inóculo detectada neste trabalho, em relação ao trabalho realizado por Crusius et al. (2002) deve-se ao fato de que neste último os tratamentos fitossanitários resumiram-se a polissulfato de cálcio e oxiclreto de cobre, não sendo as plantas submetidas ao efeito das pulverizações realizadas pelos produtores durante o período vegetativo da cultura. Ainda, Crusius et al. (2002) não realizaram coletas em um mesmo local em anos consecutivos no caso de plantas sem tratamento, e não realizaram coletas mensais e periódicas durante o período de dormência, em plantas tratadas com polissulfato de cálcio e oxiclreto de cobre, o que não permitiu aos autores realizar comparações dentro de cada situação citada.

A patogenicidade dos isolados oriundos de gemas e ramos dormentes em folhas e em frutos de macieira, bem como a detecção destes logo no início do período dormente das

plantas (mês de abril) nos anos de 2011 e 2012, e no mês de agosto no ano de 2010 mostraram que gemas e ramos dormentes constituem importante fonte de inóculo independentemente da quantidade de inóculo presente, pois de acordo com Crusius et al. (2002) quantidades mínimas de inóculo podem desencadear uma epidemia de MFG a campo, visto que em seu trabalho os autores não observaram diferenças na quantidade de inóculo inicial de áreas tratadas (polissulfato de cálcio e oxiclreto de cobre, no período do inverno) e não tratadas, que apresentaram severidades diferentes ao longo do período vegetativo da cultura.

A diferença em patogenicidade entre os isolados obtidos a partir de gemas dormentes, nos diferentes anos de coleta, fornece indícios de que a população do fungo não é homogênea, sendo necessário um estudo populacional e de caracterização morfocultural e genética dos isolados, para identificação não só das espécies envolvidas como também para detecção da variabilidade existente dentro de uma mesma espécie. No Brasil são relatadas as espécies *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e uma outra espécie não identificada de *Colletotrichum* associadas à MFG, sendo a primeira a mais importante por sua frequência e agressividade (KATSURAYAMA et al., 2000b). Em outros países, como Nova Zelândia (JOHNSTON e MANNING, 2005), Coreia (LEE et al., 2007) e Estados Unidos (GONZÁLEZ et al., 2006), foram relatadas as espécies *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* como patogênicas à macieira, sempre associadas à ocorrência de Podridão Amarga da macieira.

A presença de *Colletotrichum* spp. em folhas caídas no solo juntamente com o fato destes mostrarem-se patogênicos em frutos (com e sem fermento) e em folhas de macieira, cv. Gala, ocasionando sintomas típicos de PA e de MFG, respectivamente, é fundamental para a adequação do manejo da doença a campo, visto que estas folhas em decomposição constituem uma importante fonte de inóculo inicial, assim como ocorre com *Venturia* spp. em macieira (KÖHL et al., 2009; CAFFIER et al., 2012). Desta forma, medidas que acelerem a decomposição destas folhas já no início da queda das mesmas podem contribuir de forma expressiva para a redução do inóculo primário da área. Esta informação contraria o exposto por Crusius et al. (2002) de que folhas caídas no solo durante o período de inverno não são fontes de inóculo primário de *Colletotrichum* spp. relacionado à MFG, no estado do Rio Grande do Sul, afirmando que o manejo destas não se faz necessário. Ressalta-se que apesar de Crusius et al. (2002) terem detectado conídios de *Colletotrichum* spp. nas folhas presentes na superfície do solo na época de dormência das plantas (inverno), estes não observaram relação deste inóculo com a incidência de MFG, pois quando os isolados obtidos foram inoculados não provocaram sintomas típicos da doença em frutos e folhas.

O conhecimento da sobrevivência de *Colletotrichum* spp. em folhas caídas vem ao encontro do exposto por Hamada et al. (20XX – capítulo II) de que o início da captura de conídios durante a fase vegetativa da cultura ocorreu nas partes mais baixas da planta (0,3 m de altura em relação ao solo) e que a maior quantidade de conídios dispersos pelo ar e daqueles capturados no escoamento interno de água na planta, também foi encontrada nas partes mais baixas durante todo o período vegetativo, demonstrando que estes conídios capturados a alturas menores foram, em grande parte, oriundos das folhas em decomposição.

Ressalta-se que a maior quantidade de conídios observados nas folhas caídas, comparativamente a gemas e ramos dormentes, pode ser devido à chuvas e à umidade presente no pomar, associadas a força da gravidade, que podem ter carreado os conídios para as folhas situadas sobre o solo.

Apesar de *Colletotrichum* spp. sobreviver no solo em alguns patossistemas, como no caso da antracnose da pimenta (KANG et al., 2009), isto não foi observado no caso da MFG, pois em nenhum momento observou-se a presença de conídios do patógeno no solo, com a metodologia empregada. Esse comportamento do patógeno corrobora o exposto por Ekefan et al. (2000), Freeman et al. (2002) e Ripoche et al. (2008), que afirmaram que o solo não constitui fonte de inóculo de *C. gloeosporioides* devido a incapacidade do patógeno em sobreviver neste ambiente.

A maior quantidade de pulverizações de fungicidas durante o período vegetativo da cultura não resultou em menor quantidade de inóculo presente na área durante o período de dormência das plantas, pois não foi observada uma relação direta entre o número de isolados obtidos em cada área e o número de tratamentos fitossanitários realizados. A A2, mesmo tendo sido submetida a um maior número de pulverizações de fungicidas visando o controle da MFG e apresentar um histórico de menor intensidade da doença, foi aquela em que se obteve a maior quantidade de isolados. Isto pode ser atribuído ao fato de que a quantidade de doença observada durante o período vegetativo da cultura não é dada apenas pela quantidade de inóculo na área, mas também é função das condições ambientais ocorrentes e do manejo fitossanitário aplicado (AGRIOS, 2005). Uma das hipóteses levantadas para a maior detecção de inóculo na A2 é de que a maior quantidade de pulverizações pode ter diminuído a população de eventuais antagonistas naturalmente presentes no pomar, ou ainda, de que o tamanho da amostra não tenha sido suficiente para representar a quantidade de inóculo presente em cada área. Sugere-se a realização de trabalhos futuros que amostram maior quantidade de material vegetal, bem como de trabalhos que verifiquem o efeito dos

tratamentos químicos na quantidade de inóculo presente no pomar, realizados de maneira comparativa entre áreas com e sem tratamento.

A variação no número de isolados obtidos entre os diferentes anos e entre os diferentes meses de coleta provavelmente deveu-se ao momento de aplicação dos fungicidas (Tabela 1), a realização dos tratamentos com produtos cúpricos, e às condições ambientais observadas, principalmente a quantidade, intensidade e frequência de precipitação pluviométrica (Tabela 4). Em relação ao momento de aplicação dos fungicidas, estes foram aplicados no pomar somente até o final do período de colheita dos frutos (fevereiro), não sendo realizados tratamentos após a colheita, o que resultou no aparecimento de inóculo a partir do mês de abril, visto que o período residual dos fungicidas utilizados é de 7 ou 14 dias (de acordo com o produto comercial). Desta forma, recomenda-se a pulverização das plantas com fungicidas que controlem a MFG até o momento de queda natural das folhas e início do período de dormência das plantas (segunda quinzena de abril) como forma de reduzir o inóculo inicial presente no pomar e que será responsável pelo início da epidemia no próximo ciclo produtivo.

O tratamento das plantas com produtos cúpricos, a base de hidróxido de cobre e sulfato de cobre reduziu a quantidade de inóculo presente, mas não o eliminou, pois isolados foram obtidos após a sua realização, que ocorreu no mês de junho, no ano de 2010 e de 2011, e nos meses de abril, maio e junho no ano de 2012, após aplicações de hidróxido de cobre nos meses de março, abril e maio. Esse comportamento de *Colletotrichum* spp. existente no pomar na época de dormência das plantas frente ao tratamento de inverno foi anteriormente relatada por Crusius et al. (2002) no Rio Grande do Sul, que observaram que pulverizações com oxiclreto de cobre reduziram a quantidade de inóculo inicial presente em gemas dormentes em até 94,1%, mas que não o eliminou. A antecipação da aplicação de calda bordalesa nos pomares para o mês de maio e a realização de uma nova pulverização do produto no mês de junho é recomendada para a redução da quantidade de inóculo existente nos pomares no período de outono/ inverno.

Em relação às condições ambientais, nota-se que mais importante do que o volume total de chuva é a frequência e a duração com que esta ocorre, ou seja, vários dias chuvosos, sejam estes contínuos ou concentrados, favorecem o aumento da quantidade de conídios de *Colletotrichum* spp. nos seus locais de sobrevivência durante o período de inverno, a semelhança do observado por Freeman (2008) com *C. acutatum* em morango e por Bedimo et al. (2010) com *C. kahawae* em café, que afirmaram que a maior produção de conídios de *Colletotrichum* spp. ocorreu durante as épocas chuvosas do ano. No Brasil, Bernardi et al. (1983) também observaram que a ocorrência de chuvas abundantes, menos espaçadas e de

maior duração ocasionaram maior incidência de *Glomerella cingulata* em gemas florais de macieira dormentes, cv. Willie Sharp. Esta produção secundária de conídios sem que haja produção de sintomas é um importante mecanismo de sobrevivência, à semelhança do observado por Leandro et al. (2001) trabalhando com *C. acutatum* em morango.

Diante do exposto nota-se que a concentração de esporos é dependente da associação de diferentes variáveis, em especial a quantidade e frequência de chuvas e os tratamentos fitossanitários realizados.

A ausência de conídios de *Colletotrichum* spp. em folhas assintomáticas demonstrou, de acordo com a metodologia empregada, que neste patossistema o patógeno não sobreviveu de forma epifítica em pomar submetido a tratamento químico, ao contrário do que aconteceu com *C. acutatum* em pimenta, berinjela e tomate (FREEMAN, 2008) em que o patógeno sobreviveu epifiticamente sem invadir a planta por um período superior a doze meses.

3.7 CONCLUSÕES

Colletotrichum spp. associado a MFG sobrevive no pomar em gemas e ramos dormentes e nas folhas caídas sobre o solo.

O patógeno não é detectado no solo situado na projeção da copa da planta.

Os isolados obtidos a partir destas fontes são patogênicos em folhas e frutos, com e sem ferimento, de macieira, cv. Gala.

3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5th ed. Academic Press, San Diego. pp. 922, 2005.

ANZANELLO, R.; SANTOS, H.P.; FIALHO, F.B.; MARODIN, G.A.B.; BERGAMASCHI, H. Evolução da endodormência em gemas de macieira em função da presença ou ausência de folhas no outono. In: XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura – **Anais**. Resumo expandido. Bento Gonçalves/ RS, 2012.

BEDIMO, M.J.A.; BIEYSSE, D.; NYASSÉ, S.; NOTTÉGHM, J.L.; CILAS, C. Role of rainfall in the development of coffee berry disease in *Coffea arabica* caused by *Colletotrichum kahawae*, in Cameroon. **Plant Pathology**, v. 59, p. 324-329, 2010.

BERNARDI, J.; FELICIANO, A.; ASSIS, M. Ocorrência de *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*) nas gemas florais e flores de macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 18, n. 6, p. 609-611, 1983.

BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y. **Doenças da Macieira** São Paulo: BASF, 1998.

BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y.; OZAWA, T. Levantamento das espécies de *Colletotrichum* associadas com a mancha foliar de *Glomerella* em macieira, cv Gala, no Estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, resumos (143), 1999.

BORVE, J.; STENSVAND, A. *Colletotrichum acutatum* found on apple buds in Norway. Online. **Plant Health Progress**. 2007.

CAFFIER, V.; LE CAM, B.; EXPERT, P.; TELLIER, M.; DEVAUX, M.; GIRAUD, M.; CHEVALIER, M. A new scab-like disease on apple caused by the formerly saprotrophic fungus *Venturia asperata*. **Plant Pathology**, v. 61, p. 915-924, 2012.

COPE, W.E.; THOMSON, J.L. Survival analysis to determine the length of the incubation period of camellia twig blight caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Disease**, v. 92, p. 1177-1182, 2008.

CRUSIUS, L.U.; FORCELINI, C.A.; SANHUEZA, R.M.V.; FERNANDES, J.M.C. Epidemiology of apple leaf spot. **Fitopatologia brasileira**, v. 27, n. 1, p. 65-70, 2002.

EKEFAN, E.J.; SIMONS, S.A.; NWANKITI, A.O.; PETERS, J.C. Semi-selective medium for isolation of *Colletotrichum gloeosporioides* from soil. **Experimental Agriculture**, v. 36, p. 313-321, 2000.

FREEMAN, S. Management, survival strategies, and host range of *Colletotrichum acutatum* on strawberry. **HortScience**, v. 43, n. 1, p. 66-68, 2008.

FREEMAN, S.; SHALEV, Z.; KATAN, J. Survival in soil of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* pathogenic on strawberry. **Plant disease**, v. 86, p. 965-970, 2002.

GONZÁLEZ, E.; SUTTON, T.B.; CORRELL, J.C. Clarification of the etiology of *Glomerella* leaf spot and bitter rot of apple caused by *Colletotrichum* spp. based on morphology and genetic, molecular and pathogenicity tests. **Phytopathology**, v. 96, p. 982–992, 2006.

JOHNSTON, P.R.; MANNING, M.A. Taxonomy of fruit-rotting fungal pathogens: what's really out there? **New Zealand Plant Protection**, v. 58, p. 42–46, 2005.

KANG, B.K.; KIM, J.; LEE, K.H.; LIM, S.C.; JI, J.J.; LEE, J.W.; KIM, H.T. Effects of temperature and moisture on the survival of *Colletotrichum acutatum*, the causal agent of pepper anthracnose in soil and pepper fruit debris. **Plant Pathology Journal**, v. 25, n. 2, p. 128-135, 2009.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S. Manejo da mancha da gala. **Agropecuária catarinense**, v. 25, n. 2, p. 45-51. Suplemento. 2012.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S.; BECKER, W.F. Mancha foliar da gala: principal doença de verão da cultura da macieira. **Agropecuária catarinense**, v. 13, p. 14-20, 2000a.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S.; OZAWA, T. Sobrevivência de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da mancha foliar da gala. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25 (suplemento):383 (Resumos), 2000b.

KÖHL, J.J.; MOLHOEK, W.W.M.L.; HAAS, B.B.H.G.; GEIJN, H.H.M.G.V. Selection and orchard testing of antagonists suppressing conidial production by the apple scab pathogen *Venturia ianequalis*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 123, n. 4, p. 401-414, 2009.

LEANDRO, L.F.S.; GLEASON, M.L.; NUTTER Jr., F.W. Germination and sporulation of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves. **Phytopathology**, v. 91, p. 659–664, 2001.

LEE, D.H.; KIM, D.H.; JEON, Y.A.; UHM, J.Y.; HONG, S.B. Molecular and cultural characterization of *Colletotrichum* spp. causing bitter rot of apples in Korea. **Plant Pathology Journal**, v. 23, p. 37–44, 2007.

RIPOCHE, A.; JACQUA, G.; BUSSIÈRE, F.; GUYADER, S.; SIERRA, J. Survival of *Colletotrichum gloeosporioides* (causal agent of yam anthracnose) on yam residues decomposing in soil. **Applied Soil Ecology**, v. 38, p. 270-278, 2008.

SANHUEZA, R.M.V; BECKER, W.; BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y; CZERMAINSKI, A.B.C. **Manejo das Doenças de Verão na Produção Integrada de Maçã**. Circular técnica EMBRAPA n° 36. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2002.

STADNIK, M.J.; ARAÚJO, L.; SANHUEZA, R.M.V. Estratégias alternativas de controle da mancha foliar de glomerella e da sarna da macieira. In: Stadnik MJ (Ed) **Manejo Integrado de Doenças da Macieira**. Florianópolis, CCA-UFSC. p. 105-126, 2009.

TALHINHAS, P.; MOTA-CAPITÃO, C.; MARTINS, S.; RAMOS, A. P.; NEVES-MARTINS, J.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; VÁRZEA, V.; SILVA, M. C.; SREENIVASAPRASAD, S.; OLIVEIRA, H. Epidemiology, histopathology and aetiology of olive anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* in Portugal. **Plant Pathology**, v. 60, p. 483–495, 2011.

UREÑA-PADILHA, A.R.; MITCHELL, D.J.; LEGARD, D.E. Oversummer survival of inoculum for *Colletotrichum* crown rot in buried strawberry crown tissue. **Plant Disease**: v. 85, p. 750-754, 2001.

Tabela 1 – Tratamento fitossanitário visando o controle da mancha foliar de *Glomerella* (MFG) realizado em duas áreas (A1 e A2) de um pomar comercial no município de Campo Largo/PR, de acordo com o número de pulverizações e modo de ação dos fungicidas, e tratamentos cúpricos com sulfato de cobre e hidróxido de cobre. Safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12.

Mês	Modo de ação do fungicida ¹	Safr					
		2009/10		2010/11		2011/12	
		A1	A2	A1	A2	A1	A2
Set	Protetor	03	03	03	03	---	03
	Sistêmico	03	03	00	00	---	01
Out	Protetor	03	03	02	02	---	03
	Sistêmico	01	01	03	03	---	04
Nov	Protetor	01	01	03	03	---	04
	Sistêmico	01	01	00	00	---	02
Dez	Protetor	03	04	04	04	---	04
	Sistêmico	01	00	02	03	---	03
Jan	Protetor	03	06	04	04	---	05
	Sistêmico	03	05	01	03	---	01
Fev	Protetor	00	04	00	03	---	03
	Sistêmico	00	00	00	00	---	00
Mar	Protetor	00	00	00	00	---	00
	Sistêmico	00	00	00	00	---	00
	Hidr. de cobre ²	00	00	00	01	---	02
Abr	Protetor	00	00	00	00	---	00
	Sistêmico	00	00	00	00	---	00
	Hidr. de cobre	00	00	00	01	---	01
	Sulf. de cobre ²	00	00	01	00	---	00

¹ Fungicidas protetores: mancozebe, clorotalonil; Fungicidas sistêmicos: tiofanato metílico, piraclostrobina + metiram.

² Sulfato de cobre na concentração de 0,38% e hidróxido de cobre na concentração de 0,35%.

³ --- : não avaliado safra 2011/12, pois a área foi erradicada em julho de 2011.

Tabela 2 – Estádio fenológico (EF) e número de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos a partir de gemas dormentes, ramos dormentes e de folhas caídas no período do inverno, de macieiras da cv. Gala, e a partir do solo correspondente à região de projeção da copa das árvores. Materiais coletados em duas áreas comerciais (A1 e A2) no município de Campo Largo/ PR, nos anos de 2010, 2011, 2012.

Ano	Mês	EF ¹	Local de isolamento ²							
			Gemas dormentes		Ramos dormentes		Folhas caídas		Solo	
			A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
2010	Ago	B/C	2	6	0	0	0	0	0	0
2011	Abr		2	0	0	0	0	0	0	0
	Mai	A	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jun	A	14	0	0	22	6	18	0	0
	Jul	A	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ago	B/C	0	0	0	0	0	0	0	0
2012	Abr		---3	0	---	0	---	3	---	0
	Mai	A	---	0	---	0	---	3	---	0
	Jun	A	---	0	---	0	---	1	---	0
	Jul	A	---	0	---	0	---	0	---	0
	Ago	B/C	---	0	---	0	---	0	---	0
TOTAL			18	6	0	22	6	25	0	0

¹ Estádio fenológico de acordo com a escala de Fleckinger (1960) onde A = Repouso, B = Pré-abrolhamento, C = Abrolhamento, C3 = Encharcamento do gomo. Mês de abril = queda natural das folhas e início da dormência das plantas.

² Coletas realizadas ao final da primeira quinzena de cada mês.

³ --- : não avaliado no ano de 2012.

Tabela 3 – Porcentagem de isolados de *Colletotrichum* spp. patogênicos a frutos, com e sem ferimento, e folhas de macieira sem ferimento da cv. Gala, obtidos durante o período de dormência das plantas, nos anos de 2010, 2011 e 2012. Isolados obtidos a partir de gemas dormentes, ramos dormentes, folhas caídas na projeção da copa das plantas.

Ano	Órgão inoculado	Local de isolamento								
		Gemas dormentes			Ramos dormentes			Folhas caídas		
		N ¹	%		N ¹	%		N ¹	%	
			CF ²	SF ²		CF	SF		CF	SF
2010	Fruto	8	75,0	0	0	---	---	0	---	---
	Folha	7	---	0	0	---	---	0	---	---
2011	Fruto	16	81,3	37,5	22	100,0	63,6	24	88,9	11,1
	Folha	7	---	71,4	5	---	100,0	11	---	100,0
2012	Fruto	0	---	---	0	---	---	7	71,4	28,6
	Folha	0	---	---	0	---	---	5	---	80,0

¹ O número de isolados inoculados em frutos é o total obtido nos ensaios de sobrevivência, enquanto o número de isolados inoculados em folhas foi determinado de acordo com a parte da planta e área de que os isolados provinham, bem como de sua boa capacidade de esporulação.

² CF = com ferimento; SF = sem ferimento

³ --- : não avaliado no ano de 2012.

Tabela 4 – Precipitação acumulada (mm), número de dias com chuva, número de dias consecutivos com chuva, temperatura máxima, mínima e média (°C) e umidade relativa do ar (UR%) em Curitiba/Campo Largo- PR. Dados mensais dos anos 2010, 2011, 2012.

Ano	Mês	Pp ¹ (mm)	DC ²	DCC ³	Temperatura (°C)			UR (%)
					Máx	Mín	Média	
2010	Mar	280,0	6	2/2	26,3	16,6	20,5	84,0
	Abr	180,0	5	4	23,7	13,3	17,8	83,0
	Mai	115,0	4	3	20,7	11,3	15,2	86,0
	Jun	60,0	3	2	20,3	9,5	14,1	82,0
	Jul	106,0	5	2	21,2	10,7	15,1	81,6
	Ago	32,0	2	2	21,4	8,6	14,2	75,7
2011	Mar	57,0	4	3	24,0	15,8	18,9	87,8
	Abr	0,0	0	0	24,2	14,8	18,7	83,3
	Mai	30,0	1	0	21,0	10,9	15,0	82,6
	Jun	145,0	4	2/2	20,1	7,7	12,9	80,1
	Jul	125,0	4	2	20,4	9,8	14,3	82,4
	Ago	309,0	6	2	20,7	10,0	14,6	79,0
2012	Mar	60,0	6	2/4	27,3	15,0	20,3	75,9
	Abr	270,0	11	5/2/3	24,2	14,4	18,2	82,9
	Mai	120,0	11	2/4/2/2	20,6	11,4	15,2	86,0
	Jun	250,0	16	10/6	18,5	10,6	14,0	89,9
	Jul	0,0	0	0	19,8	8,8	13,8	81,2
	Ago	7,0	1	0	22,1	9,2	15,7	75,7

¹ Pp = Precipitação acumulada

² DC = número de dias com chuva

³ DCC = número de dias consecutivos com chuva, que correspondem a dias com a ocorrência de chuva, com intervalo máximo de um dia sem chuva entre eles.

4 CAPÍTULO II - MONITORAMENTO DA QUANTIDADE E DISPERSÃO DO INÓCULO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADO A MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA, EM MACIEIRA.

4.1 RESUMO

O trabalho objetivou monitorar a densidade de conídios de *Colletotrichum* spp. disseminados pelo ar e pela água em diferentes alturas da planta, além de verificar se ocorre a dispersão dos conídios por insetos-praga, ao longo de três anos consecutivos em áreas com (A1 e A2) e sem tratamento químico (A3). Armadilhas para coleta de conídios foram dispostas em diferentes alturas em relação ao solo (0,3 e 1,0 m), e trocadas semanalmente nas duas primeiras safras e quinzenalmente na última safra. A presença de conídios em alturas maiores que a das plantas (2,5 m em relação ao solo) também foi verificada. Procedeu-se a quantificação do número de conídios coletados (ar) e da concentração destes (água), sendo calculada a área abaixo da curva (AAC) formada pela densidade de inóculo ao longo do tempo. Com a utilização de feromônio específico foram coletados quinzenalmente indivíduos de *Grapholita molesta* e *Bonagota cranaodes* que foram incubados em meio semi-seletivo para isolamento de *Colletotrichum* spp. durante 7 dias. Valores de período de molhamento foliar e de dias favoráveis à ocorrência da doença foram calculados a partir dos dados de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica. O início da liberação de conídios foi altamente dependente das condições ambientais e ocorreu entre os meses de novembro (safra 2009/10 e 2011/12) e janeiro (safra 2010/11) nas A1 e A2, e entre os meses de outubro (safra 2009/10) e novembro (safra 2010/11) na A3, estendendo-se até a primeira quinzena de abril em todas. Os meses de maior captura de conídios foram janeiro e fevereiro, em todos os anos. A aplicação de ditiocarbamatos e estrobilurinas reduziu a quantidade de conídios ao longo da safra, mas não foi capaz de interferir no início da liberação destes e não foi eficaz na redução da AAC na safra 2009/10. A maior captura de conídios ocorreu próximo ao solo e a presença destes foi constatada tanto no ar quanto no escoamento de água no interior da planta. Não foram observados conídios de *Colletotrichum* spp. em *Grapholita molesta* e *Bonagota cranaodes*, indicando que estes insetos não são disseminadores do patógeno.

Palavras-chave: Densidade de inóculo. Disseminação. *Grapholita molesta*. *Bonagota cranaodes*.

MONITORING OF INOCULUM QUANTITY AND DISPERSAL OF *Colletotrichum* spp. ASSOCIATED WITH GLOMERELLA LEAF SPOT ON APPLE.

4.2 ABSTRACT

The aim of this study was to describe the *Colletotrichum* spp. conidia density, disseminated by wind and water, at different plant height, besides checking whether conidia dispersion may occur by insects, over three consecutive years in areas with (A1 and A2) and without chemical treatment (A3). Spore traps were placed at different heights from the ground (0,3 and 1,0 m) and replaced weekly for two seasons and every 15 days for one season. The presence of conidia at heights greater than those of the plants (2,5 m from the ground) was observed. The number of conidia trapped (air) and the concentration of them (wind) was determined and the area under the inoculum density curve (AUC) was calculated based on the variation of inoculum amount over time. With the use of pheromone individuals of *Grapholita molesta* and *Bonagota cranaodes* were collected every 15 days and incubated on semi-selective media for *Colletotrichum* spp for 7 days. Leaf wetness and favorable days for the occurrence of the disease were calculated using the observation data of temperature, relative humidity and rainfall. The early release of conidia was dependent on environmental conditions and occurred between November (2009/10 and 2011/12 seasons) and January (2010/11 season) at A1 and A2, and between October (2009/10 season) and November (2010/11 season) at A3, extending to the first half of April in all areas. Highest capture of conidia occurred in January and February, in all seasons. The application of dithiocarbamate and strobilurins reduced the number of conidia during the seasons, but did not interfere in the start of this liberation and was not effective in reducing the AUC at 2009/10 season. Most captured conidia occurred near the ground and these were observed both in air and in water runoff within the plant. There were no conidia of *Colletotrichum* spp. at *Grapholita molesta* and *Bonagota cranaodes* showed that these may not be disseminators of the pathogen.

Key words: Conidia density. Dissemination. *Grapholita molesta*. *Bonagota cranaodes*.

4.3 INTRODUÇÃO

A mancha foliar de *Glomerella* (MFG) é causada por espécies do gênero *Colletotrichum* e ocasiona grandes perdas econômicas aos produtores de maçã no Brasil, sendo mais severa em regiões com elevado volume de precipitação (> 1500 mm anuais) e temperatura média entre 20 e 25 °C na época da colheita (SANHUEZA et al., 2002). No Brasil a doença foi observada inicialmente no Estado do Paraná em 1983 em macieiras da cv. Gala e relatada por Leite et al. (1988). A MFG foi relatada também nos Estados Unidos (GONZÁLEZ e SUTTON, 1999) afetando plantas da cv. Gala nos Estados do Tennessee, Georgia e Carolina do Norte, ocasionando sintomas semelhantes aos observados no Brasil, em folhas e frutos. Tanto no Brasil quanto nos EUA *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. e *C. acutatum* J.H. Simmonds são relatados como agentes causais (KATSURAYAMA et al., 2000; GONZÁLEZ e SUTTON, 1999, 2004). Além destes foi relatado nos EUA que *Glomerella cingulata* também está relacionada à ocorrência da doença (TAYLOR, 1971). Recentemente Wang et al. (2012) relataram a ocorrência da MFG em pomares comerciais da China, nas cvs. Gala e Golden Delicious, e identificaram o fungo *G. cingulata* como agente causal por caracterização morfológica e molecular.

Os sintomas ocorrem em folhas e frutos, caracterizando-se por lesões avermelhadas nas folhas que provocam o desfolhamento precoce da planta, que pode superar 75% e por pequenas pontuações deprimidas nos frutos que surgem principalmente quando estes já estão maduros, devido às condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da doença (KATSURAYAMA e BONETI, 2009). O controle da MFG tem sido ineficiente em anos em que a pressão de inóculo é alta, mesmo realizando-se aplicação de fungicidas de ação preventiva, a cada cinco a dez dias, ou quando há acúmulo de precipitação pluviométrica de 30 mm ou mais entre aplicações (BONETI et al., 2004), o que se deve ao rápido desenvolvimento da doença a campo quando condições favoráveis são observadas (HAMADA et al., 2012). O controle torna-se mais difícil visto as restrições em relação ao período de carência dos fungicidas utilizados pelos produtores, pois o período que antecede à colheita é o mais crítico em relação à ocorrência da doença (SANHUEZA et al., 2002).

Diante desta problemática, o conhecimento de aspectos epidemiológicos da doença é de suma importância, pois de acordo com Bergamin Filho et al. (2004) o conhecimento amplo de todas as características de uma epidemia possibilita uma visão mais completa do comportamento de um patossistema. Uma importante fase de uma epidemia é a dispersão do inóculo. De acordo

com Mundt (2009), conhecer a forma de dispersão do patógeno é essencial para melhor compreensão do aumento da doença e de sua distribuição. Informações a respeito da localização das fontes de inóculo e a respeito do modo de disseminação dos patógenos são importantes pois afetam diretamente o número de plantas, ou partes de plantas, doentes na área (AGRIOS, 2005). Em morangueiro, Ntahimpera et al. (1997) observaram que quanto mais próximo o fruto estava da fonte de inóculo, maior foi a intensidade de infecção. De maneira geral, o vento e a chuva são os principais agentes de dispersão de fungos, enquanto a temperatura e umidade relativa do ar são fatores que desencadeiam o crescimento e o desenvolvimento de propágulos (Bedimo et al., 2012)

Madden (1997) e Lovell et al. (2002) relataram que conídios de *Colletotrichum* spp. são dispersos por respingos de chuva e que a eficiência desta dispersão é dada em função do tamanho das gotas e da energia cinética com que estas impactam sobre as fontes de inóculo. Amorim e Pascholati (2011) ressaltam que os respingos de chuva são responsáveis não só pela disseminação como também pela liberação de estruturas fúngicas e bacterianas produzidas em matrizes mucilaginosas.

Estudos epidemiológicos sobre a MFG desenvolvidos a campo e relacionando as fontes de inóculo primário com a dispersão do patógeno são escassos no Brasil, podendo-se citar o trabalho de Crusius et al. (2002) em pomares do Estado do Rio Grande do Sul, que monitoraram a presença de esporos de *Colletotrichum* spp. e ascospóros de *Glomerella* spp. ao longo de duas safras consecutivas e em duas alturas em relação ao solo, mas que não observaram a presença de conídios e/ou ascospóros.

Assim, o objetivo deste trabalho foi monitorar a densidade de conídios de *Colletotrichum* spp. disseminados pelo ar e pela água em diferentes alturas da planta, além de verificar se ocorre a dispersão dos conídios por insetos-praga, ao longo de três anos consecutivos em áreas com e sem tratamento químico.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Área de estudo

Os ensaios foram realizados ininterruptamente durante as safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12. Trabalhou-se com 3 áreas com manejos fitossanitários diferentes, sendo duas convencionais (A1 e A2) e uma experimental (A3). As plantas nas A1 e A2 eram da cv. Imperial Gala, com 13 anos de idade, enxertadas sobre porta-enxerto M9 e conduzidas sob o sistema de líder central e dispostas no espaçamento de plantio 4,0 x 0,75 m, e na A3 eram da cv. Gala, com 7 anos de idade, também enxertadas sobre porta-enxerto M9 e conduzidas sob o sistema de líder central e dispostas no espaçamento 2,5 x 1,0 m. A A1 e a A2 eram áreas comerciais situadas no município de Campo Largo – PR, e a A3 era uma área experimental situada na Estação Experimental do Canguiri, da Universidade Federal do Paraná, município de Pinhais – PR.

Apesar da distância geográfica das A1 e A2 em relação a A3 (50 Km em linha reta), a comparação entre estas foi realizada visto tratar-se de áreas a uma mesma altitude (~ 930 m em relação ao nível do mar) e sob um mesmo tipo de clima, que de acordo com a classificação de Koppen, é do tipo subtropical úmido, com verões frescos e sem estação seca definida (Cfb).

A A1 foi erradicada em julho de 2011. As pulverizações realizadas nas A1 e A2, visando o controle da MFG, consistiram em fungicidas protetores (mancozebe e clorotalonil) e sistêmicos (tiofanato metílico, piraclostrobina + metiram), sendo a diferença observada no número de pulverizações; A1 foi submetida a um menor número de pulverizações ao longo da safra (22 em 2009/10 e 22 em 2010/11) em relação a A2 que foi submetida a 31, 30 e 35 pulverizações nas safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12, respectivamente. Durante o período de dormência das plantas (inverno) foi realizada apenas pulverização de calda bordalesa (Bordasul[®]) na concentração de 0,38%. As plantas da A3 não receberam nenhum tipo de pulverização durante o período de realização do estudo.

Na safra 2009/10 os dados foram coletados na A1 e na A3; na safra 2010/11 na A1, A2 e A3; na safra 2011/12 os dados foram coletados apenas na A2 devido a erradicação das outras duas áreas.

Durante a realização do trabalho, as condições ambientais (temperatura e umidade relativa do ar) foram monitoradas coletando-se os dados da estação meteorológica do Instituto Tecnológico SIMEPAR. Para o acompanhamento das condições ambientais das A1 e A2, foram considerados os dados coletados na estação meteorológica número 25.264.916, localizada em Curitiba, à altitude de 935 metros em relação ao nível do mar, e distante 31 Km (em linha reta) das áreas de estudo. Para o acompanhamento das condições ambientais da A3 foram considerados os dados coletados na estação meteorológica número 25.254.905,

localizada em Pinhais, à altitude de 930 metros em relação ao nível do mar, e distante 21 Km (em linha reta) das áreas de estudo. A precipitação foi quantificada diariamente por meio da utilização de pluviômetros (Marca JProLab, modelo cunha) existentes nas áreas experimentais, situados no início da linha central de cada talhão.

O número de dias favoráveis (DF) à ocorrência da doença foi calculado de acordo com o proposto por Katsurayama et al. (2000) que considera um DF como sendo aquele com período de molhamento foliar (PMF) acima de 10 horas ($PMF > 10 \text{ h}$) e temperatura acima de $15 \text{ }^\circ\text{C}$ ($T > 15 \text{ }^\circ\text{C}$). O PMF foi estimado com a utilização do modelo de número de horas com umidade relativa acima de 87% ($NHUR > 87\%$), que se baseia no fato de que a presença de água líquida nas superfícies está relacionada, geralmente, com valores elevados de umidade relativa (UR) (GLEASON et al., 1994).

4.4.2 Dispersão dos conídios pelo ar

O monitoramento da densidade de conídios de *Colletotrichum* spp. pelo ar, ao longo da safra, foi efetuado com a instalação de armadilhas caça-esporos em duas diferentes alturas da árvore: 0,3 e 1,0 metro em relação ao solo.

As armadilhas consistiram em lâminas de microscopia (26 x 76 mm) contendo vaselina em sua superfície, situadas sob uma proteção plástica, para evitar que uma eventual chuva, ou até mesmo o orvalho excessivo, removesse os conídios coletados. Esta armadilha foi fixada na planta com a utilização de barbante de forma a possibilitar que as lâminas se movimentassem de acordo com o fluxo de ar (Apêndice 1).

Além das armadilhas descritas foram instaladas armadilhas do tipo “cata-vento” acima da copa das árvores (~2,5 m). Estas armadilhas continham em seu interior uma lâmina de microscopia (26 x 76 mm) com vaselina posicionada a 45° e contra o fluxo de ar (Apêndice 1), e foram instaladas no interior da área.

Nas duas primeiras safras (2009/10 e 2010/11) as lâminas foram trocadas semanalmente, e na safra 2011/12 quinzenalmente. Estas foram levadas ao laboratório onde procedeu-se a observação e contagem do número de conídios de *Colletotrichum* spp. coletados em cada lâmina, na área de uma lamínula (18 x 18 mm), com a utilização de corante azul de lactofenol e em microscópio ótico (10X) (Olympus®, modelo CX40).

4.4.3 Dispersão dos conídios pelo escoamento no interior da planta

Com o objetivo de observar se ocorre a movimentação dos conídios pelo escoamento de água no interior da planta, tubos Eppendorff (1,5 mL de capacidade) foram fixados no tronco principal da árvore, a 0,3 e 1,0 m de altura em relação ao solo, com suas tampas abertas, para a coleta da água de escoamento (Apêndice 1). A área de contato entre o tubo Eppendorff e o tronco principal da árvore correspondeu a aproximadamente 0,5 cm e não houve situações em que ocorresse o transbordamento do líquido coletado. A coleta dos tubos foi realizada semanalmente nas safras 2009/10 e 2010/11 e quinzenalmente na safra 2011/12, nas mesmas áreas em que foram instaladas as armadilhas caça-esporos.

Foi avaliada a presença ou não de conídios, bem como a sua quantificação, de acordo com a metodologia descrita por Estrada et al. (1996) em que as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante descartado. O pellet formado foi ressuspensionado em 100 µL de água destilada e a concentração de conídios determinada pela leitura em câmara de Neubauer.

Trabalhou-se com cinco repetições (cada árvore constituiu uma repetição) em cada área amostrada, para o monitoramento da densidade de conídios pelo ar e pela água, com exceção das armadilhas “cata-vento” em que foi instalada uma por área.

4.4.4 Disseminação de conídios por insetos

Indivíduos de *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) e *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) foram capturados com o auxílio de armadilhas tipo Delta plástica (Isca®) contendo feromônio específico para cada uma das espécies (Isca®). A coleta dos insetos foi realizada quinzenalmente, a partir do período da floração (setembro) e seguiu até o final do ciclo produtivo (março), sendo realizadas 06 repetições para cada inseto (um indivíduo representou uma repetição). Este número foi determinado pela frequência de insetos nas áreas. Um total de 60 indivíduos de *G. molesta* e

42 indivíduos de *B. cranaodes* foram amostrados na safra 2009/10 e de 66 indivíduos de *G. molesta* e 54 indivíduos de *B. cranaodes* foram amostrados na safra 2010/11.

O ensaio foi repetido durante duas safras consecutivas (2009/10 e 2010/11), nas A1 e A2. Estes insetos foram levados ao laboratório e colocados em placas de pétri com meio semi-seletivo para isolamento de *Colletotrichum* spp. (UREÑA-PADILHA et al., 2001). As placas foram mantidas em B.O.D. (Eletrolab®, modelo 122 FC) a temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ até o aparecimento de eventuais colônias. As colônias foram analisadas e identificadas de acordo com suas características culturais e morfológicas (BONETI et al., 1999). A quantificação baseou-se na determinação do número de isolados obtidos em cada coleta, sendo que cada colônia observada no meio semi-seletivo representou um isolado.

4.4.5 Análise dos dados

Calculou-se a área abaixo da curva da densidade de conídios de *Colletotrichum* spp. ao longo do tempo, coletados pelo ar e pelo escorrimento de água. Os valores foram expressos de forma relativa, ou seja, médias simples diárias de acordo com o número de dias compreendido pelo período de avaliação de cada uma das áreas. Considerou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado e comparou-se o número e a concentração de conídios capturados nas diferentes alturas dentro de uma mesma área, e também comparou-se o número e a concentração de conídios capturados a uma mesma altura nas diferentes áreas (A1, A2 e A3).

Para a comparação da concentração de conídios entre áreas e coletados a 0,3 m de altura em relação ao solo e para a comparação da concentração de conídios em diferentes alturas na A3 os dados foram transformados de acordo com o método Box-Cox (BOX & COX, 1964) para atender as pressuposições da análise de variância, e submetidos a um teste de separação de médias (Scott-Knott, $\alpha=0,05$). As análises foram realizadas utilizando-se o ambiente R, versão 2.13.2 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

4.5 RESULTADOS

O volume de precipitação pluviométrica variou entre as diferentes áreas e entre os anos. No ano de 2009 (setembro a dezembro) a A1 apresentou 583 mm e a A3 122 mm, sendo este comportamento inverso nos anos de 2010 e de 2011 (01/01/11 a 12/07/11) em que a A1 apresentou 1581 mm e 588 mm, respectivamente, e a A3 2365 mm e 1155 mm, respectivamente. As chuvas foram distribuídas mais uniformemente ao longo do tempo na A3, comparativamente a A1, e mais frequentes no período vegetativo do que no período de dormência das plantas (Figuras 1C e 2C). Na A2 o volume de precipitação no ano de 2010 foi de 1581 mm, no ano de 2011 de 1280 mm e no ano de 2012 (janeiro a abril) de 831 mm (Figura 2C).

Em relação a umidade relativa do ar média (UR%) durante o período avaliado, a A1 apresentou menor UR% em relação à A3, sendo de 84%, 81,7% e 83,8% e de 89%, 86,7% e 87,9%, nos anos de 2009, 2010 e 2011, nas A1 e A3, respectivamente.

As A1 e A2 apresentaram 94 DF na safra 2009/10 enquanto a A3 apresentou, no mesmo período, 123 DF para a ocorrência da MFG. Na safra 2010/11 as A1 e A2 apresentaram 87 DF e a A3 apresentou 114 DF. Na safra 2011/12 a A2 apresentou 46 DF para a ocorrência da doença.

4.5.1 Dispersão dos conídios pelo ar

Na safra 2009/10 o número de conídios capturados no ar foi superior aos capturados nas safras 2010/11 e 2011/12, chegando ao máximo de 153,8 na A1 e 154,6 na A3 na altura de 0,3 m enquanto na safra 2010/11 o máximo observado foi de 12,5 na A1, 6,8 na A2 e 11,4 na A3, na altura de 0,3 m. Na safra 2011/12 o máximo observado foi de 18 conídios na A2 na altura de 0,3 m. Independentemente do número total, observou-se que a presença de conídios no ar é constatada a partir do início do mês de outubro (safra 2009/10) e novembro (safra 2010/11) na A3, estendendo-se até a primeira quinzena de abril, com aparecimento ocasional de conídios após esta época, ou seja, no período de dormência das plantas (Figura 3A).

Na A1 observou-se que o período inicial de captura dos conídios é mais tardio em relação à A3 (novembro em 09/10 e janeiro em 10/11), cessando na primeira quinzena de abril (Figura 1A).

De forma geral, as lâminas dispostas mais próximas ao solo (0,3 m de altura) capturaram maior número de conídios do que as situadas a 1,0 e 2,5 m de altura, nos três anos

avaliados (Figuras 1A, 2A e 3A). A AAC gerada a partir do número de conídios capturados nas armadilhas mais próximas ao solo, em todas as áreas, foi sempre significativamente maior do que as geradas a partir das armadilhas situadas em alturas superiores (Tabela 2).

O maior número de conídios foi observado nos meses de janeiro e fevereiro, em todos os anos amostrados, independentemente do tratamento fitossanitário realizado (Figuras 1A, 2A e 3A).

Na A1, observou-se a presença de picos em relação ao número de conídios capturados em decorrência do tratamento com fungicidas realizado com ditiocarbamatos e estrobirulinas, bem como um menor número de conídios dentro de uma mesma safra, em comparação com a A3 (Figura 3A). Entretanto, o início de coleta tardio e o menor número de conídios observados não resultou em diferenças significativas entre a A1 e a A3 na área abaixo da curva (AAC) formada pela variação da quantidade destes ao longo do tempo, tanto na altura de 0,3 m quanto na altura de 1,0 m (Tabela 2).

Comparando-se as áreas com diferentes tratamentos fitossanitários (A1 e A2) é possível verificar que a variação na quantidade de conídios coletados nestas é semelhante ao longo do tempo, entretanto a A1 por ter sido submetida a um menor número de pulverizações (Tabela 1) apresenta em todos os momentos um número de conídios superior em relação à A2 (Figuras 1A e 2A), o que resultou em uma AAC menor na A2 nas duas alturas (Tabela 2).

4.5.2 Dispersão dos conídios pelo escoamento no interior da planta

A época de captura dos conídios no interior da planta, pelo escoamento de água, apresentou maiores diferenças entre safras do que os capturados pelo ar (Figuras 1B, 2B e 3B). Na safra 2009/10, na A1, a detecção ocorreu antes do mês de novembro de 2009 e prolongou-se até o início de abril de 2010, enquanto na safra 2010/11 teve início no mês de outubro e prolongou-se até o início do mês de abril, à semelhança do observado no ano anterior (Figura 1B). Na A3 a época de captura de conídios na safra 09/10 foi coincidente com a A1. Já na safra 10/11 a captura iniciou no mês de novembro e prolongou-se até o início do mês de maio (Figura 3B). Na A2, na safra 2010/11, a época de início e encerramento da captura de conídios foi igual a A1 nesta mesma safra (Figura 2B).

A AAC gerada a partir do número de conídios capturados no escoamento de água no interior da planta não diferiu entre as alturas e entre as áreas, com exceção da A2 que diferiu

das demais quando se observa a concentração de conídios na altura de 1,0 m. Na A2 a concentração de conídios capturados nas diferentes alturas foi significativamente diferente, sendo maior em alturas inferiores (0,3 m) (Tabela 2).

Assim como na análise dos conídios capturados no ar, os conídios capturados pelo escorrimento da água no interior da planta, na área tratada, mostraram picos devido ao tratamento com fungicidas destinados ao controle da doença (Figuras 1B, 2B e 3B).

4.5.3 Disseminação de conídios por insetos

Em nenhuma das coletas foi detectada a presença de conídios de *Colletotrichum* spp. nos insetos amostrados, nos anos avaliados.

4.6 DISCUSSÃO

A disseminação de conídios de *Colletotrichum* spp. associados a MFG ocorre pelo ar e pelo escorrimento de água no interior da planta, sendo mais intenso quanto mais próximo ao solo, corroborando o exposto por Hamada et al. (201X – capítulo I) que relata que a maior parte do inóculo primário do patógeno encontra-se nas folhas caídas no solo.

As condições meteorológicas observadas nas áreas trabalhadas, principalmente em relação ao volume de precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar, refletiram diretamente na quantidade de conídios capturados.

O maior número de conídios capturados na safra 2009/10 coincide com o maior volume de precipitação acumulado observado nesta safra (Figura 1C e 3C), o que ocasionou aumento do PMF e, conseqüentemente, do número de DF para a ocorrência da doença (Tabela 1). Este comportamento do patógeno coincide com o de espécies de *Colletotrichum* presentes em regiões tropicais que apresentam maior produção, disseminação e liberação de esporos durante as épocas chuvosas do ano (MILA et al., 2005; FREEMAN, 2008; BEDIMO et al., 2010). Madden et al. (1996) relataram que em morango o máximo de infecção de frutos ocorreu com uma intensidade intermediária de chuva de aproximadamente 30 mm por hora.

Os períodos de captura dos conídios tiveram influência do volume de precipitação ocorrido nos dias antecedentes. Entretanto, para que esta relação seja positiva é necessário que o volume de precipitação semanal seja maior que 50 mm mas não ultrapasse os 150 mm, sempre associado a UR próxima de 90% (Figuras 1C, 2C e 3C), pois volumes excessivos de chuva podem remover os conídios das superfícies vegetais (MADDEN et al., 1996; HUERTA-PALACIOS et al., 2009) interrompendo os processos de patogênese posteriores que culminam com a produção de novo inóculo. A ocorrência de precipitações para que haja a liberação de conídios de *Colletotrichum* spp. a partir das suas fontes de inóculo é relatada nos mais diferentes hospedeiros como *Coffea arabica* L. (BEDIMO et al., 2010), *Mangifera indica* L. (HUERTA-PALACIOS et al., 2009), *Citrus* spp. (AGOSTINI et al., 1993), *Fragaria* spp. (MADDEN et al., 1993; NTAHIMPERA et al., 1999) e *Malus domestica* Borkh (KATSURAYAMA e BONETI, 2009).

O maior número de conídios capturados foi observado nos meses de janeiro e fevereiro, em todas as áreas e em todas as safras amostradas, coincidindo com a época de maior intensidade da MFG nos pomares (KATSURAYAMA e BONETI, 2009). A maior quantidade de inóculo pode ser atribuída às condições ambientais mais favoráveis (temperatura média próxima dos 25 °C e UR próxima dos 90%) que resultaram em mais DF para a ocorrência da doença, e ao menor número de pulverizações decorrente do período de colheita, associado à uma maior produção de inóculo secundário, visto que a epidemia já teria iniciado nas áreas.

O maior número de conídios capturados a 0,3 metro de altura em relação ao solo fornece indícios de que o inóculo inicial é oriundo de folhas que caem no outono do ano anterior e ali permanecem durante todo o período dormente das plantas, contrariando o exposto por Crusius et al. (2002) que afirmaram que as folhas em decomposição, no estado do Rio Grande do Sul, não constituíram fonte de inóculo da MFG e que não observaram conídios ou ascósporos do patógeno no ar, em períodos favoráveis à ocorrência da doença. Apesar da necessidade de maiores estudos a campo para a confirmação desta hipótese, ela é levantada por corroborar a afirmativa de Valdebenito-Sanhueza et al. (2002) de que as primeiras infecções da MFG ocorrem geralmente na parte baixa e interna das plantas. É importante salientar que esta afirmação de Valdebenito-Sanhueza et al. (2002) foi baseada em observações de campo e relatos de produtores, e não em ensaio experimental.

Neste estudo não se diferenciou ascósporos de *Glomerella* spp. e conídios de *Colletotrichum* spp. capturados nas lâminas das armadilhas caça-esporos, visto a frequência da coleta de dados e a semelhança morfológica destes, que conferiram dificuldades

operacionais. Entretanto, trabalhos futuros que realizem essa diferenciação são recomendados para que se possa comprovar a contribuição dos ciclos primário e secundário no desenvolvimento da epidemia, bem como inferir sobre a importância das fases sexuada e assexuada do patógeno neste patossistema.

A observação de conídios em armadilhas situadas a 1,0 m de altura em relação ao solo e nas armadilhas de coleta do escoamento de água no interior da planta em épocas coincidentes ou até mesmo antecipadamente (no caso do escoamento) em relação às situadas a 0,3 m de altura em relação ao solo demonstra que o patógeno pode estar presente na própria planta, em ramos e gemas dormentes, como relatado anteriormente para diferentes espécies de *Colletotrichum* (CRUSIUS et al., 2002; STENSVAND et al., 2003; BORVE e STENSVAND, 2007; KANG et al., 2009) e que este distribuiu-se por toda a planta visto a constatação de concentrações maiores nas armadilhas situadas em alturas inferiores, que foram responsáveis pela coleta de conídios presentes em uma maior área da planta, até mesmo no período inicial de captura.

Embora as maiores quantidades de conídios tenham sido observadas em armadilhas situadas no dossel das plantas em relação às armadilhas do tipo “cata-vento”, situadas a aproximadamente 2,5 m, não se pode ignorar o fato de que conídios foram também coletados nessas alturas superiores. Isto provavelmente ocorreu pela liberação dos conídios presentes nas folhas situadas na parte superior das plantas, e que foram atingidas por respingos de chuva que promoveram a sua liberação e movimentação (MEYER et al., 2008) visto que a intensidade da precipitação influi na energia cinética das gotas, o que pode atuar de forma positiva ou negativa na dispersão dos esporos (MADDEN et al., 1996), e determina a distância atingida por estes em relação à fonte de inóculo. Deve-se considerar também que os esporos observados nestas alturas (~2,5 m) poderiam ser ascósporos de *Glomerella* spp. liberados pelos respingos de chuva e disseminados por correntes de ar (JONES et al., 1996).

Os fungicidas ditiocarbamatos e estrobilurinas foram capazes de reduzir a quantidade de inóculo capturado ao longo do período vegetativo devido à sua ação protetora e curativa, respectivamente, diminuindo a produção de novo inóculo pela atuação antes ou após o processo de infecção. Entretanto, a aplicação destes parece não interferir na época de início de liberação dos esporos a campo, que é influenciada por fatores ambientais. Desta forma, faz-se necessário identificar com precisão quais as fontes de inóculo primário mais representativas para esse patossistema e a partir daí estabelecer estratégias de controle e manejo voltadas para a redução deste inóculo inicial, pois pequenas quantidades de inóculo podem desencadear uma epidemia de MFG (CRUSIUS et al., 2002). O tratamento químico não foi capaz de

diminuir a AAC gerada a partir da quantidade de conídios ao longo do tempo, em anos com alta pressão de inóculo (2009/10), fato que reforça a importância de se conhecer com precisão as fontes de inóculo existentes no pomar.

Apesar dos hábitos de *G. molesta* realizar punções em frutos de macieira em qualquer estágio de desenvolvimento para deposição de seus ovos no interior dos frutos e, de *B. cranaodes* alojar-se junto às folhas de macieira (KOVALESKI e RIBEIRO, 2003), a ausência de conídios externamente à essas pragas mostra que estas não exercem importância na disseminação do patógeno, sendo necessária a realização de estudos envolvendo outros gêneros ocorrentes no pomar, a exemplo de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) e *Apis mellifera* envolvida no processo de polinização, visto a presença do patógeno de forma latente em flores de macieira da cv. Gala (dados não publicados). A importância de insetos praga como disseminadores de patógenos é relatada em diversos patossistemas, podendo-se citar *C. graminicola* em trigo sendo disseminado por *Locusta migratoria* e *Schistocerca gregaria* (HASAN, 1982), *C. gloeosporioides* em citrus disseminado por *Drosophila* sp. e diversos outros insetos (PEÑA e DUNCAN, 1989) e *Fusarium mangiferae* em manga disseminado por *Aceria mangiferae* (ATINSKY et al., 2009).

4.7 CONCLUSÕES

A disseminação de *Colletotrichum* spp. associado à MFG ocorre tanto pelo ar quanto pelo escorrimento de água no interior da planta, ocorrendo com mais intensidade na parte baixa das plantas.

A aplicação de fungicidas não interfere na época de início de liberação dos conídios mas é capaz de reduzir a quantidade destes ao longo da safra.

Grapholita molesta e *Bonagota cranaodes* não são disseminadores de conídios de *Colletotrichum* spp. em macieira.

4.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI, J.P.; BUSHONG, P.M.; BHATIA, A.; TIMMER, L.W. Influence of environmental factors on severity of citrus scab and melanose. **Plant Disease**, v. 87, p. 1102-1106, 1993.

AGRIOS, G.N. Plant Disease Epidemiology. In: **Plant Pathology** (5th edition). USA: 2005. p. 266 – 291.

AMORIM, L.; PASCHOLATI, S. F. Ciclo das relações patógeno-hospedeiro. In: **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4ª ed. São Paulo: Ceres, 2011, v. 1, p. 61-98.

ATINSKY, G.; FREEMAN, S.; MAYMON, M.; BELAUSOV, E.; OCHOA, R.; BAUCHAN, G.; SKORACKA, A.; PEÑA, J.; PALEVSKY, E. The role of eriophyoids in fungal pathogen epidemiology, mere association or true interaction? **Exp Appl Acarol**. On line, 2009.

BEDIMO, M. J. A.; CILAS, C.; NOTTÉGHEM, J.L.; BIEYSSE, D. Effect of temperatures and rainfall variations on the development of coffee berry disease caused by *Colletotrichum kahawae*. **Crop Protection**, v. 31, p. 125-131, 2012.

BEDIMO, M.J.A.; BIEYSSE, D.; NYASSÉ, S.; NOTTÉGHEM, J.L.; CILAS, C. Role of rainfall in the development of coffee berry disease in *Coffea arabica* caused by *Colletotrichum kahawae*, in Cameroon. **Plant Pathology**, v. 59, p. 324-329, 2010.

BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B.; AMORIM, L.; JESUS JUNIOR, W. C. Análise espacial de epidemias. In: **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Editora Perffil, 2004. p. 195 – 240.

BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y.; OZAWA, T. Levantamento das espécies de *Colletotrichum* associadas com a mancha foliar de *Glomerella* em macieira, cv Gala, no Estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, resumos (143), 1999.

BONETI, J.I.S.; BECKER, W.F.; KATSURAYAMA, Y. Sistema de previsão da mancha foliar-da-gala em macieira, cultivar gala. **Agropecuária Catarinense**, v.17, p. 64-67, 2004.

BORVE, J.; STENSVAND, A. *Colletotrichum acutatum* found on apple buds in Norway. **Plant Health Progress**. On line, 2007.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis transformation. **Journal of the Royal Statistical Society**, Série B, v. 26, p. 211-252, 1964. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/10.2307/2984418>>. Acesso em: 10 de jun. 2012.

CRUSIUS, L.U.; FORCELINI, C.A.; SANHUEZA, R.M.V; FERNANDES, J.M.C. Epidemiology of apple leaf spot. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 65-70, 2002.

ESTRADA, A.B.; JEFRIES, P.; DODD, J.C. Field evaluation of a predictive model to control anthracnose disease of mango in the Philippines. **Plant Pathology**, v. 45, p. 294-301, 1996.

FLECKINGER, J. Phenologie at arboriculture fruitiere in Bom Jardinier. Paris: **INRA**, 1960. p. 362-372.

FREEMAN, S. Management, survival strategies, and host range of *Colletotrichum acutatum* on strawberry. **HortScience**, v. 43, n. 1, p. 66-68, 2008.

GLEASON, M.L.; TAYLOR, S.E.; LOUGHIN, T.M.; KOEHLER, K.J. Development and validation of an empirical model to estimate duration of dew periods. **Plant Disease**, v. 78, p. 1011-1016, 1994.

GONZÁLEZ, E.; SUTTON, T.B. First report of Glomerella leaf spot (*Glomerella cingulata*) of apple in the United States. **Plant Disease**, v. 83, p. 1174, 1999.

GONZÁLEZ, 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**, v. 88, p.1335-1340, 2004.

HAMADA, N.A.; NESI, C.N.; ALVES, G.; MAY DE MIO, L. L. Fungicidas associados ou não a fosfitos no controle da mancha foliar de glomerella em macieira. **Agrária**, v. 7, p. 831-837, 2012.

HASAN, S. The possible role of two species of Orthoptera in the dissemination of a plant pathogenic fungus. **Annals of Applied Biology**, v. 101, p. 205–209, 1982.

HUERTA-PALACIOS, G.; HOLGUÍN-MELÉNDEZ, F.; BENÍTEZ-CAMILO, F.A.; TOLEDO-SRREOLA, J. Anthracnose epidemiology [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. And Sacc.] on mango cv. Ataulfo (*Mangifera indica* L.) in the Soconusco, Chiapas, Mexico. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v. 27, n. 2, p. 93-105, 2009.

JONES, A.L.; SUTTON, T.B. **Diseases of tree fruits in the East**. Michigan State University, 1996.

KANG, B.K.; KIM, J.; LEE, K.H.; LIM, S.C.; JI, J.J.; LEE, J.W.; KIM, H.T. Effects of temperature and moisture on the survival of *Colletotrichum acutatum*, the causal agent of pepper anthracnose in soil and pepper fruit debris. **Plant Pathology Journal**, v. 25, n. 2, p. 128-135, 2009.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, JIS.; BECKER, WF. Mancha foliar da gala: principal doença de verão da cultura da macieira. **Agropecuária catarinense**, v. 13, p. 14-20, 2000.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S. Manejo das doenças de verão da macieira no sul do Brasil. In: Stadnik, MJ (Ed) **Manejo integrado de doenças da macieira**. Florianópolis-SC: Universidade Federal de Santa Catarina. 2009. p. 45-64.

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L.G. Manejo de pragas na produção integrada de maçã. In: PROTAS, J.F.da. S.; SANHUEZA, R.M.V. **Produção integrada de frutas: o caso da maçã no Brasil**. Bento Gonçalves: EMBRAPA UVA E VINHO, 2003. p. 61-68.

LEITE, R.P.; TSUNETTA, M.; KISHINO, A.Y. Ocorrência de mancha foliar de *Glomerella* em maieira no estado do Paraná. Fundação Instituto Agrônômico do Paraná. **Informe de Pesquisa**, 81, 1988.

LOVELL, D. J.; PARKER, S. R.; VAN PETEGHEN, P.; WEBB, D.A.; WELHAM, S.J. Quantification of raindrop kinetic energy for improved prediction on splash-dispersed pathogens. *Phytopathology*, v. 92, p. 497-503, 2002.

MADDEN, L.V.; WILSON, L.L.; ELLIS, M.A. Field spread of anthracnose fruit rot of strawberry in relation to ground cover and ambient weather conditions. **Plant Disease**, v. 77, p. 861-866, 1993.

MADDEN, L.V.; YANG, X.; WILSON, L.L. Effects of rain intensity on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. **Phytopathology**, v. 86, p. 864-874, 1996.

MADDEN, L. V. Effect of rain on splash dispersal of fungal pathogens. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 19, p. 225-230, 1997.

MEYER, J.Y.; TAPUTUARAI, R.; KILLGORE, E. Dissemination and impacts of the fungal pathogen, *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *miconiae*, on the invasive alien tree, *Miconia calvescens*, in Tahiti, South Pacific. In: **Proceedings of XII International Symposium on Biological Control of Weeds** (eds: Julien, MH, Sforza, R, Bon, MC, Evans, HC, Hatcher, PE, Hinz, HL, Rector, BG). CAB International Wallingford, UK, p. 594-600, 2008.

MILA, A.L.; DRIEVER, G.F.; MORGAN, D.P.; MICHAILEDIS, T.J. Effect of latent infection, temperature, precipitation and irrigation on panicle and shoot blight of pistachio in California. **Phytopathology**, v. 95, p. 926-932, 2005.

MUNDT, C. C. Importance of autoinfection to the epidemiology of polycyclic foliar disease. **Phytopathology**, v. 99, p. 116-1120, 2009.

NTAHIMPERA, N.; MADDEN, L.V.; WILSON, L.L. Effect of rain distribution alteration on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. **Phytopathology**, v. 87, p. 649-655, 1997.

NTAHIMPERA, N.; WILSON, L.L.; ELLIS, M.A.; MADDEN, L.V. Comparison of rain effects on splash dispersal of the *Colletotrichum* species infecting strawberries. **Phytopathology**, v. 89, p. 555-563, 1999.

PEÑA, J.E.; DUNCAN, R. Role of arthropods in the transmission of postbloom fruit drop. **Proceedings Florida State Horticultural Society**, v. 102, p. 249-251, 1989.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponível em: <http://www.R-project.org> Acesso em 15 de abril de 2011.

SANHUEZA, R.M.V; BECKER, W.; BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y; CZERMAINSKI, A.B.C. **Manejo das Doenças de Verão na Produção Integrada de Maçã**. Circular técnica EMBRAPA n° 36. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2002.

STENSVAND, A.; BORVE, J.; TALGO, V. Production of conidia of *Colletotrichum gloeosporioides* from some plant parts in sour cherry. In: **Proceedings of the 8th Internacional Congress of Plant Pathology**, 2-7 February, 2003, Christchurch, New Zealand, Abstract II.7. 2003.

TAYLOR, J. A necrotic leaf blotch and fruit rot of apple caused by strain of *Glomerella cingulata*. **Phytopathology**, v. 61, p. 221-224, 1971.

UREÑA-PADILHA, A.R.; MITCHELL, D.J.; LEGARD, D.E. Oversummer survival of inoculum for *Colletotrichum* crown rot in buried strawberry crown tissue. **Plant Disease**, v. 85, p. 750-754, 2001.

WANG, C.X.; ZHANG, Z.F.; LI, B.H. First report of Glomerella Leaf Spot of Apple Caused by *Glomerella cingulata* in China. **Plant Disease**, v. 96, n. 6, p. 912, 2012.

Tabela 1 – Estádio fenológico (EF) de plantas de macieira, número de dias favoráveis (DF) para a ocorrência da mancha foliar de *Glomerella* (MFG) em pomares de macieira com (A1 e A2) e sem tratamento químico (A3) e número de pulverizações (NP) para o controle da MFG. Dados semanais das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12.

		Safr										
		2009/10				2010/11				2011/12 ⁴		
Mês	EF ¹	DF ²		NP ³		DF		NP		DF	NP	
		A1/A2	A3	A1	A2	A1/A2	A3	A1	A2	A2	A2	
Set	D	1	5	2	1	1	0	0	2	2	0	1
	D ₃	2	5	1	1	1	0	0	0	0	1	0
	E	3	2	1	1	1	0	0	0	0	1	2
	F ₁	4	2	2	2	2	4	4	1	1	2	0
Out	F ₂	1	2	1	2	2	2	2	1	1	1	1
	F ₂	2	3	1	1	1	1	1	0	2	4	2
	G	3	2	3	0	0	4	4	3	1	0	3
	G	4	4	3	2	2	2	2	1	1	3	0
Nov	H	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	4
	I	2	1	2	0	0	1	1	0	0	2	1
	I	3	2	5	1	1	2	2	1	1	0	1
	J	4	1	3	1	1	1	1	1	1	0	1
Dez	J	1	3	4	1	1	6	6	2	2	0	3
	J	2	4	5	2	1	2	2	2	2	1	3
	J	3	1	5	1	1	2	2	3	0	0	1
	K	4	4	7	0	1	4	4	0	2	3	1
Jan	K	1	3	7	2	3	2	2	1	2	1	3
	K	2	6	5	1	3	2	2	2	3	0	0
	K	3	2	5	1	3	4	4	1	3	1	0
		4	5	7	2	2	1	1	1	0	0	3
Fev		1	0	2	0	1	3	3	0	1	2	1
		2	3	4	0	1	1	1	0	2	0	2
		3	3	3	0	1	4	4	0	0	4	0
		4	3	6	0	1	2	2	0	0	1	0

Continua...

Continuação da Tabela 1

Mar		1	4	7	0	0	6	7	0	1	1	1
		2	0	1	0	0	5	7	0	0	0	0
		3	0	2	0	0	5	6	0	1	2	0
		4	6	7	0	0	7	7	0	0	1	1
Abr		1	1	3	0	0	1	7	0	0	1	0
		2	1	0	0	0	2	5	0	0	1	0
		3	0	2	0	0	2	5	0	0	2	1
		4	4	5	0	0	1	4	0	0	1	0
Mai	A	1	2	2	0	0	1	2	0	0	3	0
	A	2	1	1	0	0	1	2	0	0	1	0
	A	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	A	4	6	4	0	0	1	1	0	0	1	0
Jun	A	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	A	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
	A	3	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
	A	4	0	1	0	0	1	3	0	0	0	0
Jul	A	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	A	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	A	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	A	4	1	0	0	0	3	3	0	0	0	0
Ago	B	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	B	2	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0
	C	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C ₃	4	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0

¹ Estádio fenológico de acordo com a escala de Fleckinger (1960) onde A = Repouso, B = Pré-abrolhamento, C = Abrolhamento, C3 = Encharcamento do gomo, D = ponta verde, D3 = Botão verde, E = botão rosa, F1 = abertura (1ª flor), F2 = plena floração, G = queda das pétalas, H = Queda total das pétalas, I = vingamento de frutos, J = Frutos em desenvolvimento, K = maturação. Final de janeiro e mês de fevereiro = colheita. Meses de março e abril = queda natural das folhas e início da dormência das plantas.

² Número de dias favoráveis calculado de acordo com Katsurayama et al. (2000) que considera um DF como sendo aquele com período de molhamento foliar (PMF) acima de 10 horas (PMF > 10 h) e temperatura acima de 15 °C (T > 15 °C).

³ Pulverizações com fungicidas sistêmicos (tiofanato metílico, piraclostrobina + metiram) e protetores (mancozebe, clorotalonil).

⁴ As áreas A1 e A3 foram erradicadas em julho de 2011 e por isso não foram avaliadas na safra 2011/12.

Tabela 2 – Área abaixo da curva formada pela densidade de conídios de *Colletotrichum* spp. ao longo do tempo, coletados no ar com diferentes modelos de armadilhas caça-esporos, posicionadas em diferentes alturas em relação ao solo, e coletados pelo escorrimento interno de água na planta, em diferentes alturas, ao longo das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12 em pomares de macieira com (A1 e A2) e sem tratamento químico (A3).

Tipo de armadilha	Altura da armadilha	Área abaixo da curva ¹		
		A1	A2	A3
Ar – lâminas	0,30 m	10,258 aA ²	1,894 aB	11,072 aA
	1,0 m	7,658 bA	1,126 bB	6,208 bA
Ar – Cata vento	2,5 m	4,403 ³	1,254	5,390
Escorrimento	0,30 m	0,158 aA	0,124 aA	0,213 aA
	1,0 m	0,123 aA	0,062 bB	0,222 aA

¹ valores relativos ao tempo de avaliação (média simples diária), sendo o período de avaliação da disseminação pelo ar na A1 de 686 dias, na A2 de 742 dias e na A3 de 756 dias, e da disseminação pelo escorrimento na A1 de 602 dias, na A2 de 742 dias e na A3 de 707 dias.

² médias seguidas de mesma letra (minúscula) na coluna não diferem entre si. Médias seguidas da mesma letra (maiúscula) na linha não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha = 0,05$). Dados originais sem transformação. Comparações realizadas entre os valores observados em um mesmo tipo de armadilha.

³ não considerado no teste de separação de médias, por não haver repetições das lâminas a esta altura em uma mesma área.

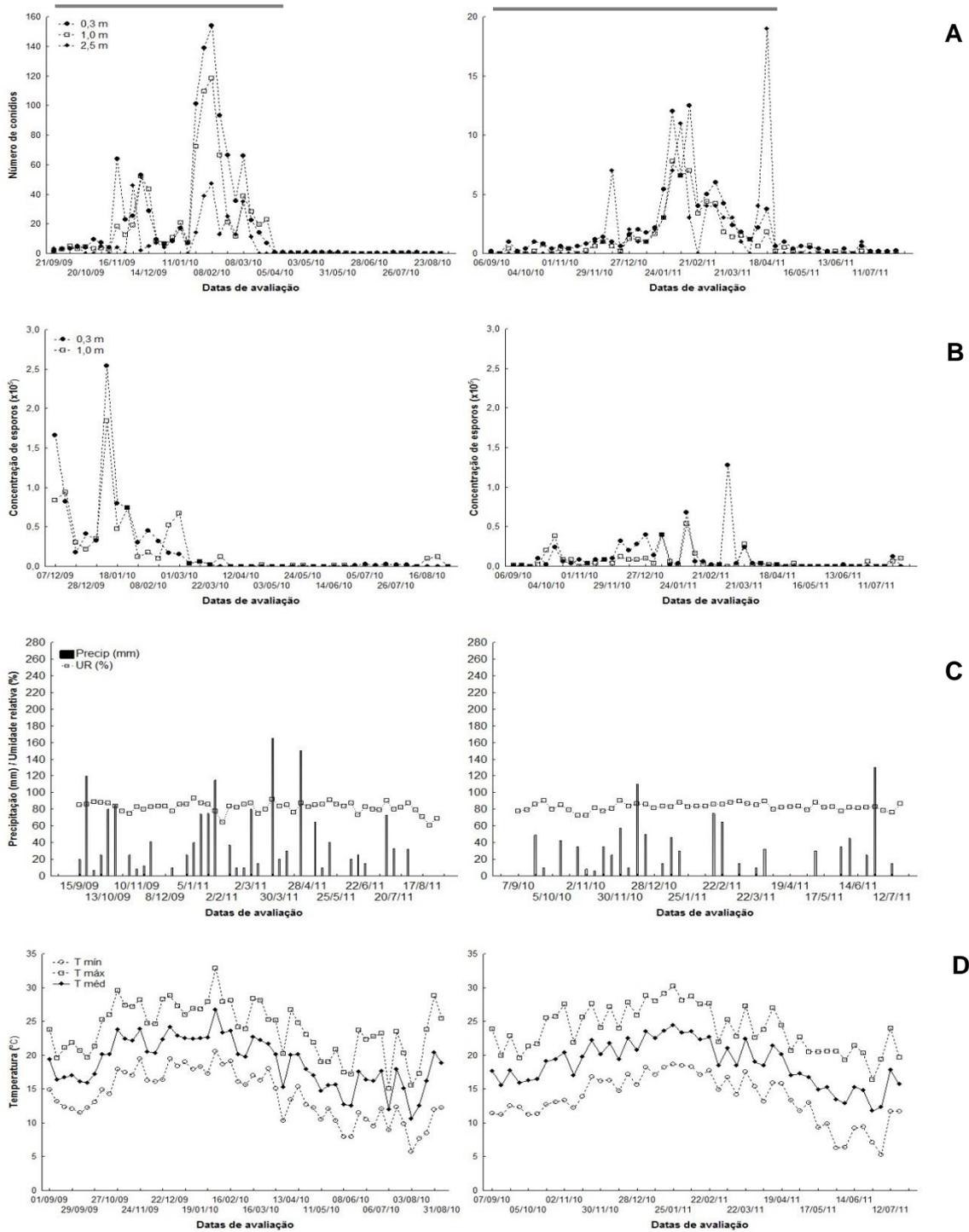


Figura 1 – Número de conídios de *Colletotrichum* spp. coletados com diferentes modelos de armadilhas caça-esporos posicionadas a 0,3, 1,0 e 2,5 m de altura em relação ao solo, leitura na área de uma lâminula 18 x 18 mm (A), concentração de conídios observada no escoamento de água na parte interna da planta, capturado em tubos Eppendorf a 0,3 e 1,0 m de altura em relação ao solo (B), precipitação (mm) e umidade relativa do ar média (UR%) (C), temperaturas (T) máxima, média e mínima (D) observadas em pomar comercial do município de Campo Largo/PR (Área 1). Dados semanais das safras 2009/10 e 2010/11. As barras na parte superior da figura indicam o período vegetativo da cultura (setembro a abril).

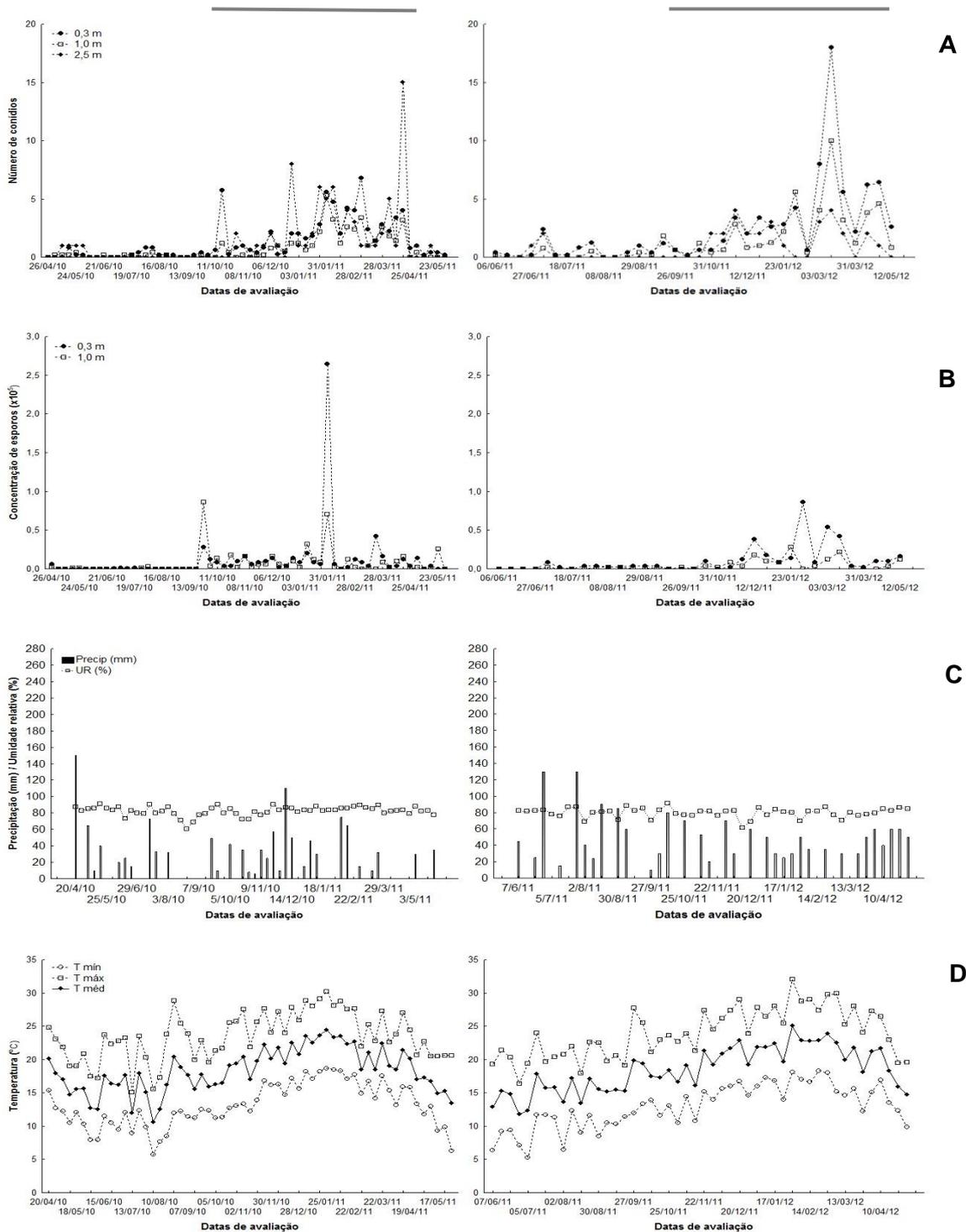


Figura 2 – Número de conídios de *Colletotrichum* spp. coletados com diferentes modelos de armadilhas caça-esporos posicionadas a 0,3, 1,0 e 2,5 m de altura em relação ao solo, leitura na área de uma lâminula 18 x 18 mm (A), concentração de conídios observada no escoamento de água na parte interna da planta, capturado em tubos Eppendorf a 0,3 e 1,0 m de altura em relação ao solo (B), precipitação (mm) e umidade relativa do ar média (UR%) (C), temperaturas (T) máxima, média e mínima (D) observadas em pomar comercial do município de Campo Largo/PR (Área 2). Dados semanais das safras 2010/11 e 2011/12. As barras na parte superior da figura indicam o período vegetativo da cultura (setembro a abril).

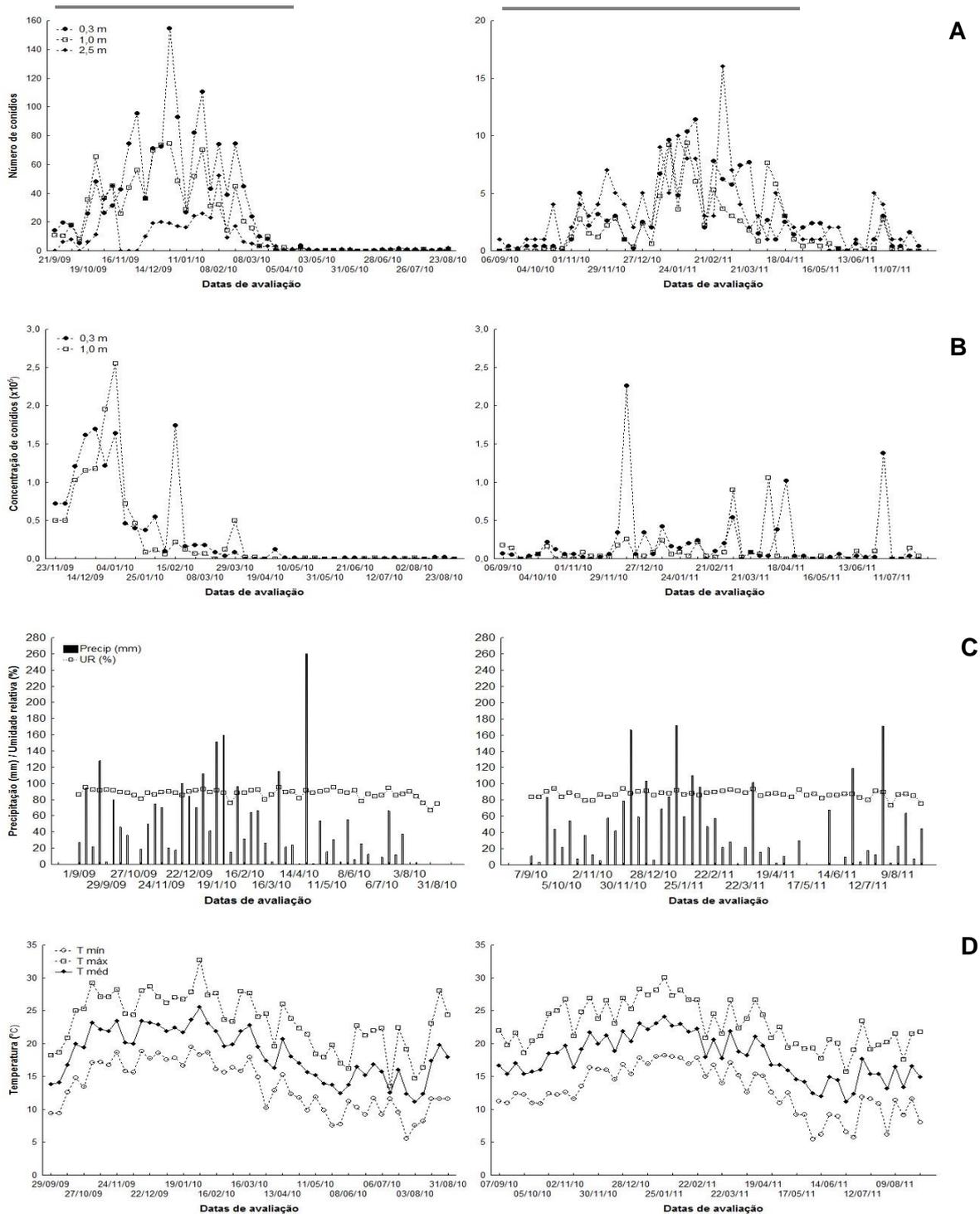


Figura 3 - Número de conídios de *Colletotrichum* spp. coletados com diferentes modelos de armadilhas caça-esporos posicionadas a 0,3, 1,0 e 2,5 m de altura em relação ao solo, leitura na área de uma lâminula 18 x 18 mm (A), concentração de conídios observada no escoamento de água na parte interna da planta, capturado em tubos Eppendorf a 0,3 e 1,0 m de altura em relação ao solo (B), precipitação (mm) e umidade relativa do ar média (UR%) (C), temperaturas (T) máxima, média e mínima (D) observadas em pomar experimental (Área 3), no município de Pinhais/PR. Dados semanais das safras 2009/10 e 2010/11. As barras na parte superior da figura indicam o período vegetativo da cultura (setembro a abril).

5 CAPÍTULO III - PROGRESSO TEMPORAL DA MANCHA FOLIAR DE GLOMERELLA EM MACIEIRA EM DIFERENTES POSIÇÕES DA COPA, RELACIONADO A DESFOLHA DA PLANTA.

5.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi observar a época de início da epidemia de mancha foliar de *Glomerella* (MFG), o progresso da doença e a relação entre a severidade e a desfolha das plantas, de acordo com a localização das folhas no dossel. O trabalho foi desenvolvido em duas áreas (A1 e A2) de produção comercial com sistemas de plantio e programas de manejo fitossanitário distintos, durante a safra 2010/11, e na A2 na safra 2011/12, com plantas da cv. Imperial Gala, com 13 anos de idade. Foram marcados ramos em diferentes alturas da planta (0,3, 1,0 e 1,8 m de altura em relação ao solo), 10 folhas por ramo, cinco repetições por altura e por área (cada ramo representou uma repetição). A avaliação da incidência, severidade e número de folhas foi realizada semanalmente, até a queda de todas as folhas dos ramos marcados. A partir dos dados de severidade nas diferentes alturas foi calculada a AACP relativa da severidade, sendo os valores submetidos a análise de variância. Foi realizada uma análise de correlação entre o número de dias em que cada folha permaneceu na planta e a severidade imediatamente anterior a queda ($p < 0,05$). Os dados de incidência foram ajustados ao modelo logístico e os de severidade ao modelo exponencial; os valores das estimativas dos parâmetros foram comparados pelo teste de t-Student ($p < 0,05$). Na safra 2010/11 o aparecimento dos sintomas iniciou nos terços superior e médio da planta, nas A1 e A2, respectivamente, enquanto na A2 na safra 2011/12 estes iniciaram de maneira uniforme nas diferentes alturas da planta. O aumento da severidade da doença ocorreu nos meses de janeiro e fevereiro em todas as alturas, áreas e safras. A AACP da severidade não diferiu entre as alturas em uma mesma área, entre áreas e em uma mesma altura entre safras. Na safra 2010/11 a desfolha total ocorreu primeiramente no terço superior nas A1 e A2, ocorrendo aos 112 e 189 dias após o início da avaliação (fevereiro e abril, respectivamente); na safra 2011/12 a desfolha total ocorreu primeiramente no terço médio das plantas, ocorrendo aos 168 dias após o início da avaliação (abril). Houve correlação positiva entre a severidade imediatamente anterior a queda e o tempo de permanência da folha na planta para as alturas avaliadas, nas duas áreas e safras. Para os dados de incidência, o inóculo inicial (y_0) não diferiu entre alturas dentro de uma mesma área, entre áreas em uma mesma safra, e entre safras; a taxa de progresso da doença (r) na A1, safra 2010/11, diferiu entre todas as alturas, na A2, safra 2010/11, a r do terço superior diferiu da dos terços médio e inferior, e na A2, safra 2011/12, a r do terço superior diferiu daquela determinada no terço inferior. Para os dados de severidade, o inóculo inicial (y_0) não diferiu entre as diferentes alturas da planta na A1, na safra 2010/11; na A2, tanto na safra 2010/11 quanto na safra 2011/12, o y_0 diferiu entre os terços superior e médio e entre o superior e inferior da planta; a taxa de progresso da doença (r) na A1 e na A2, na safra 2010/11, diferiu entre os terços superior e médio e entre os terços superior e inferior, assim como na A2, na safra 2011/12.

Palavras-chave: *Colletotrichum* spp. *Malus domestica*. Severidade. Queda de folhas.

TEMPORAL PROGRESS OF GLOMERELLA LEAF SPOT ON APPLE AT DIFFERENT POSITIONS OF CANOPY, RELATED TO PLANT DEFOLIATION.

5.2 ABSTRACT

The aim of this study was to observe the time of *Glomerella* leaf spot (GLS) onset, the disease progress and the relation between the severity and the plant defoliation, according to the positions of leaves in the canopy. The study was conducted at two commercial areas (A1 and A2) with distinct cropping systems and pest management programs during 2010/11 season, and A2 in the 2011/12 season, with plants of cv. Imperial Gala, 13 years old. Branches were marked at different plant heights (0.3, 1.0 e 1.8 m above ground), 10 leaves per branch, five replicates per height per area (each branch was a replicate). The evaluation of incidence, severity and defoliation was carried out weekly until the fall of every leaf marked. From the data of severity at different heights, the relative AUDPC was calculated, and the values were submitted to analysis of variance. Correlation analysis between the number of days that each leaf remained at the plant and the severity just before fall ($p < 0.05$) was performed. The values of incidence were fitted to the logistic model and values of severity to the exponential model; estimated parameters were compared by t-Student test ($p < 0.05$). At 2010/11 season the symptoms occurred first at upper and medium branches, at A1 and A2, respectively, while at A2 at 2011/12 season these started uniformly at different plant heights. The disease severity increase in January and February in all heights, areas and crop seasons. The AUDPC of severity did not differ between heights at the same area, between areas and at the same height between seasons. At 2010/11 season the total defoliation occurred first at the upper height at A1 and A2, occurring at 112 and 189 days after the first evaluation (February and April, respectively); at 2011/12 season the total defoliation occurred first at the middle of plants, occurring at 168 days after the first evaluation (April). There was a positive correlation between the severity just before fall and the length of the leaf at the plant to the heights evaluated in both areas and seasons. For the incidence, the initial inoculum (y_0) did not differ between heights at the same area, between areas at the same season, and between crop seasons; the rate of disease progress (r) at A1, 2010/11 season, differ between all heights, at A2, 2010/11 season, the r of upper height differ from the middle and lower plant parts, and at A2, 2011/12 season, the r of upper height differ from the value determined in lower height. For the severity, the initial inoculum (y_0) did not differ between heights at A1, at 2010/11 season; at A2, both at 2010/11 as at 2011/12 season, the y_0 differ between upper and middle heights and between the upper and lower height of plant; the rate of disease progress (r) at A1 and A2, at 2010/11 season, differ between upper and middle heights and between upper and lower heights, as well as at A2, at 2011/12 crop season.

Key words: *Colletotrichum* spp. *Malus domestica*. Severity. Leaf fall.

5.3 INTRODUÇÃO

A Mancha Foliar de *Glomerella* (MFG) é causada por diferentes espécies de *Colletotrichum*. Nos Estados Unidos são relatadas as espécies *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (TAYLOR, 1971; GONZÁLEZ e SUTTON, 1999) e *C. acutatum* J.H. Simmonds (GONZÁLEZ e SUTTON, 2004), na China a doença é atribuída à ocorrência de *Glomerella cingulata* (Stonemam) Spauld & Schrenk (WANG et al., 2012), e no Brasil a espécie *C. gloeosporioides* foi inicialmente identificada como agente causal da doença (LEITE et al., 1988) e mais tarde *C. acutatum* e *Colletotrichum* sp. foram também associadas à MFG (KATSURAYAMA et al., 2000).

O patógeno provoca lesões avermelhadas nas folhas e pequenas pontuações deprimidas nos frutos, principalmente no verão, podendo provocar desfolhamento superior a 75% (KATSURAYAMA e BONETI, 2009). Isto compromete a produção no ano subsequente visto que a manutenção das folhas em espécies frutíferas de clima temperado é essencial para o processo de acúmulo de reservas, que serão utilizadas como fonte de energia no início da safra seguinte (HIDALGO, 1993).

A MFG torna-se mais severa na presença de temperaturas acima dos 20 °C e período de molhamento foliar prolongado (SANHUEZA et al., 2002), condições comuns no período próximo à colheita. A desfolha precoce é o principal problema acarretado pela doença, visto que no caso da macieira, sua ocorrência promove uma dormência menos profunda e reduz o potencial máximo de brotação do ciclo seguinte (ANZANELLO et al., 2012). Na cultura do pessegueiro, a longo prazo, a queda prematura das folhas acarreta menor capacidade de produção e longevidade de pomares (RASEIRA et al., 1998). Alves et al. (2008) observaram correlação positiva entre a severidade da ferrugem do pessegueiro e a desfolha da planta em regiões subtropicais, desfolha esta que ocasionou redução no nível de carboidratos solúveis totais em ramos e gemas.

Hamada et al. (201X – capítulo I) observaram que *Colletotrichum* spp. em macieira sobrevive em folhas caídas no solo durante o período do inverno, sendo patogênicos em folhas e frutos de macieira da cv. Gala. É relatado ainda que o patógeno pode sobreviver na própria planta dormente, em gemas e ramos (CRUSIUS et al., 2002; HAMADA et al., 201X – capítulo I). Hamada et al. (201X – capítulo II) quantificaram o inóculo do patógeno em pomares de macieira em diferentes alturas e observaram que a maior quantidade de inóculo é observada em alturas mais próximas ao solo (0,3 m).

Em café (*Coffea arabica* L.) Bedimo et al. (2010) observaram que a região do dossel mais afetada por *Colletotrichum kawahae* Waller & Bridge é altamente dependente do molhamento foliar ocasionado pelo volume de precipitação, inferindo que em sistemas cobertos de produção a doença é mais intensa nas partes baixas da planta ao contrário de sistemas de produção que não utilizam cobertura das plantas. O maior ou menor molhamento foliar é afetado pela arquitetura da planta, que no caso do cafeeiro é maior na parte baixa, na bananeira na parte alta e no algodão na parte média das plantas (SANTOS et al., 2008). Para macieira os relatos mostram que a altura do dossel que apresenta maior período de molhamento foliar (PMF) varia de acordo com o sistema de plantio e a arquitetura da planta. Wittich (1995) e Batzer et al. (2008), nos EUA, observaram que o PMF foi maior na parte superior das plantas; Sentelhas et al. (2005) realizaram observações semelhantes em trabalho realizado nos EUA, Canadá e Brasil (estado de SP). Entretanto, Paula et al. (2012) em trabalho realizado no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, observaram que em pomares a céu aberto conduzidos sob sistema adensado, o maior PMF ocorreu nas partes inferiores das plantas.

Para a MFG são escassos os relatos a respeito da região do dossel da planta em que os sintomas iniciam, bem como do avanço da doença em diferentes alturas do dossel. Fabbrin (2009) avaliou o efeito de diferentes fungicidas na incidência e severidade da MFG em três diferentes alturas da planta, e não observou diferença nos valores de acordo com a posição das folhas no dossel. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi observar a época de início da epidemia, o progresso da doença no tempo e a relação entre a severidade da MFG com a desfolha das plantas, de acordo com a localização dos ramos no dossel, relacionando as observações às fontes de inóculo existentes no pomar e ao modo de dispersão do patógeno.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

5.4.1 Área de estudo

O ensaio foi conduzido durante a safra 2010/11 em duas áreas comerciais, localizadas no município de Campo Largo/ PR, com sistemas de plantio e manejos fitossanitários diferentes, sendo a primeira área (A1) com plantas de macieira da cv. Imperial Gala com 13

anos de idade, dispostas em sistema de plantio em filas duplas (3,3 x 2,2 x 1,0 m) e a segunda área (A2) com plantas de macieira da cultivar Gala com 13 anos de idade dispostas em sistema de plantio no espaçamento 4,0 x 0,75 m. Em ambas as áreas as plantas eram enxertadas sobre o porta-enxerto M9. Na safra 2011/12 a A1 foi erradicada no mês de julho e trabalhou-se apenas com a A2.

As pulverizações realizadas nas áreas visando o controle da MFG consistiram em fungicidas protetores e sistêmicos e foram relacionadas ao número de dias após o início das avaliações de incidência, severidade e número de folhas (Tabela 1). A diferença de manejo fitossanitário entre as áreas consistiu no número de pulverizações realizadas em cada uma das áreas. Na safra 2010/11 o número de pulverizações foi de 22 na A1 e de 30 na A2. Na safra 2011/12 a A2 recebeu 35 pulverizações.

Dados das condições ambientais (temperatura e umidade relativa do ar) das áreas foram monitoradas coletando-se os dados da estação meteorológica do Instituto Tecnológico SIMEPAR, localizada em Curitiba (estação número 25.264.916), à altitude de 935 metros em relação ao nível do mar, e distante 30 Km (em linha reta) do pomar em que foram realizadas as coletas. A precipitação foi quantificada através da utilização de pluviômetros (Marca JProLab, modelo cunha) existentes na área experimental, situados no início da linha central de cada área.

O número de dias favoráveis (DF) à ocorrência da doença foi calculado de acordo com o proposto por Katsurayama et al. (2000) que considera um DF como sendo aquele com período de molhamento foliar (PMF) acima de 10 horas ($PMF > 10 \text{ h}$) e temperatura acima de $15 \text{ }^\circ\text{C}$ ($T > 15 \text{ }^\circ\text{C}$). O PMF foi estimado com a utilização do modelo de número de horas com umidade relativa acima de 87% ($NHUR > 87\%$), que se baseia no fato de que a presença de água líquida nas superfícies está relacionada, geralmente, com valores elevados de umidade relativa (UR) (GLEASON et al., 1994).

Foram amostradas cinco plantas em cada uma das duas áreas, sendo que em cada planta foram avaliados três ramos contendo 10 folhas cada um, situados em três alturas da planta. Ramos baixos foram aqueles situados no terço inferior da planta, a aproximadamente 0,3 m de altura em relação ao solo, os ramos médios foram aqueles situados no terço médio da planta, a aproximadamente 1,0 m de altura em relação ao solo, e os ramos altos foram aqueles situados no terço superior da planta, a aproximadamente 1,8 m de altura em relação ao solo.

Os ramos em cada altura foram escolhidos ao acaso em relação ao dossel da planta, mas eram sempre ramos do ano com folhas de idade muito próximas, voltados para as entrelinhas do pomar. A contagem das folhas era sempre realizada do interior para o exterior

do dossel. O intervalo de dez folhas foi marcado com fita indicadora nas duas extremidades do ramo, para que não fossem consideradas brotações posteriores ao início das avaliações.

As avaliações da incidência, severidade e número de folhas foi realizada semanalmente, até a queda de todas as folhas marcadas. Para incidência considerou-se a relação entre o número de folhas com sintomas e o total de folhas no ramo marcado, calculando-se a porcentagem de folhas com qualquer sintoma da doença em relação ao número total de folhas. Para avaliar a severidade utilizou-se como referência escala diagramática (KOWATA et al., 2010) e determinou-se a porcentagem de área foliar lesionada de cada folha no ramo.

5.4.2 Análise dos dados

A partir dos dados de severidade foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) relativa para cada altura por dia. Desta forma, a AACPD foi calculada individualmente para cada folha de cada altura de ramo e o valor resultante dividido pelo número de dias em que a folha permaneceu na planta. Os valores resultantes foram somados de acordo com a altura do ramo em que as folhas se encontravam e o total dividido pelo número de folhas avaliadas. Os valores da AACPD em cada altura da planta foram submetidos à análise de variância, atendendo as pressuposições desta, de acordo com o método Box-Cox (BOX & COX, 1964).

Foi realizada uma análise de correlação entre o número de dias em que cada folha permaneceu na planta e a severidade imediatamente anterior à queda, sendo a correlação considerada positiva com $p < 0,05$.

Os dados de incidência foram ajustados ao modelo logístico na parametrização $Y = y_{\text{máx}} / (1 + ((1/y_0) - 1) * \exp(-rt))$, em que Y é a incidência da doença, $y_{\text{máx}}$ é a quantidade máxima da doença, y_0 é o parâmetro relacionado ao inóculo inicial, r é a taxa de progresso da doença e t é o tempo em dias após a primeira avaliação. Os dados de severidade foram ajustados ao modelo exponencial na parametrização $Y = y_0 * \exp(-rt)$, em que Y é a severidade da doença, y_0 é o parâmetro relacionado ao inóculo inicial, r é a taxa de progresso da doença e t é o tempo em dias após a primeira avaliação. Os valores das estimativas dos parâmetros foram comparados pelo teste t-Student ($p < 0,05$).

Todas as análises foram realizadas utilizando-se o ambiente R, versão 2.13.2 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

5.5 RESULTADOS

O volume de precipitação pluviométrica durante o período vegetativo da cultura (setembro a abril) foi de 725 mm na safra 2010/11 e de 1015 mm na safra 2011/12. Na safra 2010/11 os meses de dezembro (222 mm) e fevereiro (140 mm) foram os mais chuvosos, apresentando 14 e 10 DF para a ocorrência da doença, respectivamente. Durante o mês de dezembro as plantas estavam em fase de desenvolvimento final dos frutos e início da maturação destes. Em fevereiro a época era de colheita das frutas. Ainda em relação à safra 2010/11 o mês com mais DF para a ocorrência da MFG foi o mês de março que apresentou 23 DF, nesta época todos os frutos já haviam sido colhidos (Tabela 1). Na safra 2011/12 os meses de abril, outubro e novembro foram os mais chuvosos, apresentando 270 mm, 180 mm e 143 mm, respectivamente. Durante o mês de abril as plantas estavam no início da dormência, e durante os meses de outubro e novembro estavam em época de plena floração e queda de pétalas e de pegamento de frutos e início do desenvolvimento destes, respectivamente. Na safra 2011/12 os meses de outubro e fevereiro (épocas de queda de pétalas e pegamento dos frutos, e de colheita, respectivamente) foram os mais favoráveis à ocorrência da MFG apresentando 8 e 7 DF, respectivamente (Tabela 1).

Na safra 2010/11 os primeiros sintomas da MFG foram observados no início do mês de novembro nas A1 e A2, de forma mais intensa no terço superior e médio da planta, respectivamente (Figuras 1A, 1B, 2A e 2B). Na A1 a incidência nos terços superior e inferior atingiu 50% em meados do mês de janeiro (época do início da colheita dos frutos) (Figuras 1A e 1C), e no terço médio no mês de fevereiro (quando os frutos estavam sendo colhidos) (Figura 1B). Na A2 a incidência nos terços superior, médio e inferior atingiu 50% em meados do mês de março (Figuras 2A, 2B e 2C), época em que todas as frutas já haviam sido colhidas. Na safra 2011/12 os sintomas iniciaram no mês de novembro, de forma uniforme entre as alturas da planta (Figuras 3A, 3B e 3C); a incidência de 50% foi atingida em meados do mês de fevereiro nas três alturas do dossel.

A severidade da MFG na A1, na safra 2010/11, aumentou após 80 dias do início da avaliação (DIA) (janeiro) nos ramos do terço superior (Figura 1D) e inferior (Figura 1F) e

após 105 DIA (fevereiro) nos ramos do terço médio (Figura 1E). Aos 112 dias DIA (fevereiro) a severidade média foi de 23,5%, 15,0% e 7,3% nos terços superior, médio e inferior, respectivamente. Na A2 a severidade da doença aumentou após 112 DIA (fevereiro) nos ramos do terço superior (Figura 2D) e inferior (Figura 2F) e após 126 DIA (março) nos ramos do terço médio (Figura 2E). Aos 112 DIA (fevereiro) a severidade média foi de 0,8%, 0,03% e 0,5% nos terços superior, médio e inferior, respectivamente, sendo as máximas severidades de 30% no terço superior aos 189 DIA, 22,5% no terço médio aos 210 DIA e de 32% no terço inferior aos 217 DIA (Figuras 2D, 2E e 2F).

Na safra 2011/12 a severidade da doença na A2 aumentou de forma semelhante nos ramos do terço superior, médio e inferior, 98 DIA (final de fevereiro). Aos 112 DIA a severidade foi de 2,3%, 5,0% e 4,0% no terço superior, médio e inferior, respectivamente. A severidade da MFG na A2, na referida safra, atingiu 8,7%, 15,3% e 9,4% no terço superior, médio e inferior, respectivamente, aos 168 DIA (maio) (Figuras 3D, 3E e 3F).

Na safra 2010/11 a AACP formada pela severidade da MFG não diferiu de acordo com a posição dos ramos na planta (terço superior, médio e inferior), tanto na A1 como na A2. Na safra 2011/12 não foram observadas diferenças entre os valores da AACP da severidade nos terços superior, médio e inferior da planta (Tabela 2).

A queda de folhas iniciou, na safra 2010/11, no terço inferior das plantas da A1 e nos terços superior e médio na A2. A desfolha foi mais precoce nos ramos do terço superior ocorrendo em 112 DIA na A1 e 189 DIA na A2, seguidos pelos terços médio e inferior em que as folhas permaneceram na planta durante 133 e 147 DIA na A1 e 210 e 217 DIA na A2, respectivamente (Tabela 3). Na safra 2011/12 a queda das folhas iniciou aos 28 DIA nos terços inferior e médio e aos 84 DIA no terço superior da planta. A desfolha total ocorreu em menos tempo nos ramos situados no terço médio ocorrendo aos 168 DIA contados a partir do início da avaliação, seguidos pelos ramos situados no terço superior e inferior em que as folhas permaneceram na planta durante 182 DIA (Tabela 3).

Nas duas safras e áreas houve correlação positiva ($p < 0,05$) entre a severidade imediatamente anterior a queda e o tempo de permanência da folha na planta para as diferentes posições dos ramos no dossel. Na safra 2010/11 a correlação foi maior nas folhas situadas no terço superior do dossel (0,644 e 0,665 nas A1 e A2, respectivamente) seguidos pelas situadas nos terço inferior (0,537 e 0,562 nas A1 e A2, respectivamente) e médio (0,277 e 0,490 nas A1 e A2, respectivamente) (Tabela 3). Na safra 2011/12 a correlação foi maior nas folhas situadas nos ramos dos terços médio e inferior (0,589 e 0,584, respectivamente) seguidos pelas situadas nos ramos do terço superior (0,325) (Tabela 3).

Os dados de incidência nas diferentes áreas, safras e regiões do dossel ajustaram-se ao modelo logístico, com coeficiente de determinação para a regressão linear (R^2) entre valores observados e preditos, acima de 85%. Os dados de severidade nas diferentes áreas, safras e regiões do dossel ajustaram-se ao modelo exponencial, com R^2 acima de 69% (Tabela 4). Na comparação das estimativas dos parâmetros referentes aos dados de incidência, o inóculo inicial (y_0) não diferiu entre alturas dentro de uma mesma área (superior, médio e inferior), entre áreas (A1 e A2) em uma mesma safra, e entre safras (2010/11 e 2011/12) em uma mesma área. A taxa de progresso da doença (r) na A1, safra 2010/11, diferiu entre todas as alturas. Na A2, safra 2010/11, a r do terço superior diferiu da dos terços médio e inferior. Na A2, safra 2011/12, a r do terço superior diferiu daquela determinada no terço inferior, e a r do terço médio diferiu da do terço inferior. Na comparação das A1 e A2 na safra 2010/11, as r dos terços médio e inferior diferiram entre si, enquanto na comparação dos parâmetros determinados na A2, a r do terço superior diferiu entre as safras 2010/11 e 2011/12, assim como aquela determinada no terço inferior das plantas (Tabela 5).

Na comparação das estimativas dos parâmetros referentes aos dados de severidade, o inóculo inicial (y_0) não diferiu entre as diferentes alturas da planta na A1, na safra 2010/11. Na A2, tanto na safra 2010/11 quanto na safra 2011/12, o y_0 diferiu entre os terços superior e médio e entre o superior e inferior da planta. A taxa de progresso da doença (r) na A1 e na A2, na safra 2010/11, diferiu entre os terços superior e médio e entre os terços superior e inferior, assim como na A2, na safra 2011/12. Na comparação das A1 e A2 na safra 2010/11, as r dos terços superior e inferior diferiram entre si, enquanto na comparação dos parâmetros determinados na A2, nas safras 2010/11 e 2011/12, nenhum deles (y_0 e r) diferiu em uma mesma altura (Tabela 6).

5.6 DISCUSSÃO

A epidemia da MFG iniciou no mês de novembro, independentemente da safra e do manejo fitossanitário da área, de forma mais acentuada no terço superior do dossel. A desfolha ocasionada pela doença apresentou correlação positiva com a severidade imediatamente anterior a queda das folhas.

Apesar do exposto por Hamada et al. (201X – Capítulo I) de que a maior quantidade de inóculo do patógeno foi encontrada nas folhas caídas no solo durante o período de inverno, o início da epidemia não aconteceu no terço inferior das plantas. Isso pode ser atribuído ao

fato de que gemas e ramos dormentes também são fonte de inóculo do patógeno e apesar da menor quantidade de esporos encontrados nestes locais em relação às folhas caídas no solo (HAMADA et al., 201X – Capítulo I), estes são capazes de ocasionar o início da MFG visto que quantidades mínimas de inóculo podem desencadear a epidemia da doença a campo (CRUSIUS et al., 2002). Isto é reforçado pela igualdade dos valores do parâmetro relacionado ao inóculo inicial (y_0) (referente à incidência) nas diferentes alturas da planta, áreas e safras. O início do aparecimento dos sintomas durante o mês de novembro coincide com o início da liberação de esporos no ar, conforme o exposto por Hamada et al. (201X – capítulo II).

Mesmo não se tendo observado diferenças estatísticas na comparação de alguns valores de y_0 , para incidência e severidade, os valores das estimativas foram sempre maiores no terço inferior do dossel, correspondendo às observações de Hamada et al. (201X – capítulo I) referentes à fonte de inóculo primário do patógeno no pomar, e às observações de Hamada et al. (201X – capítulo II) de que a dispersão de conídios inicia-se próximo ao solo e que nesta região é encontrada a maior densidade de inóculo durante todo o período vegetativo da cultura. Assim, o início e progresso da MFG a campo não se dá apenas em função da quantidade de inóculo inicial, estando relacionados a outros fatores como condições ambientais, aspectos fisiológicos da planta e manejo fitossanitário e cultural adotado.

Apesar da doença incidir sobre a cultura a partir da época do pegamento de frutos (novembro), o incremento da severidade foi observado a partir dos meses de janeiro e fevereiro em todas as alturas, áreas e safras, devido à ocorrência de condições favoráveis ao desenvolvimento da MFG e devido à redução do número de pulverizações voltadas ao controle da doença, por ocasião da colheita dos frutos, evidenciando a necessidade do desenvolvimento de produtos que proporcionem maior proteção durante períodos de condições favoráveis ($UR > 90\%$ e temperaturas maiores que $20\text{ }^{\circ}\text{C}$), e a necessidade de adequações no manejo fitossanitário de forma a reduzir ao máximo a quantidade de doença em períodos anteriores ao da colheita, e de forma a manter as folhas na planta até a época de sua queda natural (meados de abril) como por exemplo, a pulverização de fungicidas após o término da colheita.

A maior severidade observada no terço superior da planta, na safra 2010/11 nas A1 e A2, correspondem ao observado por Bedimo et al. (2007) que constataram um gradiente de aumento da severidade ocasionada por *C. kahawae* em café, quanto maior a altura dos ramos no dossel da planta. Isto também foi observado por Bedimo et al. (2010) em trabalho realizado no mesmo patossistema, comparando sistemas de cultivo protegido ou não, em que no sistema de cultivo não protegido o aumento da doença e os maiores danos provocados pela

doença ocorreram nos ramos situados nas partes mais altas da planta. A comparação dos resultados obtidos em macieira com os obtidos nos trabalhos anteriormente citados em cafeeiro é pertinente visto que as plantas de cafeeiro em questão eram jovens, apresentando arquitetura semelhante à das plantas de macieira do presente estudo, que eram enxertadas sobre porta-enxertos ananizantes e plantadas em sistema adensado.

É importante ressaltar que Paula et al. (2012) observaram que o maior PMF em pomares não cobertos de macieira no município de Vacaria, Rio Grande do Sul, ocorreu no terço inferior das plantas, que apresentou até $1,2 \text{ h.dia}^{-1}$ a mais de PMF, em relação aos demais extratos. Entretanto, esta diferença de PMF observada pelos autores não é suficiente para ocasionar a infecção de *Colletotrichum* spp. em macieira, pois sob condições de temperaturas elevadas ($30 \text{ }^{\circ}\text{C}$) necessita-se de no mínimo 2 horas de PMF para que ocorra a infecção (CRUSIUS et al., 2002), evidenciando que o PMF não é a única variável envolvida no desenvolvimento da MFG.

A maior severidade nos terços superiores pode ser explicada por uma combinação de fatores como a ocorrência de mais DF na safra 2010/11, que foram resultantes de períodos consecutivos de chuva e com elevada UR. Além disso, a condição nutricional das plantas que na safra 2009/10 apresentaram uma produção elevada, que provavelmente diminuiu a quantidade de compostos nitrogenados armazenados e necessários ao desenvolvimento das plantas e à produção de frutos na safra 2010/11. Ernani (2003) relata que o nitrogênio absorvido pelas plantas de macieira é absorvido em sua maior parte pelas raízes e translocado preferencialmente para os frutos, em detrimento das folhas.

Apesar da quantidade dos compostos nitrogenados não ter sido determinada no presente estudo, presume-se que a concentração destes variou entre os anos e entre as diferentes alturas da planta de acordo com a quantidade de adubações e de acordo com a produção de frutos influenciando, juntamente com as condições ambientais, o desenvolvimento da doença, assim como observado por Pozza et al. (2001) em trabalho realizado com mudas de cafeeiro em que a redução nas doses de nitrogênio fornecido às plantas implicou no aumento da AACP da severidade ocasionada por *Cercospora coffeicola* (Berk. & Cooke). Outra implicação de baixos teores de nitrogênio na planta é a queda prematura de folhas (POZZA et al., 2001; ERNANI et al., 2003). Neumann et al. (2004) em trabalho realizado com *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* em trigo observaram que a quantidade de N no tecido do hospedeiro afeta a epidemia de maneira mais pronunciada do que as alterações no microclima ocasionadas pelo aumento do tamanho do dossel causado por adubações nitrogenadas.

Existem na literatura relatos contrários ao exposto no presente trabalho, como o realizado por Robert et al. (2004) de que quanto menor foi o teor de nitrogênio em folhas de trigo, menor quantidade de doença foi observada pela menor esporulação de *Septoria tritici*. Entretanto, estas diferenças são perfeitamente aceitáveis pois conforme o exposto por Ney et al. (2012) a contribuição dos órgãos de absorção de nutrientes e o uso destes depende da arquitetura da copa e da raiz, de modo que cada cultura poderá apresentar um comportamento diferente em relação a determinada doença.

Na safra 2011/12 o terço médio das plantas foi o que apresentou maior severidade por ter acumulado maior umidade devido ao maior enfolhamento (comparativamente com as outras regiões do dossel) associado ao fato de que apesar da safra 2011/12 ter apresentado um volume maior de precipitação do que a safra 2010/11, as chuvas ocorreram em períodos concentrados e distantes entre si, ou seja, altos volumes em poucos dias com períodos de seca após a sua ocorrência, o que diminuiu a umidade relativa do ar (< 87%) e consequentemente, diminuiu o período de molhamento foliar nas áreas mais expostas aos ventos e à radiação solar. Bedimo et al. (2012) também verificaram variação na quantidade de doença ocasionada por *Colletotrichum kawahae* em cafeeiro de acordo com a safra, encontrando correlação positiva entre o número de dias consecutivos de chuva com a severidade da doença, correlação esta que não foi positiva entre o volume total de precipitação e a severidade.

Ainda em relação a safra 2011/12, as plantas apresentaram maior enfolhamento no terço médio, em comparação à safra 2010/11, por terem sido submetidas a uma poda verde mais branda. O manejo da poda de forma a promover maior aeração no interior da planta é uma das alternativas para reduzir a quantidade de doença, pois o sucesso de uma epidemia dependerá, além da quantidade de inóculo inicial e das condições climáticas, da arquitetura da planta e da receptividade do hospedeiro à infecção ao longo do tempo (TIVOLI et al., 2012). Simon et al. (2006) constataram que de acordo com o sistema de poda empregado em plantas de macieira, foi observada maior ou menor quantidade de sintomas ocasionados por *Venturia inaequalis*. Ressalta-se que na referida safra a adubação foliar com produtos nitrogenados foi maior (dados não apresentados), o que provavelmente possibilitou o acúmulo de uma quantidade adequada de nitrogênio nas folhas e ramos, mesmo naqueles situados no topo das plantas. A maior incidência da MFG nas folhas situadas a 1,0 m de altura em relação ao solo também foi observada por Fabbrin (2009) em trabalho realizado no município de Fraiburgo – SC, na safra 2006/07. Entretanto, o autor não verificou diferença estatística na severidade da doença de acordo com a posição das folhas no dossel, e atribuiu esta igualdade entre as diferentes alturas à eficiência dos fungicidas testados em seu trabalho.

A severidade da doença na A1 atingiu valores superiores aos observados na A2, em um mesmo período, na safra 2010/11. Essa diferença entre a severidade das A1 e A2 é atribuída ao maior acúmulo de umidade na A1, relatada como fator determinante para o aumento da MFG a campo (SANHUEZA et al., 2002; CRUSIUS et al., 2002; HAMADA, 2005), e a menor eficiência dos tratamentos fitossanitários realizados devido ao seu menor número e distribuição inadequada. O sistema de filas duplas (3,3 x 2,2 x 1,0 m) possibilita o trânsito de tratores e pulverizadores somente em filas alternadas, comprometendo a correta deposição dos produtos sobre as folhas e impossibilitando a roçada mecanizada nas entrelinhas. A diferença observada na quantidade de doença, em função do número de pulverizações, demonstra a eficiência dos fungicidas protetores e sistêmicos em reduzir a autoinfecção da MFG no pomar, assim como observado por Bogo et al. (2010) em pomares convencionais de macieira localizados no município de Urupema – SC.

Apesar da diferença no valor da severidade constatada nas A1 e A2, na safra 2010/11, a AACPD relativa de cada uma delas não diferiu, pois a AACPD foi calculada de acordo com o número de dias que cada folha permaneceu na planta. Isto significa dizer que quanto antes severidades maiores forem atingidas (maior r), menor será o tempo de permanência das folhas na planta, como demonstrado pela análise de correlação realizada. A correlação entre o período de permanência das folhas na planta e a severidade imediatamente anterior à queda foi positiva para todas as alturas e áreas. Desta forma, a taxa de progresso da doença (r) é um importante parâmetro a ser avaliado neste patossistema, pois de acordo com Bergamim Filho (2011) em doenças policíclicas como a MFG, o aumento dos sintomas se deve principalmente aos ciclos secundários do patógeno no hospedeiro e não apenas ao inóculo inicial. Assim, os ciclos secundários do patógeno têm grande importância na evolução e no comportamento da MFG a campo, como acontece em morango (FREEMAN, 2008), manga (HUERTA-PALACIOS et al., 2009), café (BEDIMO et al., 2010) e oliveira (TALHINHAS et al., 2011). Ainda, Bergamim Filho e Amorim (2001) relatam que a produção de esporos durante o ciclo infeccioso é um dos fatores que determina o aumento da intensidade da doença em função do tempo, em patossistemas temperados.

A severidade da doença na A2 foi maior na safra 2010/11, em relação à safra 2011/12, devido a maior quantidade de DF na referida safra, decorrentes principalmente do maior volume de precipitação. Os valores estimados dos parâmetros mostraram que a maior quantidade de DF refletiu em diferentes taxas de progresso (r) para incidência no terço superior e inferior das plantas, ou seja, diferença na quantidade de folhas com sintomas nos ramos superiores e inferiores das plantas nas safras 2010/11 e 2011/12. Em relação a

severidade da doença, a maior ou menor quantidade de DF ocasionou diferenças na taxa de progresso da doença (r) nos terços superior e inferior da planta, o que implica em períodos diferentes para atingir determinado valor de severidade.

A região do dossel que apresentou desfolha total mais antecipadamente não variou entre as A1 e A2 na safra 2010/11, mas variou na A2 quando comparou-se as safras 2010/11 e 2011/12, evidenciando a grande influência da severidade da MFG na desfolha precoce das plantas. O menor tempo de permanência da folha na planta compromete a produção do ano subsequente e a longevidade das plantas por não permitir um adequado acúmulo de energia que terá relação direta com a qualidade e quantidade de gemas vegetativas e floríferas do próximo ciclo vegetativo, afetando a produção e a qualidade das frutas (KOWATA et al., 2010; ANZANELLO et al., 2012).

5.7 CONCLUSÕES

A epidemia da MFG inicia no mês de novembro e a região do dossel que apresenta as maiores severidades é dependente das condições ambientais e do manejo adotado.

O aumento da severidade ocorre principalmente na época de colheita das frutas (janeiro e fevereiro).

A AACPD relativa não difere entre as alturas da planta, pois maiores taxas de progresso da doença não ocasionam maiores severidades e sim menor tempo de permanência das folhas na planta.

O progresso da epidemia e a desfolha dentro de uma mesma safra apresentam comportamento semelhante entre áreas.

A severidade correlaciona-se positivamente com a queda antecipada das folhas em todas as alturas do dossel.

5.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, G.; MAY DE MIO, L.L.; ZANETTE, F.; OLIVEIRA, M.C. Ferrugem no pessegueiro e seu efeito na desfolha e na concentração de carboidratos em ramos e gemas. **Tropical Plant Pathology**, vol. 33, n. 5, p. 370-376, 2008.

ANZANELLO, R.; SANTOS, H.P.; FIALHO, F.B.; MARODIN, G.A.B.; BERGAMASCHI, H. Evolução da endodormência em gemas de macieira em função da presença ou ausência de folhas no outono. In: XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura – **Anais**. Resumo expandido. Bento Gonçalves/ RS, 2012.

BATZER, J. C.; GLEASON, M. L.; TAYLOR, S. E.; KOEHLER, K. J.; MONTEIRO, J. E. B. A. Spatial heterogeneity of leaf wetness duration in apple trees and its influence on performance of a warning system for sooty blotch and flyspeck. **Plant Disease**, v. 92, n. 1, p. 164-170, 2008.

BEDIMO, M. J. A.; CILAS, C.; NOTTÉGHEM, J.L.; BIEYSSE, D. Effect of temperatures and rainfall variations on the development of coffee berry disease caused by *Colletotrichum kahawae*. **Crop Protection**, v. 31, p. 125-131, 2012.

BEDIMO, M. J. A., BIEYSSE, D., NYASSÉ, S., NOTTÉGHEM, J. L., CILAS, C. Role of rainfall in the development of coffee berry disease in *Coffea arabica* caused by *Colletotrichum kahawae*, in Cameroon. **Plant Pathology**, v. 59, p. 324-329, 2010.

BEDIMO, M.J.A.; BIEYSSE, D.; CILAS, C.; NOTTÉGHEM, J.L. Spatio-temporal dynamics of arabica coffee berry disease due to *Colletotrichum kahawae* on a plot sacle. **Plant Disease**, v. 91, p. 1229-36, 2007.

BERGAMIN FILHO, A. **Curvas de progresso da doença**. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (eds). Manual de fitopatologia – Vol. I, princípios e conceitos. 4ªed. Piracicaba- SP: Agronômica Ceres, p.647-666, 2011.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Epidemiologia comparativa entre os patossistemas temperado e tropical: conseqüências para a resistência a fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 119-127, 2001.

BOGO, A.; JESUS Jr, W.C.; CASA, R.T.; KUHNEM Jr., P.R.; CESA, L.P. Dinâmica temporal da mancha foliar da ‘Gala’ em macieiras conduzidas sob os sistemas de produção convencional e orgânico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.2, p.466-470, 2010.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis transformation. **Journal of the Royal Statistical Society**, Série B, v. 26, p. 211-252, 1964. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/10.2307/2984418>>. Acesso em: 10 de jun. 2012.

CRUSIUS, L.U.; FORCELINI, C.A.; SANHUEZA, R.M.V.; FERNANDES, J.M.C. Epidemiology of apple leaf spot. **Fitopatologia brasileira**, v. 27, n. 1, p. 65-70, 2002.

ERNANI, P.R. **Disponibilidade de nitrogênio e adubação nitrogenada para a macieira**. Lages: Graphel, 2003. 76 p.

FABBRIN, E. G. S. Fertilizantes foliares como redutores de pH em mistura com fungicidas e inseticidas sobre os bioindicadores *Colletotrichum* sp. e *Grapholita molesta* (Busk 1916) (Lepidóptera: Tortricidae) em macieira. **Dissertação de mestrado**. Universidad Federal do Paraná - UFPR, Curitiba, 2009.

FLECKINGER, J. Phenologie at arboriculture fruitiere in Bom Jardinier. Paris: **INRA**, 1960. p. 362-372.

FREEMAN, S. Management, survival strategies, and host range of *Colletotrichum acutatum* on strawberry. **HortScience**, v. 43, n. 1, p. 66-68, 2008.

GLEASON, M.L.; TAYLOR, S.E.; LOUGHIN, T.M.; KOEHLER, K.J. Development and validation of an empirical model to estimate duration of dew periods. **Plant Disease**, v. 78, p. 1011-1016, 1994.

GONZÁLEZ, E.; SUTTON, T.B. First report of Glomerella leaf spot (*Glomerella cingulata*) of apple in the United States. **Plant Disease**, v. 83, p. 1174. 1999.

GONZÁLEZ, 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**, v. 88, p. 1335-1340, 2004.

HAMADA, N.A. Influência da temperatura e do período de molhamento foliar (PMF) na incidência e severidade da mancha-foliarda- gala (*Colletotrichum* spp.). **Agropecuária Catarinense**, v. 18, p. 73-77, 2005.

HIDALGO, L. **Tratado de viticultura general**. 1.ed. Madri: Mundi-Prensa, 1993. 983p.

HUERTA-PALACIOS, G.; HOLGUÍN-MELÉNDEZ, F.; BENÍTEZ-CAMILO, F.A.; TOLEDO-SRREOLA, J. Anthracnose epidemiology [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)

Penz. And Sacc.] on mango cv. Ataulfo (*Mangifera indica* L.) in the Soconusco, Chiapas, Mexico. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v. 27, n. 2, p. 93-105, 2009.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S.; BECKER, W.F. Mancha foliar da gala: principal doença de verão da cultura da macieira. **Agropecuária catarinense**, v. 13, p. 14-20, 2000.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S. Manejo das doenças de verão da macieira no sul do Brasil. In: Stadnik, MJ (Ed) **Manejo integrado de doenças da macieira**. Florianópolis-SC: Universidade Federal de Santa Catarina. 2009. p. 45-64.

KOWATA, L.S.; STRAPASSON, M.; CHALLIOL, M.A.; MAY-DE-MIO, L.L. Glomerella leaf spot in apple: validation of proposed diagrammatic scale and efficiency of fungicides. **Ciência Rural**, v.40, n.7, p. 1502-1508, 2010.

LEITE, R.P.; TSUNETTA, M.; KISHINO, A.Y. Ocorrência de mancha foliar de *Glomerella* em macieira no estado do Paraná. Fundação Instituto Agrônômico do Paraná. **Informe de Pesquisa**, 81. p. 1-6, 1988.

NEUMANN, S.; PAVELEY, N. D.; BEED, F. D.; SYLVESTER-BRADLEY, R. Nitrogen per unit leaf area affects the upper asymptote of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* epidemics in winter wheat. **Plant Pathology**, v. 53, p. 725-732, 2004.

NEY, B.; BANCAL, M. O.; BANCAL, P.; BINGHAM, I. J.; FOULKES, J.; GOUACHE, D.; PAVELEY, N.; SMITH, J. Crop architecture and crop tolerance to fungal diseases and insect herbivory. Mechanisms to limit crop losses. **European Journal of Plant Pathology**, 2012.

PAULA, V. A.; BERGAMASCHI, H.; DEL PONTE, E. M.; CARDOSO, L. S.; BOSCO, L.C. Duração do período de molhamento foliar em pomares de macieira em céu aberto e sob tela antigranizo, em Vacaria-RS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, n.2, p. 451-459, 2012.

POZZA, A. A. A.; MARTINEZ, H. E. P.; CAIXETA, S. L.; CARDOSO, A. A.; ZAMBOLIN, L.; POZZA, E. A. Influência da nutrição mineral na intensidade da mancha-de-olho-pardo em mudas de cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n.1, p. 53-60, 2001.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponível em: <http://www.R-project.org> Acesso em 15 de abril de 2011.

RASEIRA, A.; PEREIRA, J.F.M.; MEDEIROS, A.R.M.; CARVALHO, F.L.C. Instalação e manejo do pomar. In: MEDEIROS, C.A.B.; RASEIRA, M.C.B. **A cultura do pessegueiro**. 1. ed. Brasília: EMBRAPA Serviço de produção e informação, 1998. p.130-160.

ROBERT, C.; BANCAL, M. O.; NICOLAS, P.; LANNOU, C.; NEY, B. Analysis and modeling of effects of leaf rust and *Septoria tritici* blotch on wheat growth. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 1079-1094, 2004.

SANHUEZA, R.M.V; BECKER, W.; BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y; CZERMAINSKI, A.B.C. **Manejo das Doenças de Verão na Produção Integrada de Maçã**. Circular técnica EMBRAPA n° 36. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2002.

SANTOS, E.A.; SENTELHAS, P.C.; PEZZOPANE, J.E.M.; ANGELOCCI, L.R.; MONTEIRO, J.E.B.A. Spatial variability of leaf wetness duration in cotton, coffee and banana crop canopies. **Scientia agrícola**, v. 65, p. 18-25, 2008.

SENTELHAS, P.C.; GILLESPIE, T.J.; BLATZER, J.C.; GLEASON, M.L.; MONTEIRO, J.E.B.A.; PEZZOPANE, J.R.M.; PEDRO Jr., M. Spatial variability of leaf wetness duration in different crop canopies. **International Journal of Biometeorology**, v. 49, p. 363-370, 2005.

SIMON, S.; LAURI, P. E.; BRUN, L.; DEFRANCE, H.; SAUPHANOR, B. Does manipulation of fruit-tree architecture affect the development of pests and pathogens? A case study in an organic apple orchard. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 81, p. 765-773, 2006.

TALHINHAS, P., MOTA-CAPITÃO, C., MARTINS, S., RAMOS, A. P., NEVES-MARTINS, J., GUERRA-GUIMARÃES, L., VÁRZEA, V., SILVA, M. C., SREENIVASAPRASAD, S., OLIVEIRA, H. Epidemiology, histopathology and aetiology of olive anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* in Portugal. **Plant Pathology**, v. 60, p. 483-495, 2011.

TAYLOR, J. A necrotic leaf blotch and fruit rot of apple caused by strain of *Glomerella cingulata*. **Phytopathology**, v. 61, p. 221-224, 1971.

TIVOLI, B.; CALONNEC, A.; RICHARD, B.; NEY, B.; ANDRIVON, D. Current knowledge on plant/ canopy architectural traits that reduce the expression and development of epidemics. **European Journal of Plant Pathology**, 2012.

WANG, C.X.; ZHANG, Z.F.; LI, B.H. First report of Glomerella Leaf Spot of Apple Caused by *Glomerella cingulata* in China. **Plant Disease**, v. 96, n. 6, p. 912, 2012.

WITTICH, K.P. Some remarks on dew duration on top of an orchard. **Agricultural and forest meteorology**, v. 72, p. 167-180, 1995.

Tabela 1 – Estádio fenológico (EF), Número de pulverizações (NP) visando o controle da mancha foliar de *Glomerella* (MFG), volume de precipitação pluviométrica (Pp) (mm), umidade relativa do ar média (UR%), temperaturas mínima (T min), máxima (T max) e média (T med) (°C) e número de dias favoráveis (DF) a ocorrência da MFG. Dados mensais relativos ao número de dias após o início da avaliação (DIA) da incidência, severidade e número de folhas da MFG em um pomar comercial no município de Campo Largo/PR. Safras 2010/11 e 2011/12.

Saфра	DIA ⁴	EF ¹	NP ²		Condições ambientais					DF ³
			A1	A2	Pp (mm)	UR (%)	T mín (°C)	T máx (°C)	T med (°C)	
2010/11	0-30	I	3	3	79	77	14,0	25,7	19,9	4
	31-60	J	7	7	222	85	15,9	25,8	20,9	14
	61-90	K	5	7	91	85	17,9	28,7	23,3	9
	91-120		0	3	140	84	17,9	28,0	23,0	10
	121-150		0	2	97	88	15,8	24,0	19,9	23
	151-180		0	0	0	83	14,8	24,2	19,5	6
2011/12	0-15	I	---	6	143	79	13,1	24,2	18,7	2
	16-45	J	---	7	90	76	15,4	26,1	20,8	4
	46-75	K	---	6	110	80	15,9	26,9	21,4	2
	76-105		---	3	92	80	17,6	29,4	23,5	7
	106-135		---	2	60	76	15,1	27,3	21,2	4
	136-165		---	0	270	83	14,4	24,2	19,3	5

¹ Estádio fenológico de acordo com a escala de Fleckinger (1960) onde A = Repouso, B = Pré-abrolhamento, C = Abrolhamento, C3 = Encharcamento do gomo, D = ponta verde, D3 = Botão verde, E = botão rosa, F1 = abertura (1ª flor), F2 = plena floração, G = queda das pétalas, H = Queda total das pétalas, I = vingamento de frutos, J = Frutos em desenvolvimento, K = maturação. Mês de fevereiro (91 a 120 DIA na safra 2010/11 e 76 a 105 DIA na safra 2011/12) = colheita. Meses de março e abril (121 a 180 DIA na safra 2010/11 e 106 a 165 DIA na safra 2011/12) = queda natural das folhas e início da dormência das plantas.

² Pulverizações com fungicidas sistêmicos (tiofanato metílico, piraclostrobina + metiram) e protetores (mancozebe, clorotalonil).

³ Número de dias favoráveis calculado de acordo com Katsurayama et al. (2000) que considera um DF como sendo aquele com período de molhamento foliar (PMF) acima de 10 horas (PMF>10 h) e temperatura acima de 15 °C (T> 15 °C).

⁴ Início das avaliações em 01/11/2010 nas A1 e A2 na safra 2010/11 e em 14/11/2011 na A2 na safra 2011/12.

⁵ --- = não avaliado

Tabela 2 – Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPD) relativa da Mancha Foliar de *Glomerella* em folhas situadas em ramos superiores (1,8 m), médios (1,0 m) e inferiores (0,3 m), em duas áreas comerciais (A1 e A2) no município de Campo Largo/PR. Avaliação nas safras 2010/11 e 2011/12.

Área	Altura do ramo	AACPD ¹	
		Safra 2010/11	Safra 2011/12
A1	Superior	1,05 a ²	--- ³
	Médio	0,68 a	---
	Inferior	0,61 a	---
A2	Superior	0,72 a	1,01 a
	Médio	0,73 a	1,10 a
	Inferior	0,87 a	0,82 a

¹ Média de 50 folhas/ altura/ área, divididas em 5 ramos, 1 ramo/ planta.

² Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si.

³ área não avaliada na safra 2011/12 por ter sido erradicada em julho de 2011.

Tabela 3 – Número de dias para o início da queda das folhas (DIQ), número de dias para desfolha total (DDF), severidade média imediatamente anterior a queda das folhas (SAQ) e valor da correlação (r^2) entre o DDF e a SAQ. Avaliação da Mancha Foliar de *Glomerella* (MFG) em duas áreas (A1 e A2) na safra 2010/11 e de uma área (A2) na safra 2011/12, áreas comerciais localizadas no município de Campo Largo/ PR.

Safra	Área	Posição do ramo ¹	Parâmetros avaliados			$r^{2,4}$
			DIQ ^{2,3}	DDF ^{2,3}	SAQ ³	
2010/11	A1	Superior	70	112	13,72	0,644*
		Médio	63	133	9,08	0,277*
		Inferior	49	147	5,64	0,537*
	A2	Superior	63	189	7,02	0,665*
		Médio	63	210	9,24	0,490*
		Inferior	98	217	9,38	0,562*
2011/12	A2	Superior	84	182	6,20	0,325*
		Médio	28	168	5,74	0,589*
		Inferior	28	182	5,46	0,584*

¹ Superior: ~1,8 m; Médio: ~1,0 m; Inferior: ~0,3 m.

² contados a partir de 01/11/2010 nas A1 e A2 na safra 2010/11 e a partir de 14/11/2011 na A2 na safra 2011/12.

³ Média de 50 folhas/ altura/ área, divididas em 5 ramos, 1 ramo/ planta.

⁴ Calculado a partir dos dados individuais de cada uma das 50 folhas/ altura/ área.

* Significativo com $p < 0,05$

Tabela 4 – Estimativas dos parâmetros do modelo logístico para os dados de incidência e do modelo exponencial para os dados de severidade da Mancha Foliar de *Glomerella* nos terços superior, médio e inferior do dossel de macieira, cv. Imperial Gala, em duas áreas comerciais (A1 e A2) localizadas no município de Campo Largo/ PR. Safras 2010/11 e 2011/12.

Parâmetro ¹	Área	Altura no dossel ²	Safr 2010/11		Safr 2011/12	
			Incidência	Severidade	Incidência	Severidade
y_0	A1	Superior	0,010	0,000	---	---
		Médio	0,000	0,019	---	---
		Inferior	0,034	0,039	---	---
	A2	Superior	0,003	0,008	0,000	0,001
		Médio	0,000	0,079	0,000	0,183
		Inferior	0,000	0,106	0,015	0,244
r	A1	Superior	0,055	0,120	---	---
		Médio	0,147	0,050	---	---
		Inferior	0,042	0,048	---	---
	A2	Superior	0,048	0,043	0,135	0,054
		Médio	0,093	0,026	0,155	0,026
		Inferior	0,090	0,027	0,051	0,021
R^2	A1	Superior	0,92	0,95	---	---
		Médio	0,96	0,70	---	---
		Inferior	0,85	0,95	---	---
	A2	Superior	0,94	0,97	0,99	0,97
		Médio	0,98	0,89	0,96	0,95
		Inferior	0,99	0,93	0,88	0,69

¹ y_0 é o parâmetro relacionado ao inóculo inicial da doença, r é a taxa de progresso da doença, R^2 é o coeficiente de determinação para regressão linear entre os valores observados e preditos.

² Superior: 1,8 m de altura em relação ao solo; Médio: 1,0 m de altura em relação ao solo; Inferior: 0,3 m de altura em relação ao solo.

³ --- : não avaliado.

Tabela 5 - Comparação dos valores¹ dos parâmetros estimados² a partir dos dados de incidência da Mancha Foliar de *Glomerella*, pelo modelo logístico. Avaliação em duas áreas comerciais (A1 e A2) localizadas no município de Campo Largo – PR, nas safras 2010/11 e 2011/12.

			A1 – Safra 2010/11						A2 – Safra 2010/11						A2 – Safra 2011/12						
			Superior		Médio		Inferior		Superior		Médio		Inferior		Superior		Médio		Inferior		
			y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	
A1- Safra 2010/11	Superior	y_0	---	---	ns ⁴	---	ns	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
		r	---	---	---	* ⁴	---	*	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	Médio	y_0	ns	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
		r	---	*	---	---	---	*	---	---	---	*	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	Inferior	y_0	ns	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---
		r	---	*	---	*	---	---	---	---	---	---	---	*	---	---	---	---	---	---	---
A2 - Safra 2010/11	Superior	y_0	ns	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	ns	---	ns	---	---	---	---	---	
		r	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	*	---	*	---	*	---	---	---	---	---
	Médio	y_0	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	---
		r	---	---	---	*	---	---	---	*	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---
	Inferior	y_0	---	---	---	---	ns	---	ns	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---	ns	---
		r	---	---	---	---	---	*	---	*	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---	*
A2 - Safra 2011/12	Superior	y_0	---	---	---	---	---	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	ns	---	
		r	---	---	---	---	---	---	---	*	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	---	*
	Médio	y_0	---	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	---	ns	---
		r	---	---	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	---	*
	Inferior	y_0	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	ns	---	ns	---	---	---	---
		r	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	*	---	*	---	*	---	---	---

¹ Teste t-Student ($p < 0,05$).

² y_0 é o parâmetro relacionado ao inóculo inicial da doença, r é a taxa de progresso da doença.

³ --- = não avaliado.

⁴ ns = não significativo. * = significativo

Tabela 6 - Comparação dos valores¹ dos parâmetros estimados² a partir dos dados de severidade da Mancha Foliar de *Glomerella*, pelo modelo exponencial. Avaliação em duas áreas comerciais (A1 e A2) localizadas no município de Campo Largo – PR, nas safras 2010/11 e 2011/12.

			A1 – Safra 2010/11						A2 – Safra 2010/11						A2 – Safra 2011/12						
			Superior		Médio		Inferior		Superior		Médio		Inferior		Superior		Médio		Inferior		
			y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	
A1- Safra 2010/11	Superior	y_0	---	---	ns	---	ns	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---		
		r	---	---	---	*	---	*	---	*	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	Médio	y_0	ns	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
		r	---	*	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	Inferior	y_0	ns	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---
		r	---	*	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	*	---	---	---	---	---	---	---
A2 - Safra 2010/11	Superior	y_0	ns	---	---	---	---	---	---	ns	---	*	---	ns	---	---	---	---	---	---	
		r	---	*	---	---	---	---	---	---	*	---	*	---	---	ns	---	---	---	---	---
	Médio	y_0	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---	---
		r	---	---	---	ns	---	---	---	*	---	---	---	ns	---	---	---	ns	---	---	---
	Inferior	y_0	---	---	---	---	ns	---	*	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---	ns	---
		r	---	---	---	---	---	*	---	*	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	---	ns
A2 - Safra 2011/12	Superior	y_0	---	---	---	---	---	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	*	---	*	---	
		r	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	---	---	---	---	---	---	*	---	---	*
	Médio	y_0	---	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	---	---	*	---	---	---	---	ns	---
		r	---	---	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	---	---	*	---	---	---	---	ns
	Inferior	y_0	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	*	---	ns	---	---	---	---
		r	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	ns	---	*	---	ns	---	---	---

¹ Teste t-Student ($p < 0,05$).

² y_0 é o parâmetro relacionado ao inóculo inicial da doença, r é a taxa de progresso da doença.

³ --- = não avaliado.

⁴ ns = não significativo. * = significativo

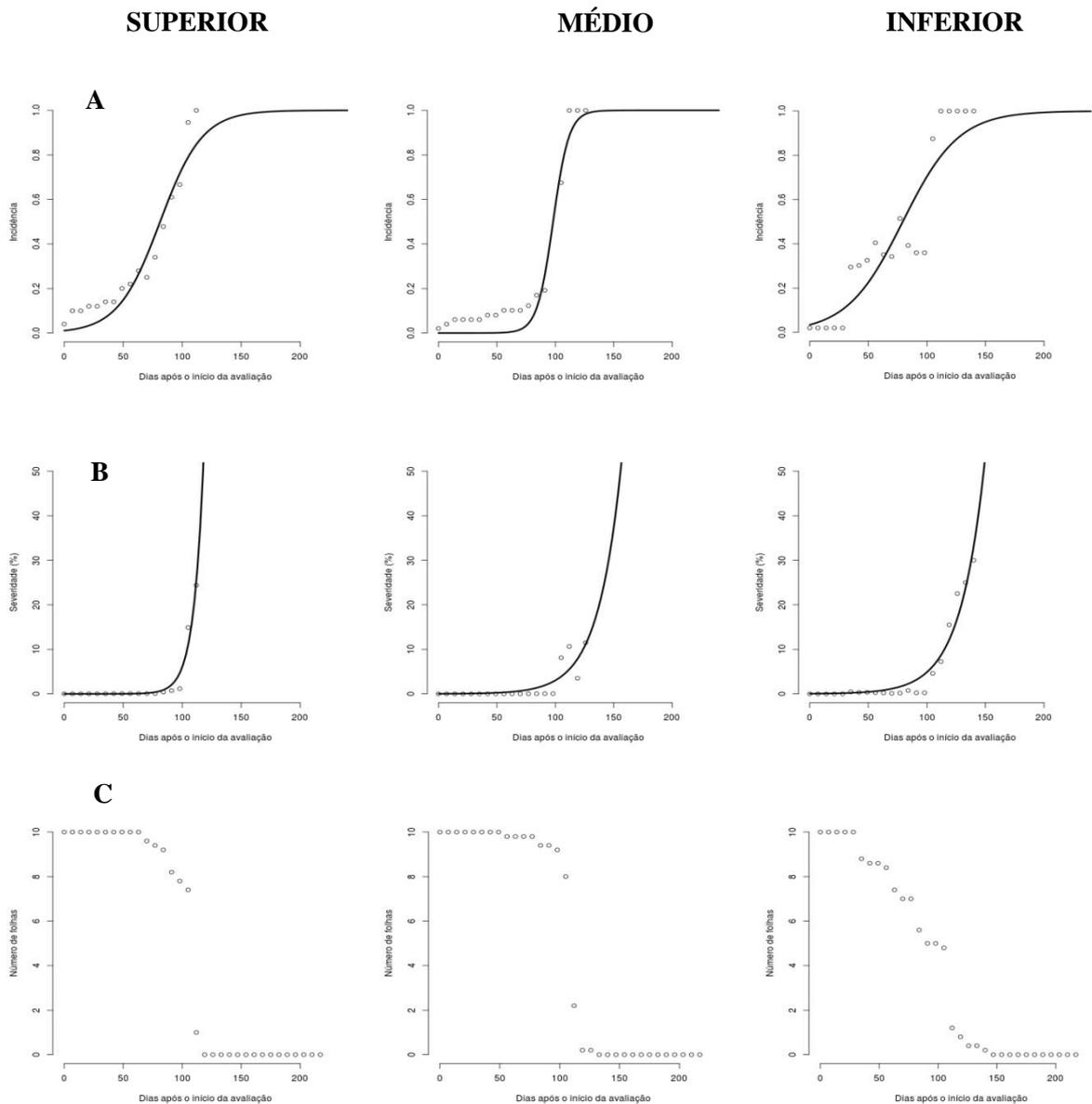


Figura 1 – Curvas do modelo logístico ajustado aos dados de incidência (A) e do modelo exponencial ajustado aos dados de severidade (B) da Mancha foliar de *Glomerella*, na parte superior, média e inferior do dossel. Número de folhas ao longo do tempo na parte superior, média e inferior do dossel. Avaliação de 5 ramos com 10 folhas cada um, por altura. Avaliações realizadas na safra 2010/11 em um pomar comercial (A1) no município de Campo Largo/ PR. Início das avaliações em 01/11/2010.

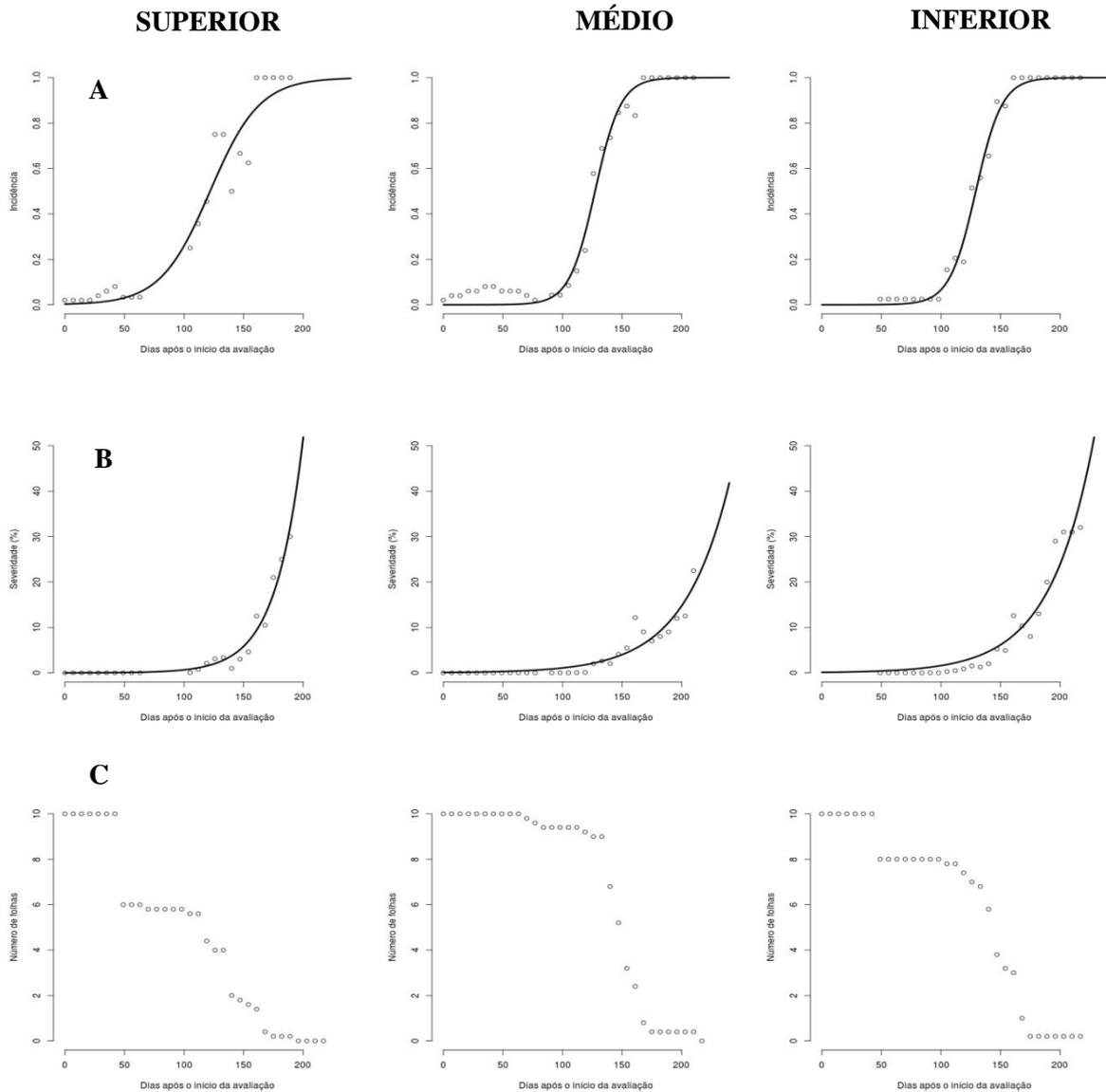


Figura 2 – Curvas do modelo logístico ajustado aos dados de incidência (A) e do modelo exponencial ajustado aos dados de severidade (B) da Mancha foliar de *Glomerella*, na parte superior, média e inferior do dossel. Número de folhas ao longo do tempo na parte superior, média e inferior do dossel. Avaliação de 5 ramos com 10 folhas cada um, por altura. Avaliações realizadas na safra 2010/11 em um pomar comercial (A2) no município de Campo Largo/ PR. Início das avaliações em 01/11/2010.

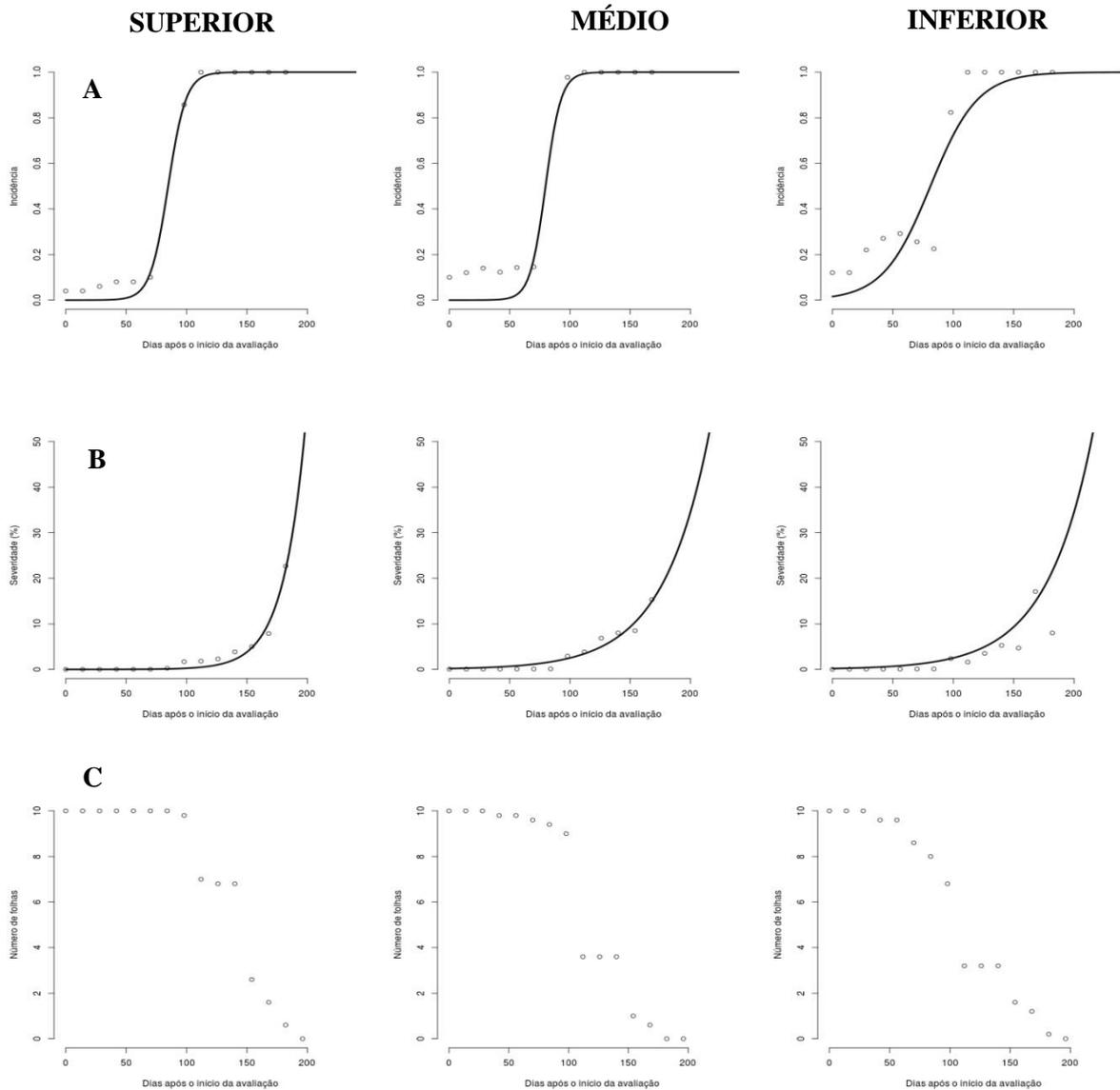


Figura 3 – Curvas do modelo logístico ajustado aos dados de incidência (A) e do modelo exponencial ajustado aos dados de severidade (B) da Mancha foliar de *Glomerella*, na parte superior, média e inferior do dossel. Número de folhas ao longo do tempo na parte superior, média e inferior do dossel. Avaliação de 5 ramos com 10 folhas cada um, por altura. Avaliações realizadas na safra 2011/12 em um pomar comercial (A2) no município de Campo Largo/ PR. Início das avaliações em 14/11/2011.

6 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados alcançados no presente trabalho permitiram apontar as seguintes conclusões:

1. A sobrevivência de *Colletotrichum* spp. em macieira durante o período de inverno ocorre na própria planta, em gemas dormentes e ramos dormentes, e nas folhas caídas no solo. O solo não constitui fonte de inóculo neste patossistema.
2. Durante o período vegetativo da cultura *Colletotrichum* spp. não sobrevive de forma epifítica em folhas de macieira.
3. A quantidade de inóculo primário e a patogenicidade dos isolados varia de um ano para outro e de acordo com a fonte de inóculo, sendo que no presente trabalho os isolados obtidos ocasionaram, em diferentes frequências, sintomas de podridão amarga em frutos com e sem ferimento e de Mancha Foliar de *Glomerella* em folhas de macieira da cv. Gala.
4. A disseminação de *Colletotrichum* spp. em pomares de macieira ocorre tanto pelo ar quanto pelo escoamento de água no interior da planta, sendo que a maior densidade de conídios foi observada próximo ao solo, tanto os dispersos pelo ar quanto os dispersos pelo escoamento de água.
5. Os insetos-praga *Grapholita molesta* e *Bonagota cranaodes* não mostraram ser disseminadores de conídios de *Colletotrichum* spp. em macieira.
6. A epidemia da Mancha Foliar de *Glomerella* inicia no mês de novembro, coincidindo com o início da disseminação do patógeno no ar, e o aumento da severidade ocorre principalmente na época de colheita das frutas (janeiro e fevereiro).
7. O progresso da MFG a campo é dependente de diversos fatores como quantidade de inóculo inicial, condições ambientais e práticas de manejo fitossanitário e cultural adotadas.
8. A queda antecipada das folhas ocasionada pela doença correlaciona-se positivamente com a severidade da Mancha Foliar de *Glomerella*.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Visto a impossibilidade de determinação da concentração de inóculo de *Colletotrichum* spp. nas suspensões relativas aos ensaios de sobrevivência do patógeno no período dormente das plantas, é necessária a adequação dos protocolos de isolamento em relação à quantidade de material amostrado e de suspensão resultante, pois o inóculo estava presente na suspensão.

Existe a necessidade de desenvolvimento de estudos complementares a respeito da influência dos tratamentos de inverno no inóculo inicial de *Colletotrichum* spp. em pomares de macieira não submetidos a pulverizações de fungicidas sintéticos durante o período vegetativo da cultura, visto que o presente trabalho foi realizado somente em pomares comerciais com sistema de produção convencional.

Trabalhos futuros que realizem a diferenciação entre conídios e ascósporos presentes nos pomares são recomendados para elucidar a real contribuição dos ciclos primário e secundário na epidemia, bem como inferir sobre a importância das fases sexuada e assexuada do patógeno neste patossistema.

Isolamentos a partir de folhas com sintomas de MFG, oriundas de diferentes regiões produtoras do Brasil, foram realizados e os isolados juntamente com os obtidos neste estudo, estão sendo caracterizados em relação às suas características culturais, morfológicas e patogênicas, além de estarem sendo identificados molecularmente com a utilização de sequências ITS específicas. Está se fazendo também o levantamento da sensibilidade dos isolados em relação aos fungicidas mancozebe e tiofanato metílico.

A existência de infecções latentes do patógeno em diferentes estádios de desenvolvimento da cultura, embora não relatado neste documento, foi verificada em flores, frutos verdes e frutos em ponto de colheita. Os dados ainda estão sendo analisados, mas através das observações pode-se sugerir a realização de estudos de disseminação de inóculo envolvendo outros gêneros de insetos ocorrentes no pomar, a exemplo de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) e *Apis mellifera* envolvida no processo de polinização, visto a observação da presença de *Colletotrichum* spp. de forma latente em flores de macieira da cv. Gala.

REFERÊNCIAS GERAIS

ABANG, M.M.; ABRAHAM, W.; ASIEDU, R.; HOFFMANN, P.; WOLF, G.; WINTER, S. Secondary metabolite profile and phytotoxic activity of genetically distinct forms of *Colletotrichum gloeosporioides* from yam (*Dioscorea spp.*). **Mycological research**, v. 113, p. 130–140, 2009.

ADASKAVEG, J.E.; FÖRSTER, H. Occurrence and management of anthracnose epidemics caused by *Colletotrichum* species on tree fruits in California. In: **Colletotrichum Host specificity, pathology and host-pathogen interaction**. (eds D Prusky, S Freeman, MB Dickman). The American Phytopathological Society pp. 317–336, 2000.

AGOSTINI, J.P.; GOTTWALD, T.R.; TIMMER, L.W. Temporal and spatial dynamics of postbloom fruit drop of citrus in Florida. **Phytopatology**, v. 83, p. 485-490, 1993.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5th ed. Academic Press, San Diego. pp. 922, 2005.

AMORIM, L & PASCHOLATI, S.F. Ciclo das relações patógeno-hospedeiro. In: **Manual de Fitopatologia** Vol I. 4ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011.

ANZANELLO, R.; SANTOS, H.P.; FIALHO, F.B.; MARODIN, G.A.B.; BERGAMASCHI, H. Evolução da endodormência em gemas de macieira em função da presença ou ausência de folhas no outono. In: XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura – **Anais**. Resumo expandido. Bento Gonçalves/ RS, 2012.

ATINSKY, G.; FREEMAN, S.; MAYMON, M.; BELAUSOV, E.; OCHOA, R.; BAUCHAN, G.; SKORACKA, A.; PEÑA, J.; PALEVSKY, E. The role of eriophyoids in fungal pathogen epidemiology, mere association or true interaction? **Exp Appl Acarol**. On line, 2009.

BAILEY, J.A.; ROWELL, P.M. Viability of *Colletotrichum lindemuthianum* in hypersensitive cells of *Phaseolus vulgaris*. **Physiological Plant Pathology**, v. 17, p. 341-345, 1980.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi** St. Paul, Minnessota: APS Press, 1998.

BAXTER, A.P.; WESTHUIZEN, G.C.A. & EICKER, A. A review of literature on the taxonomy, morphology and biology of the fungal genus *Colletotrichum*. **Phytophylactica**, v. 17, p. 15-18, 1985.

BECKER, W.F.; KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S. Mancha foliar da gala: principal doença de verão da cultura da macieira. **Agropecuária Catarinense**, v. 13, p. 14-20, 2000.

BEDIMO, M.J.A.; BIEYSSE, D.; NYASSÉ, S.; NOTTÉGHM, J.L.; CILAS, C. Role of rainfall in the development of coffee berry disease in *Coffea arabica* caused by *Colletotrichum kahawae*, in Cameroon. **Plant Pathology**, v. 59, p. 324-329, 2010.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Epidemiologia comparativa entre os patossistemas temperado e tropical: conseqüências para a resistência a fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 119-127, 2001.

BERGAMIN FILHO, A.; HAU, E.; AMORIM, L.; LARANJEIRA, F.F. Análise espacial de epidemias. In: **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 10, p. 155-218, 2002.

BERNARDI, J.; FELICIANO, A.; ASSIS, M. Ocorrência de *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*) nas gemas florais e flores de macieira. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 18, n. 6, p. 609-611, 1983.

BLEICHER, J. Botânica e fisiologia. In: EPAGRI (Ed.) **A Cultura da Macieira**. Florianópolis, Epagri, p. 29-36, 2002.

BLEICHER, J. Doenças da macieira e outras pomáceas. In: **Manual de Fitopatologia**, v. II. São Paulo, Agronômica Ceres, p. 472-485, 1997.

BONETI, J.I.S.; BECKER, W.F.; KATSURAYAMA, Y. Sistema de previsão da mancha-foliar-da-gala em macieira, cultivar gala. **Agropecuária Catarinense**, v. 17, p. 64-67, 2004.

BONETI, J.I.S.; CESAR, J.D.; PETRI, J.L.; BLEICHER, J. Evolução da cultura da macieira In: **A Cultura da Macieira**. Florianópolis, 2002a. 743p.

BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y. **Doenças da Macieira** São Paulo: BASF, 1998.

BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y.; BLEICHER, J. Doenças da macieira. In: EPAGRI (Ed.) **A Cultura da Macieira**. Florianópolis, Epagri, pp. 527-593, 2002c.

BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y.; BLEICHER, J. Doenças Fúngicas Foliares. In: EPAGRI. **A Cultura da Macieira**. Florianópolis, 2002b. 743p.

BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y.; OZAWA, T. Levantamento das espécies de *Colletotrichum* associadas com a mancha foliar de *Glomerella* em macieira, cv Gala, no Estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, resumos (143). 1999.

BORVE, J.; STENSVAND, A. *Colletotrichum acutatum* found on apple buds in Norway. **Plant Health Progress**. On line. 2007.

BOUDREAU, M.A.; MADDEN, L.V. Effect of strawberry density on dispersal of *Colletotrichum acutatum* by simulated rain. *Phytopathology*, v. 85, p. 934-941, 1995.

BURDON, J.J.; SILK, J. Sources and patterns of diversity in plant pathogenic fungi. **Phytopathology**, v. 87, p. 664-669, 1997.

CAI, L.; HYDE, K.D.; TAYLOR, P.W.J.; WEIR, B.S.; WALLER, J.; ABANG, M.M.; ZHANG, J.Z.; YANG, Y.L.; PHOULIVONG, S.; LIU, Z.Y.; PRIHASTUTI, H.; SHIVAS, R.G.; MCKENZIE, E.H.C.; JOHNSTON, P.R. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 183-204, 2009.

CAMPBELL, C.L. & MADDEN, L.V. Introduction to plant disease epidemiology. New York. J. Wiley & Sons. 532 p. 1990.

CARVALHO, V.R.F. **Cadeia Produtiva da Maçã na Região Sul e seus Arranjos Produtivos Locais**: limitações e potencialidades. Porto Alegre: BRDE, 2010.

CEREZINE, P.C.; LEITE, R.P.; TSUNETTA, M. Efeito de tratamentos químicos no controle da mancha foliar de *Glomerella* em macieira no estado do Paraná. **Fitopatologia brasileira**, v.17, n.3, p. 258-267, 1992.

CROUCH, J.A.; BEIRN, L.A. Anthracnose of cereals and grasses. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 19-44, 2009.

CRUSIUS, L.U.; FORCELINI, C.A.; SANHUEZA, R.M.V.; FERNANDES, J.M.C. Epidemiology of apple leaf spot. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 65-70, 2002.

ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M.T., et al. Mechanisms of resistance to *Colletotrichum* species. In: **Colletotrichum: Biology, Pathology and Control**. England, CAB international Wallingford, p. 121-133, 1992.

FERRANDINO, F.J. A distribution-free method for estimating the effects of aggregated plant damage on crop yield. **Phytopathology**, v. 79, n.11, p. 1229-1232, 1989.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, v. 82, p. 596–605, 1998.

GONZÁLEZ, E.; SUTTON, T.B. First report of *Glomerella* leaf spot (*Glomerella cingulata*) of apple in the United States. **Plant Disease**, v. 83, p. 1174. 1999.

GONZÁLEZ, 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**, v. 88, p. 1335-1340, 2004.

GONZÁLEZ, E.; SUTTON, T.B.; CORRELL, J.C. Clarification of the etiology of *Glomerella* leaf spot and bitter rot of apple caused by *Colletotrichum* spp. based on morphology and genetic, molecular and pathogenicity tests. **Phytopathology**, v. 96, p. 982–992, 2006.

GUERBER, J.C.; CORRELL, J.C. Characterization of *Glomerella acutata*, the teleomorph of *Colletotrichum acutatum*. **Mycologia**, v. 93, n.1, p. 216-229, 2001.

HAMADA, N.A. Influência da temperatura e do período de molhamento foliar (PMF) na incidência e severidade da mancha-foliar-da-gala (*Colletotrichum* spp.). **Agropecuária Catarinense**, v. 18, p. 73-77, 2005.

HAMADA, N.A.; NESI, C.N.; ALVES, G.; MAY DE MIO, L. L. Fungicidas associados ou não a fosfitos no controle da mancha foliar de glomerella em macieira. **Agrária**, v. 7, p. 831-837, 2012.

HASAN, S. The possible role of two species of Orthoptera in the dissemination of a plant pathogenic fungus. **Annals of Applied Biology**, v. 101, p. 205–209, 1982.

HIDALGO, L. **Tratado de viticultura general**. 1.ed. Madri: Mundi-Prensa, 1993. 983p.

HINDORF, H.; BLANKE, M.; POHLAN, J. *Colletotrichum* species causing anthracnose of tropical crops. **Plant Pathology**, v. 39, p. 343–366, 2000.

HUERTA-PALACIOS, G.; HOLGUÍN-MELÉNDEZ, F.; BENÍTEZ-CAMILO, F.A.; TOLEDO-SRREOLA, J. Anthracnose epidemiology [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)

Penz. And Sacc.] on mango cv. Ataulfo (*Mangifera indica* L.) in the Soconusco, Chiapas, Mexico. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v. 27, n. 2, p. 93-105, 2009.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 1-88, 2012. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201202.pdf
Acesso em 23 de outubro de 2012.

ICEPA, Instituto de Planejamento e Economia Agrícola de Santa Catarina. **Síntese anual de agricultura de Santa Catarina 2004- 2005**. Disponível em: www.icepa.com.br/ Acesso em: 25 novembro de 2012.

IUCHI, V.L. Botânica e fisiologia. In: Epagri (Ed.) **A Cultura da Macieira**. Florianópolis, Epagri, p. 59-104, 2002.

JESUS Jr, W.C.; BASSANEZI, R.B. Análise da dinâmica e estrutura de focos da Morte Súbita dos Citros. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 399-405, 2004.

JOHNSTON, P.R.; MANNING, M.A. Taxonomy of fruit-rotting fungal pathogens: what's really out there? **New Zealand Plant Protection**, v. 58, p. 42-46, 2005.

JONES, A.L.; SUTTON, T.B. **Diseases of tree fruits in the East**. Michigan State University, 1996.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S. Epidemiologia da Mancha Foliar da Gala. In: **IV Reunião Anual de Fitossanidade na Cultura da Macieira**. São Joaquim: Epagri. 1999

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S. Manejo da mancha da gala. **Agropecuária catarinense**, v. 25, n. 2, p. 45-51, 2012. Suplemento.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S. Manejo das doenças de verão da macieira no sul do Brasil In: STADNIK MJ (Ed.) **Manejo Integrado de Doenças da Macieira**. Florianópolis, CCA-UFSC, p. 45-64, 2009.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S.; BECKER, W.F. Mancha foliar da gala: principal doença de verão da cultura da macieira. **Agropecuária catarinense**, v. 13, p. 14-20, 2000.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I.S.; BECKER, W. F. Prevenção e controle da Mancha da Gala. In: SEMINÁRIO SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 5., 2004. São Joaquim-SC. **Anais...** Florianópolis: Epagri, 2004. 74p.

KIM, H.; LIM, T.H.; KIM, J.; KIM, Y.H.; KIM, H.T. Potential of cross-infection of *Colletotrichum* species causing anthracnose in persimmon and pepper. **Plant Pathology Journal**, v. 25, p. 13-20, 2009.

KOWATA, L.S.; STRAPASSON, M.; CHALLIOL, M.A.; MAY-DE-MIO, L.L. Glomerella leaf spot in apple: validation of proposed diagrammatic scale and efficiency of fungicides. **Ciência Rural**, v.40, n.7, p. 1502-1508, 2010.

KUC, J. Induced immunity to plant disease. **Bio Science**, v. 32, p. 854-860, 1985.

LEITE, R.P.; TSUNETTA, M.; KISHINO, A.Y. Ocorrência de mancha foliar de *Glomerella* em macieira no estado do Paraná. Fundação Instituto Agrônômico do Paraná. **Informe de Pesquisa**, 81. 1988.

LOPEZ, A. M. Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum* in **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 9, p. 291-339, 2001.

LOPEZ, A.M.Q. **The interaction between anthracnose, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., and cashew, *Anacardium occidentale* (L.)**. Bristol, UK: University of Bristol, 1999. IACR-LARS PhD. Thesis. 276 p.

LUBBE, C.M.; DENMAN, S.; LAMPRECHI, S.C.; CROUS, P.W. Pathogenicity of *Colletotrichum* species to *Protea* cultivars. **Australasian Plant Pathology**, v. 35, p. 37-41, 2006.

MADDEN, L.V. Aggregation of *Colletotrichum acutatum* in response to simulated rain episodes. **Journal of Phytopathology**, v. 138, n. 2, p. 145-156, 1993b.

MADDEN, L.V. Rainfall and the dispersal of fungal spores. **Adv. Plant Pathology**, v. 8, p. 39-79, 1992.

MADDEN, L.V.; WILSON, L.L.; ELLIS, M.A. Field spread of anthracnose fruit rot of strawberry in relation to ground cover and ambient weather conditions. **Plant Disease**, v. 77, p. 861-866, 1993a.

MASYAHIT, M.K.; SIJAM, Y.; AWANG SATAR, M.G.M. The first report of the occurrence of anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. on dragon fruit (*Hylocereus* spp.) in peninsular Malaysia. **American Journal Applied Science**, v. 6, p. 902–912, 2009.

MENEZES, M. Aspectos Biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, vol. 3, p.170-179, 2006.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Fitopatologia brasileira**, 27 (suplemento): S23, 2002.

MENEZES, M.; HANLIN, R.T. Apressoria of Brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of anthracnoses diseases. **Revista de Microbiologia**, v. 27, p. 247–251, 1996.

MEYER, J.Y.; TAPUTUARAI, R.; KILLGORE, E. Dissemination and impacts of the fungal pathogen, *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *miconiae*, on the invasive alien tree, *Miconia calvescens*, in Tahiti, South Pacific. In: **Proceedings of XII International Symposium on Biological Control of Weeds** (eds: JULIEN, M.H.; SFORZA, R.; BON, M.C.; EVANS, H.C.; HATCHER, P.E.; HINZ, H.L.; RECTOR, B.G.), p. 594-600. CAB International Wallingford, UK. 2008.

MISHRA, A.; SIRADHANA, B.S. Studies on the survival of sorghum anthracnose (*Colletotrichum graminicola*) pathogen. **Phillipine Agriculture**, v. 62, p. 149-152, 1979.

NACHTIGALL, G.R. **Aspectos Socioeconômicos da Cultura da Maçã**. In: NACHTIGALL, G.R (Ed) *Maçã Produção*. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p.9-16, 2004.

NTAHIMPERA, N.; MADDEN, L.V.; WILSON, L.L. Effect of rain distribution alteration on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. **Phytopathology**, v. 87, p. 649-655, 1997.

PAULA, V. A.; BERGAMASCHI, H.; DEL PONTE, E. M.; CARDOSO, L. S.; BOSCO, L.C. Duração do período de molhamento foliar em pomares de macieira em céu aberto e sob tela antigranizo, em Vacaria-RS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, n.2, p. 451-459, 2012.

PEÑA, J.E.; DUNCAN, R. Role of arthropods in the transmission of postbloom fruit drop. **Proc. Fla. State Hort. Soc.**, v. 102, p. 249-251, 1989.

PETRI, J.L.; LEITE, G.B.; COUTO, M.; FRANCESCATTO, P. Avanços na cultura da macieira no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, p. 48-56, 2011.

PETRI, J.L.; PALLADINI, L.A.; POLA, A.C. Dormência e indução da brotação da macieira. In: EPAGRI (Eds) **A cultura da macieira**. Florianópolis, Epagri, pp. 261-298, 2002.

PHOULIVONG, S. *Colletotrichum*, naming, control, resistance, biocontrol of weeds and current challenges. **Current Research in Environmental & Applied Mycology**, v. 1, n. 1, p. 53–73, 2011.

RATANACHERDCHAI, K.; WANG, H.; LIN, F.; SOYTONG, K. ISSR for comparison of cross-inoculation potential of *Colletotrichum capsici* causing chili anthracnose. **Microbiology Research**, v. 4, n. 1, p. 76–83, 2010.

RATANACHERDCHAI, K.; WANG, H.; LIN, C.; SOYTONG, K. RAPD analysis of *Colletotrichum* species causing chili anthracnose disease in Thailand. **Agricultural Technology**, v. 3, p. 211–219, 2007.

REIS, E.M.; CASA, R.T. Sobrevivência de fitopatógenos. In: **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perffil, 2004.

RIBEIRO, I. J. A. Doenças da Mangueira. p.512-524. cap. 49. In. KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia – Doenças das Plantas Cultivadas**. v.2, 3. ed. Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 1997, 774p.

ROCA, M.G.M, DAVID, L.C.; COSTA, M.C.M. Cytogenetics of *Colletotrichum lindemuthianum* (*Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli*). **Fitopatologia brasileira**, v. 28, p. 367-373, 2003.

ROJAS, E.I.; REHNER, S.A.; SAMUELS, G.J. *Colletotrichum gloeosporioides* associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panama: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. **Mycologia**, v. 102, n. 6, p. 1318–1338, 2010.

SANTOS, E.A.; SENTELHAS, P.C.; PEZZOPANE, J.E.M.; ANGELOCCI, L.R.; MONTEIRO, J.E.B.A. Spatial variability of leaf wetness duration in cotton, coffee and banana crop canopies. **Scientia agrícola**, v. 65, p. 18-25, 2008.

SHI, Y.; CORRELL, J.C.; GUERBER, J.C.; ROM, C.R. Frequency of *Colletotrichum* species causing bitter rot of apple in the southeastern United States. **Plant Disease**, v. 80, p. 692-696, 1996.

SKIPP, R.A.; BEEVER, R.E.; SHARROCK, K.R.; RIKKERINK, E.H.A.; TEMPLETON, M.D. *Colletotrichum*. In: **Pathogenesis and host specificity in plant diseases**. Pergamon/Elsevier Sci. Ltd. Public.: Oxford, vol 2, p. 119-142, 1995.

SPÓSITO, M.B., AMORIM, L., BELASQUE JUNIOR, J., BASSANEZI, R.B. & AQUINO, R. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da mancha preta em frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 81-85, 2004.

STADNIK, M.J.; ARAÚJO, L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Estratégias alternativas de controle da mancha foliar de glomerella e da sarna da macieira In: STADNIK MJ (Ed.) **Manejo integrado de doenças da macieira**. Florianópolis, CCA-UFSC, p.105-126, 2009.

SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: **Colletotrichum biology, pathogenicity, and control** (eds BAILEY, J.A.; JEGER, M.J.). CAB International, Wallingford, UK. 1992.

SUTTON, T.B.; SHANE, W.W. Epidemiology of the perfect stage of *Glomerella cingulata* on apples. **Phytopathology**, v. 73, p. 1179-1183, 1983.

TALHINHAS, P., MOTA-CAPITÃO, C., MARTINS, S., RAMOS, A. P., NEVES-MARTINS, J., GUERRA-GUIMARÃES, L., VÁRZEA, V., SILVA, M. C., SREENIVASAPRASAD, S., OLIVEIRA, H. Epidemiology, histopathology and aetiology of olive anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* in Portugal. **Plant Pathology**, v. 60, p. 483–495, 2011.

TAYLOR, J.A necrotic leaf blotch and fruit rot of apple caused by strain of *Glomerella cingulata*. **Phytopathology**, v. 61, p. 221-224, 1971.

TIMMER, L.W.; ZITKO, S.E. Relationships of environmental factors and inoculum levels to the incidence of postbloom fruit drop of citrus. **Plant Disease**, v. 77, p. 501-504, 1993.

TURECHEK, W.W.; MADDEN, L.V. Spatial pattern analysis of strawberry leaf blight in perennial production systems. **Phytopathology**, v. 89, n. 5, p. 421-433, 1999.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. **Características e controle de *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*), agente causal da mancha das folhas e frutos da macieira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 1999. 16p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular técnica, 25).

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; BETTI, J.A. Doenças da macieira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo, Ceres, p.421-433, 2005.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; BECKER, W.; BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y.; CZERMAINSKI, A.B.C. **Manejo das doenças de verão na produção integrada de maçã**. Circular técnica. Embrapa, n.36, 2002.

VAN DER BRUGGEN, P.; MARAITE, H. Histopathology of cassava anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *manihotis*. **Parasitica**, v. 43, p. 3-21, 1987.

VAN DER VOSSEN, H.; WALYARO, D.J. Additional evidence for oligogenic inheritance of durable host resistance to coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae*) in arabica coffee (*Coffea arabica* L.). **Euphytica**, v. 165, p. 105–111, 2009.

WALKLATE, P.J.; MCCARTNEY, H.A.; FITT, B.D.L. Vertical dispersal of plant pathogens by splashing. Part II: Experimental study of the relationship between raindrop size and the maximum splash height. **Plant Pathology**, v. 38, p. 64-70, 1989.

WANG, C.X.; ZHANG, Z.F.; LI, B.H. First report of *Glomerella* Leaf Spot of Apple Caused by *Glomerella cingulata* in China. **Plant Disease**, v. 96, n. 6, p. 912, 2012.

WITTICH, K.P. Some remarks on dew duration on top of an orchard. **Agricultural and forest meteorology**, v. 72, p. 167-180, 1995.

XU, X.M.; RIDOUT, M.S. Effects of prevailing wind direction on spatial statistics of plant disease epidemics. **Journal of Phytopathology**, v.149, n.2, p. 155-166, 2001.

ZAKARIA, M. *Colletotrichum* diseases of forest tree nurseries in Malaysia. Bristol, UK: University of Bristol, 1995. IACR-LARS. **PhD. Thesis**.

APÊNDICES

Apêndice 1 – Tipos de armadilhas caça-esporos utilizadas nos ensaios de verificação da disseminação de *Colletotrichum* spp. em macieira. A) lâminas com vaselina sob proteção plástica; B) armadilhas tipo “cata-vento”; C) tubos Eppendorfs para coleta de água no interior da planta.

