

# ***PROTEÇÃO DE PLANTAS NA AGRICULTURA SUSTENTÁVEL***

---

**Sami J. Michereff  
Reginaldo Barros**  
Editores

**Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade**

Recife - PE  
2001

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Reitor: Prof. Emídio Cantídio de Oliveira Filho

Vice-Reitor: Prof. Valmar Corrêa de Andrade

Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação: Profa. Áurea Wischral

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade: Prof. Reginaldo Barros

Diretor da Imprensa Universitária: Sr. Antão Marcelo Freitas A. Cavalcanti

©2001 by Sami Jorge Michereff e Reginaldo Barros  
Direitos de edição reservados aos editores

Criação da Capa: Genilda Pereira de Andrade  
Editoração Eletrônica: Sami Jorge Michereff

**Pedidos para:**

SAMI J. MICHEREFF  
Departamento de Agronomia – Área de Fitossanidade  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos  
52171-900 Recife, PE  
Fone/Fax: (81) 3302.1205  
E-mail: michereff@uol.com.br

Catálogo na Fonte  
Setor de Processor Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

D441	Proteção de plantas na agricultura sustentável / eds. Sami Jorge Michereff, Reginaldo Barros. – Recife : UFRPE, Imprensa Universitária, 2001. 368 p. : il. Bibliografia  ISBN 85-87459-06-6  CDD 632 CDU 632  11. PLANTA – PROTEÇÃO 2. PLANTA – DOENÇA 3. PLANTA – PRAGA 4. FITOSSANIDADE 5. ENTOMOLOGIA 6. FITOPATOLOGIA 7. AGRICULTURA SUSTENTÁVEL 8. MANEJO INTEGRADO I. Michereff, Sami Jorge. II. Barros, Reginaldo
------	---

Não é permitida a reprodução total ou parcial deste livro sem a autorização expressa dos editores.

# EDITORES E COLABORADORES

---

## EDITORES

**SAMI JORGE MICHEREFF.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: michereff@uol.com.br.

**REGINALDO BARROS.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: rbarros@ufrpe.br.

## COLABORADORES

**ANA ROSA PEIXOTO NASCIMENTO.** Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais, Universidade do Estado da Bahia (UNEB), 49800-000 Juazeiro, BA. E-mail: anarpeixoto@hotmail.com.

**ANDRÉA MARIA ANDRÉ GOMES.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: aagomes@yahoo.com.

**DELSON LARANJEIRA.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: rejadel@yahoo.com.br.

**DOMINGOS EDUARDO GUIMARÃES TAVARES DE ANDRADE.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: degta@uol.com.br.

**EDMILSON JACINTO MARQUES.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: emar@ufrpe.br.

**ELINEIDE BARBOSA DA SILVEIRA.** Departamento de Biologia - Área de Microbiologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: elineidebs@yahoo.com.br.

**GAUS SIVESTRE DE ANDRADE LIMA.** Laboratório de Cultura de Tecidos, Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), 50761-000 Recife, PE. E-mail: gausandrade@bol.com.br.

**GENIRA PEREIRA DE ANDRADE.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: genira@yahoo.com.

**GERSON QUIRINO BASTOS.** Departamento de Agronomia - Área de Fitotecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: gersonquirino@bol.com.br.

**GILVAN PIO-RIBEIRO.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: gilvanpio@uol.com.br.

**IDJANE SANTANA OLIVEIRA.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: idjaneso@ig.com.br.

**IRAILDES PEREIRA ASSUNÇÃO.** Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa (UFV), 36571-000 Viçosa, MG. E-mail: iraassuncao@bol.com.br.

**IRENE MARIA RAMOS MARQUES.** Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), 50670-420 Recife, PE. E-mail: imar@npd.ufpe.br.

**JOSÉ VARGAS DE OLIVEIRA.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: vargasoliveira@uol.com.br.

**LUCIANE VILELA RESENDE.** Departamento de Agronomia - Área de Fitotecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: lucianevilela@uol.com.br.

**LUIZ AUGUSTO MARTINS PERUCH.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: lamperuch@bol.com.br.

**MAIRON MAOURA DA SILVA.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: maironmoura@bol.com.br.

**MANOEL GUEDES CORRÊA GONDIM JÚNIOR.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: manoguedes@hotmail.com.

**RAQUEL GHINI.** Laboratório de Fitopatologia, EMBRAPA Meio Ambiente (CNPMA), 13820-000, Jaguariúna, SP. E-mail: raquel@cnpma.embrapa.br.

**RICARDO OTAVIANO RIBEIRO DE LIMA.** Estação Experimental de Cana-de-Açúcar, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 55810-000 Carpina, PE. E-mail: eecacpe@truenet.com.br.

**ROSA DE LIMA RAMOS MARIANO.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: rmariano@truenet.com.br.

**SAYONARA MARIA PAULINO DE ASSIS.** Departamento de Biologia – Área de Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: smpassis@uol.com.br.

**SELMA CAVALCANTI CRUZ DE HOLANDA TAVARES.** Laboratório de Controle Biológico, EMBRAPA Semi-Árido (CPATSA), 13820-000 Petrolina, PE. E-mail: selmaht@cpatsa.embrapa.br.

**SÔNIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: smaoliveira@bol.com.br.

**SUZANA ALENCAR FREIRE DANTAS.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: suzanaalencar@globo.com.

**VIVIANE JUREMA LOPES BORGES RODRIGUES.** Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE. E-mail: vivianeju@hotmail.com.

**WAGNER BETTIOL.** Laboratório de Fitopatologia, EMBRAPA Meio Ambiente (CNPMA), 13820-000 Jaguariúna, SP. E-mail: bettiol@cnpma.embrapa.br.

# APRESENTAÇÃO

---

A agricultura convencional está construída em torno de dois objetivos que se relacionam: a maximização da produção e do lucro. Na busca dessas metas, um rol de práticas foi desenvolvido sem preocupação com as conseqüências de longo prazo e sem considerar a dinâmica ecológica dos agroecossistemas. Dentre essas práticas básicas, o controle químico de pragas, doenças e plantas invasoras constitui a espinha dorsal da agricultura moderna. Além de serem responsáveis por grande parte dos custos de produção, os pesticidas têm um efeito profundo no ambiente e, freqüentemente, sobre a saúde humana.

A preocupação da sociedade com o impacto da agricultura no ambiente e a contaminação da cadeia alimentar com pesticidas vem alterando o cenário agrícola, demandando novas tecnologias, dentre as quais se insere a agricultura sustentável, que se baseia em quatro alicerces fundamentais: *sustentabilidade* (habilidade para manter o sistema em existência por um longo período de tempo quando submetido a estresse), *estabilidade* (obtenção consistente de rendimento a curto ou longo prazo), *produtividade* (capacidade de produção por área) e *equidade* (distribuição relativa de riqueza na sociedade).

Sem dúvida nenhuma, a transição da agricultura convencional para uma agricultura sustentável é um grande desafio, no qual a proteção de plantas está inserida. Nesse sentido, na resolução dos problemas relacionados com a ocorrência de pragas e doenças de plantas em níveis de danos econômicos devem ser utilizadas técnicas que propiciem a mínima dependência externa de insumos, o aumento da biodiversidade, a manutenção da estrutura do solo, o baixo ou nenhum risco ambiental e toxicológico, a manutenção do sistema por longo período de tempo e uma boa produtividade agrícola.

Este livro se propõe a abordar alguns aspectos relacionados à proteção de plantas com práticas sustentáveis, bem como motivar novas iniciativas que abordem esse assunto de extrema importância para o futuro da agricultura brasileira.

*Sami J. Michereff*  
*Reginaldo Barros*

# ÍNDICE

---

	Página
EDITORES E COLABORADORES .....	III
APRESENTAÇÃO .....	VII
ÍNDICE .....	IX
1. PROTEÇÃO DE PLANTAS EM SISTEMAS AGRÍCOLAS ALTERNATIVOS .....	1
<i>Wagner Bettiol &amp; Raquel Ghini</i>	
2. MANEJO SUSTENTÁVEL DE DOENÇAS RADICULARES EM SOLOS TROPICAIS	15
...	
<i>Sami J. Michereff, Luiz A.M. Peruch &amp; Domingos E.G.T. Andrade</i>	
3. BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS E BIOCONTROLE DE DOENÇAS .....	71
<i>Elineide B. Silveira</i>	
4. UTILIZAÇÃO DE MICRORRIZAS NO MANEJO DE DOENÇAS DE PLANTAS .....	101
<i>Delson Laranjeira</i>	
5. MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA O CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS .....	123
<i>Wagner Bettiol</i>	
6. DIAGNOSE E MANEJO DE FITOBACTERIOSES DE IMPORTÂNCIA NO NORDESTE BRASILEIRO	141
.....	
<i>Rosa L.R. Mariano, Elineide B. Silveira, Sayonara M.P. Assis, Andréa M.A. Gomes, Idjane S. Oliveira &amp; Ana R.P. Nascimento</i>	
7. ESTRATÉGIAS E MÉTODOS APLICADOS AO CONTROLE DE FITOVIROSES .....	171
<i>Genira P. Andrade &amp; Gilvan Pio-Ribeiro</i>	
8. DIAGNOSE E MANEJO DE DOENÇAS DAS FRUTEIRAS TROPICAIS NO NORDESTE BRASILEIRO .....	183
<i>Sônia M.A. Oliveira, Selma S.C.H. Tavares &amp; Suzana A.F. Dantas</i>	
9. DIAGNOSE E MANEJO DE DOENÇAS EM CULTIVOS HIDROPÔNICOS .....	225
<i>Andréa M.A. Gomes &amp; Viviane J.L.B. Rodrigues</i>	
10. BIOTECNOLOGIA E PROTEÇÃO DE PLANTAS .....	243
<i>Luciane V. Resende &amp; Mairon M. Silva</i>	
11. DESAFIOS DA BIOTECNOLOGIA APLICADA À PROTEÇÃO DE PLANTAS .....	273

*Gerson Q. Bastos*



12. BIOLOGIA MOLECULAR COMO FERRAMENTA NA DETECÇÃO DE FITOPATÓGENOS .....	291
<i>Gaus S.A. Lima &amp; Iraildes P. Assunção</i>	
13. ÁCAROS DE FRUTEIRAS TROPICAIS: IMPORTÂNCIA ECONÔMICA, IDENTIFICAÇÃO E CONTROLE .....	311
<i>Manoel G.C. Gondim Jr. &amp; José V. Oliveira</i>	
14. ATUALIZAÇÃO NA PRODUÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS DA CANA-DE-AÇÚCAR .....	351
<i>Edmilson J. Marques, Ricardo O.R. Lima &amp; Irene M.R. Marques</i>	

# PROTEÇÃO DE PLANTAS EM SISTEMAS AGRÍCOLAS ALTERNATIVOS

WAGNER BETTIOL  
RAQUEL GHINI

## INTRODUÇÃO

A preocupação da sociedade com o impacto da agricultura no ambiente e a contaminação da cadeia alimentar com pesticidas vem alterando o cenário agrícola, resultando na presença de segmentos de mercado ávidos por produtos diferenciados, tanto aqueles produzidos sem uso de pesticidas, como por aqueles portadores de selos de que os pesticidas foram utilizados adequadamente.

Essas pressões têm levado ao desenvolvimento de sistemas de cultivo mais sustentáveis e, portanto, menos dependentes do uso de pesticidas. O conceito de agricultura sustentável envolve o manejo adequado dos recursos naturais, evitando a degradação do ambiente de forma a permitir a satisfação das necessidades humanas das gerações atuais e futuras (Bird *et al.*, 1990). Esse enfoque altera as prioridades dos sistemas convencionais de agricultura em relação ao uso de fontes não renováveis, principalmente de energia, e muda a visão sobre os níveis adequados do balanço entre a produção de alimentos e os impactos no ambiente. As alterações implicam na redução da dependência de produtos químicos e outros insumos energéticos e o maior uso de processos biológicos nos sistemas agrícolas.

A proteção de plantas nos métodos convencionais, por meio do uso de pesticidas, apresenta características extremamente atraentes, como a simplicidade, a previsibilidade e a necessidade de pouco entendimento dos processos básicos do agroecossistema para a sua aplicação. Por exemplo, para obter-se sucesso com a aplicação de um herbicida de amplo espectro é importante o conhecimento de como aplicar o produto, sendo necessária pouca informação sobre a ecologia e a fisiologia de espécies. Muitos estudos de controle biológico adotam uma abordagem semelhante, onde é enfatizado o encontro entre patógeno-antagonista ou presa-predador. Tal estratégia é apropriada para predadores relativamente agressivos e específicos, mas tem menor valor em situações mais complexas. Nesses casos, após a introdução,

por exemplo, de um agente microbiano de controle biológico, haverá o seu estabelecimento em um nicho, seguido da interação com o organismo alvo e outras espécies de organismos. Essas complexas interações são fundamentais para o sucesso do controle, devendo ser analisadas de modo holístico e consideradas em longo prazo, e não em curto prazo. Assim sendo, há a necessidade de um amplo conhecimento da ecologia do sistema (Atkinson & McKinlay, 1995).

Em contraste com a agricultura convencional, os sistemas alternativos buscam obter vantagens das interações de ocorrência natural. Os sistemas alternativos dão ênfase ao manejo das relações biológicas, como aquelas entre praga e predadores e processos naturais, como a fixação biológica do nitrogênio ao invés do uso de métodos químicos. O objetivo é aumentar e sustentar as interações biológicas nas quais a produção agrícola está baseada, ao invés de reduzir e simplificar essas interações (National Research Council, 1989).

Um dos principais problemas da agricultura sustentável refere-se ao controle de doenças, pragas e plantas invasoras. Diversas técnicas utilizadas para minimizar os danos ocasionados por esses problemas fitossanitários contaminam o ambiente ou causam alterações que comprometem a sustentabilidade do sistema. Neste capítulo são discutidos os problemas do controle fitossanitário convencional; a complexidade dos sistemas naturais e dos agroecossistemas; as novas tecnologias de proteção de plantas desenvolvidas e as possíveis alterações dos sistemas de cultivo, visando à sustentabilidade agrícola.

## **PROBLEMAS DO CONTROLE CONVENCIONAL**

O uso intensivo de pesticidas na agricultura tem, reconhecidamente, promovido diversos problemas de ordem ambiental, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais; a intoxicação de agricultores; a resistência de patógenos, de pragas e de plantas invasoras a certos pesticidas; o desequilíbrio biológico, alterando a ciclagem de nutrientes e da matéria orgânica; a eliminação de organismos benéficos; e a redução da biodiversidade.

Boa parte dos pesticidas aplicados no campo é perdida. Estima-se que cerca de 90% dos pesticidas aplicados não atingem o alvo, sendo dissipados para o ambiente e tendo como ponto final reservatórios de água e, principalmente, o solo. As perdas se devem, de forma geral, à aplicação inadequada, tanto em relação à tecnologia, quanto ao momento de aplicação. Em alguns casos, porque a aplicação foi feita para dar proteção contra uma praga ou patógeno que não estão presentes na área. Isto ocorre porque ainda

são realizadas pulverizações baseadas em calendários e não na ocorrência do problema. O uso de uma significativa quantidade de produtos químicos seria evitado se fossem tomadas medidas de controle somente quando atingidos os níveis de dano econômico.

Atualmente, sabe-se que é impossível erradicar patógenos, insetos ou plantas invasoras no campo e que, além de tudo, isso é desnecessário. O balanço entre os riscos e os benefícios indica o momento exato da adoção de medidas de controle. Tanto a falta como o excesso de medidas de controle podem causar prejuízos. Enquanto na agricultura convencional a recomendação é de que as invasoras são um obstáculo a ser superado, na agricultura orgânica tenta-se tirar proveito desse importante recurso para o processo produtivo. Busca-se obter os efeitos positivos das invasoras na ciclagem de nutrientes, no aporte de matéria orgânica ao solo, no controle da erosão, como abrigo de inimigos naturais e de predadores, como substrato para microrganismos do solo, como cobertura e importante fator na conservação da água no solo. As plantas invasoras contribuem para a diversificação dos agroecossistemas e constituem um indicador das condições em que se encontra o solo no tocante à fertilidade, à estrutura e à compactação, dentre outros aspectos (Costa & Campanhola, 1997).

Porém, a tomada de decisão depende de informações seguras. Gravena *et al.* (1998), por exemplo, realizando o manejo ecológico de pragas e doenças do tomateiro envarado, demonstraram a possibilidade de reduzir de 31 aplicações de inseticidas e 31 de fungicidas no manejo convencional, para 10 e 21 aplicações de inseticidas e fungicidas, respectivamente, no manejo ecológico de tripes, pulgão, mosca branca, traça, broca pequena, requeima, pinta preta e vira-cabeça, sem alterar a produtividade.

O uso contínuo e exclusivo de pesticidas tem resultado na ocorrência de pragas ou patógenos resistentes a determinados produtos, que nem sempre é diagnosticada (Ghini & Kimati, 2000). Assim, esses pesticidas continuam a ser aplicados, mesmo tendo sua eficiência comprometida pela ocorrência de resistência no organismo alvo. Os efeitos dessas aplicações nos organismos não alvo também podem causar sérios desequilíbrios no agroecossistema. O surgimento de doenças iatrogênicas (as que ocorrem devido ao uso de pesticidas) é um exemplo de problemas que podem ocorrer. Vários aspectos do surgimento de pragas e doenças devido ao uso de pesticidas são discutidos por Chaboussou (1987).

Quanto à tecnologia de aplicação, a maior parte dos equipamentos apresenta uma baixa eficiência com relação à quantidade de produto que atinge o alvo e a quantidade total aplicada. Dessa forma, há necessidade do desenvolvimento de equipamentos para aplicação dos pesticidas, especialmente para os novos produtos que são aplicados em menores quantidades de princípio ativo por área.

## SISTEMAS NATURAIS *VERSUS* AGROECOSSISTEMAS

As doenças de plantas ocorrem na natureza com o objetivo, em parte, para manter o equilíbrio biológico e a ciclagem de nutrientes, sendo, desse ponto de vista, benéficas. O que se observa é que as doenças e as pragas ocorrem na forma endêmica. Não ocorrem epidemias que poderiam destruir as espécies vegetais, haja vista que colocaria em risco a sobrevivência dos patógenos e das pragas. Porém, as epidemias são freqüentes em ecossistemas agrícolas. A interferência humana, alterando o equilíbrio da natureza, resulta na ocorrência de epidemias. Uma das condições que favorecem o aumento da população de patógenos e pragas de forma epidêmica é o cultivo de plantas geneticamente homogêneas, o que é contrário à diversidade de variedades (Bergamin *et al.*, 1995).

O resgate dos princípios e mecanismos que operam nos sistemas da natureza pode auxiliar a obtenção de sistemas agrícolas mais sustentáveis (Colégio, 1996). Os sistemas de cultivo caracterizados pela mistura de culturas (policulturas ou consórcios) apresentam diversas vantagens na proteção de plantas. A freqüência de insetos-praga é menos abundante nas policulturas do que nas monoculturas. Vários mecanismos que diminuem a ocorrência de doenças operam favoravelmente na proteção de plantas das policulturas. Por exemplo, as espécies suscetíveis podem ser cultivadas em menores densidades, já que o espaço entre elas será ocupado por plantas resistentes que interessam ao produtor. A menor densidade de plantas suscetíveis e a barreira oferecida pelas plantas resistentes dificultam a disseminação do patógeno, reduzindo a quantidade de inóculo no campo (Liebman, 1989). Efeito semelhante é obtido com o uso de multilinhas, isto é, a mistura de linhagens agronomicamente semelhantes, mas que diferem entre si por apresentarem diferentes genes de resistência vertical. Além do aumento da diversidade no espaço, o aumento da diversidade no tempo, por meio da rotação de culturas, também faz com que os processos biológicos auxiliem a proteção de plantas, como por exemplo, no controle de diversos fitopatógenos veiculados pelo solo (van Bruggen, 1995).

Uma outra forma de aumentar a diversidade, conseqüentemente a complexidade do sistema (sistemas mais complexos são mais estáveis), é o cultivo em faixas. As culturas devem ser de famílias diferentes, assim, os patógenos e as pragas de uma não atingem a outra e há uma redução da ocorrência dos problemas relacionados com a proteção de plantas. Essa seqüência pode ser usada nos cultivos de inverno, verão e, no ciclo seguinte, as áreas são invertidas para funcionar como rotação de cultura no tempo e no espaço. No caso de plantas perenes, esse conceito pode ser até mais amplo, cultivando diferentes espécies florestais e formando uma agrofloresta. Além

das vantagens da redução do uso de pesticidas, há menor risco econômico, pois há maior diversificação da renda. Nesse caso, precisa também ser trabalhado o uso adequado de plantas invasoras, selecionando as que poderão ser benéficas do ponto de vista nutricional e de equilíbrio biológico. As entrelinhas devem sempre estar cobertas por vegetação. Um exemplo desse manejo é o cultivo de seringueira na Amazônia consorciado com espécies nativas. Nesse sistema, a principal doença da seringueira, o mal das folhas, é controlada devido ao manejo integrado, isto é, controle genético, cultural e biológico. O componente genético é devido ao uso de diversos clones de seringueira; o cultural, pelo plantio de espécies diferentes, como dendê, mogno, etc.; e o biológico, pela multiplicação e/ou aplicação de microrganismos antagonistas (*Hansfordia pulvinata*) ao *Microcyclus ulei*, agente causal da doença.

Trenbath (1993) explica que vários mecanismos podem estar associados à redução da ocorrência de pragas e doenças em cultivos consorciados, sendo os principais: (1) alterações nas características da planta hospedeira, tornando-as menos atraentes para as pragas ou reduzindo as chances de infecção, devido a alterações no crescimento da planta e no microclima; (2) efeitos diretos nas pragas ou patógenos devido às condições impostas pela menor concentração de hospedeiros, como as menores chances de encontrar plantas suscetíveis e a redução da sobrevivência e fecundidade; (3) efeitos indiretos nas pragas ou patógenos devido à maior quantidade de inimigos naturais ou antagonistas que possuem chances de sobreviver nos microhabitats disponíveis.

A diversificação de culturas nas propriedades rurais, além dos benefícios agrônômicos e econômicos, traz benefícios sociais, pois estende a estação de trabalho dos empregados rurais, sendo esse aspecto parte integrante da sustentabilidade. Entretanto, a indiscriminada diversificação da vegetação dentro de um agroecossistema pode não resultar na redução do risco de ocorrência de pragas e doenças. O efeito de combinações planejadas de plantas deve ser estudado criteriosamente antes da aplicação em programas de manejo.

## NOVAS TECNOLOGIAS E SUSTENTABILIDADE

O desenvolvimento tecnológico tem colaborado para a adoção de sistemas mais sustentáveis, pois muitas dessas tecnologias foram desenvolvidas considerando prioritária a sustentabilidade e a preservação do ambiente. O uso de feromônios sexuais sintéticos de insetos pragas vem permitindo uma considerável redução do uso de inseticidas e, conseqüentemente, menor impacto ambiental. O controle de *Carpocapsa* da macieira já é realizado exclusivamente com feromônios em diversas localidades dos USA e Europa. As tecnologias de agricultura de precisão permitem o emprego de pesticidas apenas nas reboleiras onde ocorre a doença, a praga ou a planta invasora e não em toda a área, reduzindo sensivelmente o uso de pesticidas. Tal tecnologia aumenta a eficiência, minimiza os impactos ambientais e aumenta a competitividade.

Também técnicas como o controle biológico e físico estão sendo desenvolvidas e muitas estão em uso como: termoterapia de órgãos de propagação e frutos; a energia solar para controle de fitopatógenos do solo (solarização); a radiação ultravioleta para o controle de patógenos em pós-colheita; o emprego em estufas de cortinas que filtram determinados comprimentos de onda com conseqüente controle de doenças e pragas; a imunização de plantas cítricas contra a tristeza dos citros e de plantas de abóbora contra o mosaico comum; o *Baculovirus anticarsia* para o controle da lagarta da soja; o controle da vespa da madeira com o nematóide *Delademus siricidicola*; o *Bacillus thuringiensis* para o controle de larvas de lepidópteros; o controle da broca da cana-de-açúcar com *Cotesia flavipes*; o controle de numerosas pragas com óleo e extrato de nim (*Azadirachta indica*); leite de vaca, cru e diluído, para o controle de oídios; o controle de patógenos veiculados pelo solo causadores do tombamento do fumo com *Trichoderma* e outros. Também as técnicas de manejo integrado e manejo ecológico de pragas e doenças conduzem a sensíveis reduções de uso de pesticidas, com vantagens econômicas e ambientais. Abreu Junior (1998) apresenta uma coletânea de receitas para proteção de plantas e animais, utilizando especialmente produtos naturais, que podem ser adotadas em sistemas alternativos. Uma análise da agricultura alternativa no estado de São Paulo e informações sobre técnicas adotadas são descritas por Costa & Campanhola (1997). Essas tecnologias conduzem a um maior equilíbrio do agroecossistema, mas para serem empregadas exigem um melhor nível tecnológico dos agricultores.

O uso de cultivares resistentes é fundamental para os sistemas agrícolas alternativos. Trata-se de um método barato e de fácil utilização para o controle de importantes doenças e pragas (Innes, 1995). Porém, os métodos de melhoramento aplicados para a obtenção de variedades resistentes

utilizadas nos sistemas convencionais nem sempre são os mais eficientes para os sistemas alternativos. Os agricultores orgânicos, por exemplo, são orientados no sentido de optar por espécies vegetais compatíveis com o ecossistema e utilizar sementes produzidas de forma diferenciada, para cada realidade ecológica. Mas, de modo geral, tem-se lançado mão de sementes disponíveis no mercado, melhoradas e produzidas de forma convencional (Costa & Campanhola, 1997).

O resgate de métodos de controle cultural é muito importante para a proteção de plantas em sistemas alternativos de cultivo. Entre as práticas estão a eliminação de plantas ou parte de plantas doentes, preparo e irrigação do solo de forma adequada, época e densidade de plantio, barreiras físicas (quebra-ventos), cultivo em ambiente protegido, enxertia e poda, entre outros. Nem sempre essas técnicas isoladamente são suficientes para a obtenção de um controle adequado, mas são fundamentais para o manejo integrado de pragas e doenças.

Outro aspecto importante é o equilíbrio nutricional das plantas. Normalmente, a adubação é baseada nas necessidades de NPK, não considerando os micronutrientes e outros elementos que podem ser benéficos para as plantas. Diversos trabalhos mostram os efeitos dos nutrientes sobre doenças de plantas, e conseqüentemente a redução da necessidade de controle com uma equilibrada nutrição de plantas. Esses efeitos são amplamente discutidos no livro “Soilborne plant pathogens: management of diseases with macro- and microelements” (Engelhard, 1989).

O uso de matéria orgânica, tanto por meio de incorporação ao solo, como após transformação para posterior uso, deve ser considerado como método alternativo de controle de doenças, pragas e plantas invasoras. Uma das transformações conhecidas é a digestão anaeróbica ou aeróbica, cujo produto é denominado biofertilizante, e pode ser usado em pulverizações foliares ou aplicações diretas ao solo (Bettiol *et al.* 1998). Uma das principais características do biofertilizante é a presença de microrganismos, responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, produção de gás e liberação de metabólitos, entre eles, antibióticos e hormônios. Assim, quanto mais ativa e diversificada a matéria-prima do biofertilizante, maior a possibilidade de liberação de diferentes substâncias orgânicas. Além disso, o biofertilizante atua devido ao considerável efeito nutricional para as plantas, face à presença de macro e micronutrientes. Dessa forma, a ação conjunta de diversos mecanismos é responsável pelo controle obtido.

O efeito de fontes de matéria orgânica na severidade de doenças de plantas depende do tipo de material utilizado, da relação C:N e do tempo decorrido da incorporação. De modo geral, solos supressivos apresentam maior atividade da microbiota do que solos conducentes. Assim, a adição regular de fontes adequadas de matéria orgânica pode induzir supressividade



por estimular a atividade de decompositores primários, principalmente bactérias, fungos e outros organismos como ácaros, nematóides e artrópodes, como Collembola, que podem ter importante função no controle de fitopatógenos (Lartey *et al.*, 1994). Os decompositores primários podem atuar como antagonistas de fitopatógenos por competição por nutrientes, antibiose e parasitismo, enquanto que a micro e mesofaunas podem contribuir para o controle por predação (van Bruggen, 1995). Um exemplo clássico de controle de doenças em sistema orgânico é a supressão de *Phytophthora cinnamomi* em abacate na Austrália (Malajczuk, 1983). Altos teores de matéria orgânica foram mantidos na camada superficial dos solos dos pomares. O principal mecanismo de ação foi o aumento da lise de hifas por bactérias e actinomicetos. A atividade predadora da microfauna, em particular de diversas amebas, também foi aumentada nos solos com alto teor de matéria orgânica. Os solos conducentes continham amebas similares, mas em menor densidade populacional.

O reconhecimento de que as propriedades físicas e químicas do solo afetam diretamente a proteção de plantas está tornando-se evidente com um aumento de publicações a respeito e com o uso desses conhecimentos no manejo integrado de culturas. Determinadas doenças de plantas podem ser controladas com adequado manejo do solo.

Quanto às plantas invasoras, Forcella & Burnside (1994) fizeram uma análise de como foi o controle desde o advento da agricultura até os dias de hoje, e tentam prever como será no futuro o uso dos métodos químicos, físicos, biológicos e culturais. Os métodos físicos (capina manual ou mecânica) predominaram sobre os demais métodos durante muito tempo. Nesse período, provavelmente, os métodos culturais e biológicos ocorreram por obra do acaso, e não intencionalmente. Com o desenvolvimento dos herbicidas, o controle químico rapidamente dominou os demais métodos de manejo. Conseqüentemente, todas as outras alternativas decresceram em importância, embora o controle físico ainda continue a ser hoje mais importante do que o cultural e o biológico. Esses autores esperam que, nos próximos 10 ou 20 anos, haja um decréscimo na importância do controle químico, devido principalmente a motivos sociais e ambientais. Os métodos físicos devem ressurgir devido a sua facilidade em substituir o controle químico. Assim, o manejo sustentável das plantas invasoras no futuro terá uma distribuição mais equilibrada ou integrada entre as categorias de controle. Os produtos químicos continuarão a constituir-se em uma alternativa rápida para a solução dos problemas, porém os novos produtos serão mais seguros e serão usados com mais critério, em um verdadeiro programa de manejo integrado. Os implementos mecânicos tradicionais ou novos serão de grande utilidade no futuro, mas seu uso estará acoplado ao conhecimento da ecologia das plantas invasoras. Os métodos culturais que serão mais explorados no futuro incluem: época e densidade de plantio,

seleção da variedade, escolha do método de cultivo, rotação de culturas e culturas de cobertura (usadas para impedir a proliferação de plantas daninhas entre os ciclos das culturas principais). Os métodos físicos incluem o cultivo mínimo, descargas elétricas e solarização; sendo que nos métodos biológicos estão incluídos insetos fitófagos e fitopatógenos.

## **OBTENÇÃO DE SISTEMAS ALTERNATIVOS**

A compreensão da natureza somente é possível num enfoque holístico, observando ciclos, trabalhando com sistemas e respeitando as inter-relações e proporções. Todos os fatores são interdependentes. Com o enfoque temático-analítico que vem predominando na agricultura, perdeu-se a visão geral do sistema e, assim, aumentaram os problemas relacionados com a proteção de plantas, devido a um manejo inadequado dos solos, da natureza e do próprio controle desses problemas.

O processo evolutivo para a conversão dos agroecossistemas em sistemas agrícolas de alto grau de sustentabilidade possui duas fases distintas: 1) melhora da eficiência do sistema convencional, com a substituição dos insumos e das práticas agrícolas; 2) redesenho dos sistemas agrícolas. A primeira fase vem sendo trabalhada de forma relativamente organizada, com a redução do uso de insumos, controle e manejo integrado, técnicas de cultivo mínimo do solo, previsão da ocorrência de pragas e doenças, controle biológico, variedades adequadas, feromônios, integração de culturas, cultivos em faixa ou intercalados, desenvolvimento de técnicas de aplicação que visem apenas o alvo e conscientização dos consumidores, entre outros. Em relação ao redesenho dos sistemas agrícolas há a necessidade de se conhecer a estrutura e o funcionamento dos diferentes sistemas, seus principais problemas e, conseqüentemente, desenvolver técnicas limpas para resolvê-los (Edwards, 1989). Devido à complexidade dessa tarefa, esforços vêm sendo realizados por diferentes correntes de pesquisa, mas todas consideram a mínima dependência externa de insumos, a biodiversidade, o aproveitamento dos ciclos de nutrientes, a exploração das atividades biológicas, o uso de técnicas não poluentes, o reaproveitamento de todos os subprodutos e a integração do homem no processo. Essa forma de agricultura vem sendo denominada agricultura alternativa, onde diferentes correntes se destacam: agricultura orgânica, agricultura ecológica, agricultura natural, agricultura biodinâmica, etc. Em relação à sustentabilidade, pode-se afirmar que tanto os sistemas encontrados na primeira fase, quanto na segunda, apresentam maior grau de sustentabilidade que o convencional, mas não a auto-sustentabilidade.

O cultivo de dendê no sul de Belém/PA é um exemplo da evolução observada na primeira fase do processo evolutivo. Como o *Elaeidobios* (bicho nanico), polinizador da cultura, é essencial para a produção, não poderia ser eliminado devido ao uso de pesticidas para o controle de desfolhadores e de doenças. Assim, é realizado um monitoramento constante sobre a ocorrência de doenças, pragas e seus inimigos naturais. O controle é realizado de forma biológica, isto é, nos focos são aplicados agentes de controle biológico ou é feito o monitoramento para verificar a presença de inimigos naturais no local. Quando se verifica a presença desses organismos, é aguardada a morte dos insetos, é feita a coleta e, após a trituração, o produto resultante é pulverizado sobre as plantas. Quando necessário, lança-se mão do *Bacillus thuringiensis*. A adubação nitrogenada é realizada pelo cultivo de uma leguminosa (puerária) que deposita no solo entre 300 e 400 kg de N por hectare por ano. Essa leguminosa, além do fornecimento do N, protege o solo e impede o desenvolvimento de outras invasoras. Outra praga, a broca do coqueiro, transmissora do anel vermelho, é controlada exclusivamente com o uso de feromônios. Assim, o sistema tem se mantido estável.

Os cultivos orgânicos estão expandindo rapidamente, tanto em países desenvolvidos, como em desenvolvimento, onde os produtos orgânicos freqüentemente são destinados ao mercado externo. Os novos produtores, de modo geral, ingressam no negócio a partir de informação de outros agricultores orgânicos. Esse fato ocorre porque a pesquisa, geralmente, encontra-se atrasada em relação às práticas agrícolas adotadas pelos produtores orgânicos, especialmente com relação à proteção de plantas. Há ainda muitas questões a serem respondidas sobre o desenvolvimento de doenças na agricultura orgânica. Muitas delas não podem ser resolvidas em curto espaço de tempo, em experimentos reducionistas, mas necessitam de um maior grau de integração. É necessária a estreita colaboração entre os vários especialistas, como da área de Biologia Molecular para o desenvolvimento de ferramentas para determinação da biodiversidade, ou da área de Epidemiologia para o desenvolvimento de estratégias para o estudo da distribuição espacial e temporal de patógenos em culturas e em ambientes semi naturais. A pesquisa em agricultura orgânica também requer a estreita colaboração entre agrônomos, ecologistas, especialistas em solos e proteção de plantas e economistas (van Bruggen, 2001).

Dos trabalhos de pesquisa realizados comparando a severidade de doenças de plantas em sistemas orgânicos e convencionais, de modo geral, as doenças radiculares são menos severas nos cultivos orgânicos, enquanto que as doenças foliares podem ser mais ou menos severas ou similares, dependendo da reação do patógeno, do estado nutricional da planta (principalmente o teor de nitrogênio) e condições climáticas. Geralmente, há maiores dificuldades de controle de doenças foliares do que das radiculares

por meio de métodos biológicos e culturais, especialmente em regiões de clima úmido (van Bruggen, 2001).

Uma abordagem sistêmica foi adotada por Gliessman *et al.* (1996), que conduziram estudos para verificar as limitações durante a conversão para o sistema orgânico de produção de morangos. Foi avaliada a eficiência dos métodos alternativos, alterações nas características do solo, ocorrência de pragas, doenças e populações benéficas (antagonistas e predadores), respostas da cultura, além de avaliação econômica. Trabalho com abordagem semelhante vem sendo desenvolvido na Universidade da Califórnia (Estados Unidos), para a cultura da maçã (Caprile, 1994). Em ambos os estudos, tem sido demonstrado que a agricultura orgânica conduz ao aumento da biodiversidade, melhora as características físicas, químicas e biológicas do solo e o retorno econômico ainda continua dependente do manejo de pragas e doenças.

O uso da informação, por meio de ferramentas como modelos matemáticos, é fundamental para a tomada de decisão em todos os tipos de sistemas. A reduzida capacidade de processar informações, no passado, restringiu a habilidade de redesenhar sistemas alternativos. Estudos epidemiológicos são fundamentais para uma maior compreensão da estrutura e do funcionamento dos sistemas de produção em relação ao comportamento das doenças e das pragas no campo e a otimização dos seus controles. Com o conhecimento da estrutura e do funcionamento dos sistemas de produção, pode-se entender melhor a saúde das plantas e não somente os fatores relacionados às pragas e doenças de cada cultura.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O desenvolvimento da proteção de plantas em sistemas alternativos de cultivo com maior grau de sustentabilidade necessita que se estude a estrutura e o funcionamento dos agroecossistemas, com atenção especial às condições nutricionais, à estrutura e à biota do solo, à biodiversidade funcional, à elevação dos teores de matéria orgânica do solo e outros fatores que permitam um adequado manejo dos sistemas de cultivo.

O conceito absoluto de agricultura sustentável pode ser impossível de ser obtido na prática, entretanto é função da pesquisa e da extensão oferecer opções para que sistemas mais sustentáveis sejam adotados. Para tanto, os projetos de pesquisa pontuais e de curta duração são de pouca utilidade. As discussões demonstram a necessidade da interdisciplinaridade dos projetos de pesquisa, pois somente estudos que incluem o monitoramento de sistemas de produção nas diversas áreas do conhecimento fornecerão informações suficientes para o entendimento das diferentes interações.

## BIBLIOGRAFIA

- Abreu Junior, H. Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura. Campinas: EMOPI, 1998. 111p.
- Atkinson, D.; McKinlay, R.G. Crop protection in sustainable farming systems. In: McKinlay, R.G.; Atkinson, D. Integrated crop protection: towards sustainability. Farnham: British Crop Protection Council, 1995. p.483-488. (BCPC Symposium Proceedings, 63).
- Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds.) Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3<sup>a</sup> ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, 919p.
- Bettiol, W.; Tratch, R.; Galvão, J.A.H. Controle de doenças de plantas com biofertilizantes. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998. 22p. (EMBRAPA-CNPMA. Circular Técnica, 2).
- Bird, G.W.; Edens, T.; Drummond, F.; Groden, E.; Design of pest management systems for sustainable agriculture. In: Francis, C.A.; Flora, C.B.; King, L.D. (Eds.) Sustainable agriculture in temperate zones. New York: John Wiley & Sons, 1990. p.55-110.
- Caprile, J. Regional experiences in organic apple production differ. California Agriculture 48: 20, 1994.
- Chaboussou, F. Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos (a teoria da trofobiose). Porto Alegre: L&PM, 1987. 256p.
- Colégio Oficial de Ingenieros Agronomos de Centro y Canarias. Manual de prácticas y actuaciones agroambientales. Madrid: Editorial Agricola Española/Ediciones Mundi-Prensa, 1996. 310p.
- Costa, M.B.B.; Campanhola, C. A agricultura alternativa no estado de São Paulo. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1997. 63p. (EMBRAPA-CNPMA. Documentos, 7).
- Edwards, C.A. The importance of integration in sustainable agricultural systems. Agriculture, Ecosystems and Environment 27: 25-35, 1989.
- Engelhard, A.W. Soilborne plant pathogens: management of diseases with macro- and microelements. St. Paul: APS, 1989. 217p.
- Forcella, F.; Burnside, O.C. Pest management-weeds. In: Hatfield, J.L.; Karlen, D.L. (Eds.) Sustainable agriculture systems. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. p.157-197.
- Ghini, R.; Kimati, H. Resistência de fungos a fungicidas. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 78p.

- Gliessman, S.R.; Werner, M.R.; Swezey, S.L.; Caswell, E.; Cochran, J.; Rosado-May, F. Conversion to organic strawberry management changes ecological processes. *California Agriculture* 50: 24-31, 1996.
- Gravena, S.; Benvenga, S.; Abreu JR., H.; Groppo, G. A.; Zander, R.; Klein-Gunnwiek, R. Manejo ecológico de pragas e doenças do tomate envarado. In: International Conference on Sustainable Agriculture in Tropical and Subtropical Highlands with Special Reference to Latin America, 1998, Rio de Janeiro - RJ. Abstracts. [s.l.:s.n], 1998.
- Innes, N.L. A plant breeding contribution to sustainable agriculture. *Annals of Applied Biology* 126: 1-18, 1995.
- Lartey, R.T.; Curl, E.A.; Peterson, C.M. Interactions of mycophagous Collembola and biological control fungi in the suppression of *Rhizoctonia solani*. *Soil Biology and Biochemistry* 26: 81-88, 1994.
- Liebman, M. Sistemas de policulturas. In: Altieri, M.A. (Ed.) *Agroecologia: as bases científicas da agricultura alternativa*. Rio de Janeiro: PTA/FASE, 1989. 240 p.
- Malajczuk, N. Microbial antagonism to *Phytophthora*. In: Erwin, D.C.; Bartnicki-Garcia, S.; Tsao, P.H. (Eds.) *Phytophthora – its biology, taxonomy, ecology, and pathology*. St. Paul: APS Press, 1983. p.197-218.
- National Research Council. *Alternative agriculture*. Washington: National Academy Press, 1989. 448p.
- Trenbath, B.R. Intercropping for the management of pests and diseases. *Field Crops Research* 34: 381-405, 1993.
- van Bruggen, A.H.C. Plant disease severity in high-input compared to reduced-input and organic farming systems. *Plant Disease* 79: 976-984, 1995.
- van Bruggen, A.H.C. Switching over to organic farming systems: consequences for plant pathological research. *Summa Phytopathologica* 27: 145, 2001.

# MANEJO SUSTENTÁVEL DE DOENÇAS RADICULARES EM SOLOS TROPICAIS

SAMI JORGE MICHEREFF  
LUIZ AUGUSTO MARTINS PERUCH  
DOMINGOS EDUARDO GUIMARÃES TAVARES DE ANDRADE

## INTRODUÇÃO

A agricultura sustentável se baseia em quatro alicerces fundamentais: *sustentabilidade* (habilidade para manter o sistema em existência por um longo período de tempo quando submetido a estresse), *estabilidade* (obtenção consistente de rendimento a curto ou longo prazo), *produtividade* (capacidade de produção por área) e *equidade* (distribuição relativa de riqueza na sociedade). Dentre outros aspectos, a sustentabilidade agrícola implica, necessariamente, na resolução dos problemas relacionados à ocorrência de doenças de plantas, com base na conservação dos recursos naturais, aumento da diversidade biológica, redução no uso de pesticidas e maximização da produtividade (Thurston, 1992).

As doenças radiculares provocam perdas através de tombamentos de plântulas, podridões do colo e raízes, murchas vasculares e galhas, estando entre os principais fatores que reduzem drasticamente a produtividade de culturas de interesse alimentar no mundo (Hillocks & Waller, 1997b). Mesmo assim, as doenças radiculares têm recebido menos atenção que doenças foliares. Isto se deve, principalmente, ao fato dos sintomas serem confinados às raízes, refletindo na dificuldade de observação dos mesmos ao nível do solo e à complexidade dos fatores envolvidos na interação hospedeiro-patógeno-ambiente (Figura 2.1).

Os fitopatógenos habitantes do solo podem ser definidos como organismos que passam a maior parte de seu ciclo de vida no solo. Tipicamente, infectam raízes ou caules, e seus estádios de disseminação e sobrevivência são confinados ao solo, embora alguns fitopatógenos possam também produzir esporos disseminados pelo ar ou água, o que resulta na disseminação em grandes áreas (Hillocks & Waller, 1997b).

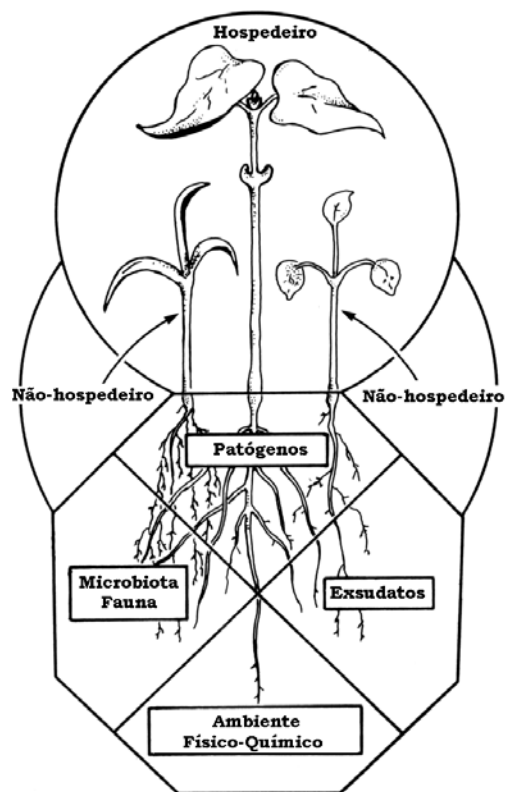


Figura 2.1 – Interação dos componentes que afetam o crescimento e a sanidade de plantas envolvendo patógenos radiculares [adaptado de Curl (1982)].

Nesse capítulo, serão considerados fitopatógenos habitantes do solo ou patógenos radiculares, somente aqueles organismos que têm capacidade para sobreviver no solo por um longo período na ausência de seu hospedeiro e infectam órgãos subterrâneos das plantas. Essa abordagem exclui fungos e bactérias que não apresentam estruturas de resistência ou reduzida habilidade de competição saprofítica. Para estes, as sementes ou os resíduos de culturas constituem a fonte de inóculo inicial, mas os sintomas aparecem principalmente nos órgãos aéreos da planta.

A compreensão das relações entre patógeno, hospedeiro e ambiente não é tarefa simples, pois as interações entre estes vértices do triângulo de doenças radiculares se desenvolvem num sistema de grande complexidade: o solo. Características abióticas e bióticas atuam de modo direto e indireto com diferentes intensidades e de maneira imprevisível sobre o desenvolvimento de doenças. A biologia de patógenos radiculares é complexa. Somam-se a



esta complexidade as limitações operacionais decorrentes da opacidade do solo, o que dificulta a realização de observações detalhadas e acuradas. Outro fator complicador é a presença de uma população estabelecida de microrganismos com sua própria biologia no solo, sem uma conexão com a planta hospedeira (Maffia & Mizubuti, 2001).

Em ambientes tropicais, os problemas com patógenos radiculares parecem ser ainda mais sérios, uma vez que as condições climáticas sofrem menores flutuações e são favoráveis ao crescimento de plantas durante todo o ano. Este fato, além de ter um efeito positivo direto sobre a população do patógeno, indiretamente permite a presença constante de plantas hospedeiras. Por outro lado, em regiões temperadas, as populações dos fitopatógenos são reduzidas significativamente devido as temperatura baixas do solo durante o inverno e ausência de hospedeiros. Outra característica de boa parte dos solos tropicais é o maior grau de intemperização. Geralmente, estes solos apresentam baixo teor de matéria orgânica e menor diversidade biológica. Dessa forma, uma vez introduzidos, os patógenos se estabelecem com facilidade, pois encontram menor competição e poucos inimigos naturais (Lima *et al.*, 2001).

Na agricultura de pequena escala ou de subsistência, em que os agricultores normalmente produzem e selecionam suas sementes durante várias gerações na propriedade, as plantas conseguem atingir bons níveis de produtividade sob condições sub-ótimas de desenvolvimento. Com exceção de algumas infecções de sementes, normalmente, as doenças não constituem um fator importante em sistemas de produção com baixa utilização de insumos até que cultivares e métodos “melhorados” sejam adotados. Quando as culturas são desenvolvidas nos trópicos sob sistemas de manejo intensivo, as doenças são problemas mais sérios que em zonas temperadas (Thurston, 1998).

As doenças radiculares com maiores informações de pesquisa são geralmente aquelas afetando importantes culturas exportadas para centros desenvolvidos. Com a crescente necessidade de aumento da produção de alimentos nos países em desenvolvimento, torna-se imprescindível a alocação de recursos para as investigações sobre o papel dos patógenos radiculares na redução do rendimento de culturas em sistemas de produção tropical (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 – Principais doenças radiculares em culturas nos trópicos.

Cultura	Doença	Patógeno	
Abacate	Tombamento de pântulas	<i>Rhizoctonia solani</i>	
	Gomose	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	
	Podridão radicular	<i>Rosellinia necatrix</i>	
	Murcha de verticílio	<i>Verticillium albo-atrum</i> <i>Verticillium dahliae</i>	
Abacaxi	Podridão negra	<i>Thielaviopsis paradoxa</i>	
	Podridão radicular	<i>P. cinnamomi</i> <i>Phytophthora parasitica</i> <i>Pythium</i> spp.	
Alface	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i> <i>Pythium</i> spp.	
	Mofo branco	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> <i>Sclerotinia minor</i>	
	Queima da saia	<i>R. solani</i>	
	Podridão mole	<i>Erwinia carotovora</i>	
Algodão	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i> <i>Pythium</i> spp. <i>Sclerotium rolfsii</i>	
	Podridão negra	<i>Thielaviopsis basicola</i>	
	Murcha de fusário	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	
	Murcha de verticílio	<i>V. dahliae</i> <i>V. albo-atrum</i>	
	Podridão cinzenta do caule	<i>Macrophomina phaseolina</i>	
	Meloidoginose	<i>Meloidogyne</i> spp.	
Alho e cebola	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i> <i>Pythium</i> spp. <i>Phytophthora</i> spp.	
	Raiz rosada	<i>Pyrenochaeta terrestris</i>	
	Podridão basal	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	
	Podridão seca	<i>Fusarium solani</i>	
	Podridão branca	<i>Sclerotium cepivorum</i>	
	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i> <i>Pythium</i> spp. <i>Phytophthora</i> spp.	
	Podridão mole	<i>E. carotovora</i>	
	Nematóide do bulbo	<i>Ditylenchus dipsaci</i>	
	Amendoim	Podridão do colo	<i>Aspergillus niger</i>
		Murcha de esclerócio	<i>S. rolfsii</i>
Rizoctoniose		<i>R. solani</i>	
Podridão negra		<i>Cylindrocladium crotalariae</i>	
Arroz	Podridão do caule	<i>S. rolfsii</i>	
	Rizoctoniose	<i>R. solani</i>	
	Podridão radicular	<i>Pythium</i> spp.	
Banana	Moko	<i>Ralstonia solanacearum</i>	
	Mal do Panamá	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i>	
	Nematóide cavernícola	<i>Radhopholus similis</i>	

Tabela 2.1 – Continuação ...

<b>Cultura</b>	<b>Doença</b>	<b>Patógeno</b>	
Batata	Murcha de verticílio	<i>V. dahliae</i> <i>V. albo-atrum</i>	
	Podridão seca	<i>Fusarium</i> spp.	
	Rizoctoniose	<i>R. solani</i>	
	Podridão cinzenta do caule	<i>M. phaseolina</i>	
	Podridão de tubérculos	<i>Rhizopus oryzae</i>	
	Murcha bacteriana	<i>R. solanacearum</i>	
	Sarna comum	<i>Streptomyces scabies</i>	
	Podridão mole e canela preta	<i>E. carotovora</i> <i>Erwinia chrysanthemi</i>	
	Meloidoginose	<i>Meloidogyne</i> spp.	
	Nematóide das lesões radiculares	<i>Pratylenchus</i> spp.	
Batata-doce	Murcha de fusário	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>batatas</i>	
	Podridão do colo	<i>S. rolfsii</i>	
	Podridão do pé	<i>Plenodomus destruens</i>	
	Podridão do caule	<i>M. phaseolina</i>	
	Podridão radicular	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	
	Podridão de tubérculos	<i>Rhizopus stolonifer</i>	
Berinjela e jiló	Murcha de verticílio	<i>V. dahliae</i> <i>V. albo-atrum</i>	
	Podridão branca	<i>S. sclerotiorum</i>	
	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i> <i>Pythium</i> spp. <i>Phytophthora</i> spp.	
	Murcha bacteriana	<i>R. solanacearum</i>	
	Podridão mole	<i>E. carotovora</i>	
	Meloidoginose	<i>Meloidogyne</i> spp.	
	Beterraba	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i> <i>Pythium</i> spp. <i>Phytophthora</i> spp. <i>Phoma betae</i>
Podridão branca		<i>S. rolfsii</i>	
Rizoctoniose		<i>R. solani</i>	
Podridão parda		<i>Phytophthora</i> spp.	
Podridão negra		<i>Rosellinia</i> spp.	
Cacau	Podridão vermelha	<i>Ganoderma philippii</i>	
	Podridão branca	<i>Fomes lignosus</i>	
	Cancro de Lasiodiplodia	<i>L. theobromae</i>	
	Murcha de verticílio	<i>V. dahliae</i> <i>V. albo-atrum</i>	
	Café	Podridão radicular	<i>Rosellinia</i> spp.
		Podridão do caule	<i>F. solani</i>
Rizoctoniose		<i>R. solani</i>	
Meloidoginose		<i>Meloidogyne</i> spp.	
Caju	Podridão de esclerócio	<i>S. rolfsii</i>	
Cana-de-açúcar	Podridão abacaxi	<i>T. paradoxa</i>	
	Podridão radicular	<i>Pythium</i> spp.	
	Podridão de esclerócio	<i>S. rolfsii</i>	
	Meloidoginose	<i>Meloidogyne</i> spp.	
	Nematóide das lesões radiculares	<i>Pratylenchus</i> spp.	

Tabela 2.1 – Continuação ...

<b>Cultura</b>	<b>Doença</b>	<b>Patógeno</b>
Caupi	Murcha de fusário	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>tracheiphilum</i>
	Podridão cinzenta do caule	<i>M. phaseolina</i>
	Podridão do colo	<i>S. rolfsii</i>
	Podridão do caule	<i>Phytophthora vignae</i>
Cenoura	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i>
		<i>Pythium</i> spp.
		<i>Phytophthora</i> spp.
	Podridão mole	<i>E. carotovora</i>
Citros	Nematóide das galhas	<i>Meloidogyne</i> spp.
	Podridão do pé	<i>Phytophthora</i> spp.
Couve comum, couve-chinesa, couve-flor e repolho	Podridão de fusário	<i>F. solani</i>
	Podridão branca	<i>S. sclerotiorum</i>
	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i>
Ervilha	Podridão do colo	<i>S. rolfsii</i>
	Podridão mole	<i>E. carotovora</i>
	Podridão branca	<i>S. sclerotiorum</i>
	Podridão do colo	<i>R. solani</i>
Feijão	Podridão radicular	<i>F. solani</i> f.sp. <i>pisi</i>
		<i>Cylindrocladium clavatum</i>
		<i>P. parasitica</i>
		<i>R. solani</i>
	Murcha de fusário	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i>
	Meloidoginose	<i>Meloidogyne</i> spp.
Fumo	Murcha de fusário	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i>
	Podridão radicular seca	<i>F. solani</i> f.sp. <i>phaseoli</i>
	Podridão cinzenta do caule	<i>M. phaseolina</i>
	Podridão branca	<i>S. sclerotiorum</i>
	Murcha de esclerócio	<i>S. rolfsii</i>
	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i>
		<i>Pythium</i> spp.
Inhame	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i>
		<i>Pythium</i> spp.
		<i>S. rolfsii</i>
		<i>S. sclerotiorum</i>
	Caule preto	<i>P. parasitica</i>
	Murcha de fusário	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>nicotianae</i>
Inhame	Podridão de esclerotinia	<i>S. sclerotiorum</i>
	Murcha bacteriana	<i>R. solanacearum</i>
	Meloidoginose	<i>Meloidogyne</i> spp.
	Podridão de tubérculos	<i>A. niger</i>
		<i>Rhizopus</i> spp.
		<i>L. theobromae</i>
Inhame		<i>F. oxysporum</i>
		<i>F. solani</i>
	Podridão do colo	<i>S. rolfsii</i>
	Casca preta	<i>Scutelonema bradys</i>
	Meloidoginose	<i>Pratylenchus</i> spp.
	<i>Meloidogyne</i> spp.	

Tabela 2.1 – Continuação ...

<b>Cultura</b>	<b>Doença</b>	<b>Patógeno</b>
Mamão	Podridão do pé Podridão seca	<i>Phytophthora palmivora</i> <i>F. solani</i>
Mandioca	Podridão radicular seca Podridão radicular mole Podridão de ramas Podridão do colo Podridão negra Podridão branca	<i>F. solani</i> <i>Phytophthora drechsleri</i> <i>L. theobromae</i> <i>S. rolfsii</i> <i>Rosellinia</i> spp. <i>F. lignosus</i>
Manga	Podridão seca	<i>L. theobromae</i>
Maracujá	Murcha de fusário Podridão do pé Podridão radicular Meloidoginose	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>passiflorae</i> <i>P. cinnamomi</i> <i>F. solani</i> <i>Meloidogyne</i> spp.
Melão, melancia, pepino, chuchu e abóbora	Murcha de fusário do pepino Murcha de fusário do melão Murcha de fusário da melancia Murcha de fusário do pepino Crestamento gomoso Podridão do caule Podridão do colo Podridão seca	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i> <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>melonis</i> <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>niveum</i> <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i> <i>Didymella bryoniae</i> <i>S. sclerotiorum</i> <i>M. phaseolina</i> <i>F. solani</i> f.sp. <i>cucurbitae</i>
Milho	Podridão de fusário  Podridão de diplódia Podridão do colmo Queima de plântulas	<i>F. moniliforme</i> <i>Fusarium graminearum</i> <i>Diplodia maydis</i> <i>M. phaseolina</i> <i>Pythium</i> spp. <i>R. solani</i> <i>F. moniliforme</i>
Pimentão	Requeima ou murcha Podridão de esclerócio Podridão de esclerotinia Murcha bacteriana Talo oco e podridão mole	<i>Phytophthora capsici</i> <i>S. rolfsii</i> <i>S. sclerotiorum</i> <i>R. solanacearum</i> <i>E. carotovora</i> <i>E. chrysanthemi</i>
Seringueira	Cancro do tronco Podridão radicular	<i>Phytophthora</i> spp. <i>Phellinus noxius</i> <i>F. lignosus</i>
Soja	Tombamento de plântulas  Murcha de fusário Murcha de esclerócio Podridão cinzenta do caule Podridão radicular vermelha Podridão branca Podridão radicular seca Podridão radicular mole Cancro da haste Meloidoginose Nematóide de cisto	<i>R. solani</i> <i>Pythium</i> spp. <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>glycines</i> <i>S. rolfsii</i> <i>M. phaseolina</i> <i>F. solani</i> <i>S. sclerotiorum</i> <i>F. solani</i> f.sp. <i>sojae</i> <i>Phytophthora megasperma</i> f.sp. <i>glycinea</i> <i>Diaporthe phaseolorum</i> f.sp. <i>meridionalis</i> <i>Meloidogyne</i> spp. <i>Heterodera glycines</i>

Tabela 2.1 – Continuação ...

Cultura	Doença	Patógeno
Sorgo	Podridão do colmo	<i>M. phaseolina</i>
Tomate	Murcha de fusário	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>
	Murcha de verticílio	<i>V. dahliae</i>
		<i>V. albo-atrum</i>
	Requeima	<i>P. parasitica</i>
	Podridão de esclerócio	<i>S. rolfsii</i>
	Podridão de esclerotinia	<i>S. sclerotiorum</i>
	Tombamento de plântulas	<i>R. solani</i>
	Murcha bacteriana	<i>R. solanacearum</i>
	Talo oco e podridão mole	<i>E. carotovora</i>
		<i>E. chrysanthemi</i>
	Meloidoginose	<i>Meloidogyne</i> spp.
	Nematóide das lesões radiculares	<i>Pratylenchus</i> spp.
	Uva	Declínio
Fusariose		<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>herbemontis</i>
Podridão radicular		<i>Phytophthora</i> spp.
Galha na coroa		<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Meloidoginose		<i>Meloidogyne</i> spp.
Nematóide das lesões radiculares		<i>Pratylenchus</i> spp.

Fonte: Hillocks & Waller (1997a), Kimati *et al.* (1997), Vale & Zambolim (1997) e Zambolim *et al.* (2000).

## INÓCULO DE PATÓGENOS RADICULARES

### Conceitos de inóculo

Inóculo é qualquer estrutura do patógeno capaz de causar infecção, incluindo estruturas vegetativas e reprodutivas (Amorim, 1995). Alguns conceitos envolvendo inóculo de patógenos radiculares, incluindo fungistase do solo, potencial de inóculo, densidade de inóculo e eficiência de inóculo, necessitam ser caracterizados antes de uma análise das estratégias de manejo de doenças radiculares.

### Fungistase do solo

O entendimento do conceito de fungistase do solo é crítico para a compreensão da sobrevivência e ecologia de fitopatógenos habitantes do solo e da epidemiologia de doenças radiculares (Benson, 1994). Fungistase refere-se às propriedades de natureza biótica e/ou abiótica de solos naturais que inibem a germinação de propágulos germináveis dentro ou em contato com o solo (Bruehl, 1987). Falha para germinar dentro ou sobre o solo na ausência de açúcares, aminoácidos ou outros estimulantes liberados pelo

hospedeiro potencial (sementes, raízes, etc.), é um atributo essencial de propágulos de muitos fungos habitantes do solo. Sob condições desfavoráveis, os fungos apresentam maneiras para restringir a germinação de propágulos, tendo em vista que são heterotróficos (dependentes de nutrientes produzidos por outros organismos) e a germinação na ausência de alimento potencial poderia levar à morte. Em combinação com substâncias inibitórias, a fungistase propicia um mecanismo biológico que assegura o sucesso da infecção de propágulos de patógenos habitantes do solo.

A fungistase é causada por um complexo de inibidores e estimulantes no solo, motivo pelo qual a investigação desses fatores separadamente leva a falhas para caracterizar adequadamente o fenômeno. Mudanças na concentração de inibidores ou estimulantes afetam o balanço fungistático no solo e resultam na indução, manutenção ou liberação da fungistase (Watson & Ford, 1972).

### **Potencial de inóculo**

Procurando contemplar várias abordagens envolvendo patógenos radiculares, Lockwood (1988) conceituou potencial de inóculo como: “a energia de crescimento do organismo patogênico que está disponível para a infecção na superfície do órgão do hospedeiro, resultante de quatro componentes: (1) densidade de inóculo ou número de propágulos; (2) energia exógena e endógena dos propágulos por unidade; (3) virulência dos propágulos; (4) fatores ambientais, bióticos e abióticos, determinantes da atividade do inóculo”.

Para efeito de análise quantitativa, Baker (1978) expressou potencial de inóculo em termos matemáticos como:  $\log s = m (\log x + \log v + \log n + \log f)$ , onde  $s$  é o número de infecções com sucesso,  $m$  é a inclinação da curva densidade de inóculo x infecção,  $x$  é a densidade de inóculo,  $v$  é a virulência do patógeno,  $n$  é o estado nutricional do propágulo e  $f$  é o efeito das influências ambientais na eficiência da germinação e penetração. Críticas a essa proposição foram efetuadas por Benson (1994), ao considerar que existem várias limitações nos estudos envolvendo patógenos radiculares. Mensurações absolutas do grau de virulência, estado nutricional e influências ambientais na germinação e penetração são difíceis, se não impossíveis, de serem determinadas. Embora o conceito de potencial de inóculo seja questionado devido à impossibilidade de quantificar a energia no sistema, pode incorporar ou integrar aspectos do inóculo ainda pouco entendidos, enquanto conceitos baseados em termos quantificáveis sejam escassos ou indisponíveis (Hornby, 1998).

## Densidade de inóculo

Densidade de inóculo é a medida do número de propágulos por unidade de peso ou volume de solo. O termo é conveniente para expressar a quantidade de inóculo no solo, pois as chances de infecção de plantas por patógenos radiculares relacionam-se à quantidade de inóculo disponível. Essa relação é muito importante para patógenos radiculares devido à baixa capacidade de redistribuição.

Patógenos radiculares existem no solo em estádios múltiplos e desconhecidos, motivo pelo qual a densidade de inóculo pode ser expressa como unidades formadoras de colônias (ufc) por grama de solo ao invés de propágulos por grama (Benson, 1994). A densidade de inóculo constitui uma maneira prática de verificar mudanças no número de propágulos em um período de tempo. Como existem excelentes publicações sobre métodos de detecção e quantificação do inóculo de patógenos radiculares (Davet & Rouxel, 2000; Dhingra & Sinclair, 1995; Johnson & Curl, 1972; Singleton *et al.*, 1992), esse aspecto não será abordado com detalhes. Exemplos de altas densidades de inóculo de fungos fitopatogênicos detectados no solo são apresentados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Exemplos de densidades máximas de inóculo de fungos fitopatogênicos detectados no solo, em condições de campo.

Patógeno	Hospedeiro	Propágulos/g de solo
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i>	banana	760
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>melonis</i>	melão	3.300
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>niveum</i>	melancia	3.388
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>tracheiphilum</i>	caupi	361
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	algodão	5000
<i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>phaseoli</i>	feijão	1.420
<i>Thielaviopsis basicola</i>	fumo	577
<i>Verticillium dahliae</i>	batata	106
<i>Macrophomina phaseolina</i>	soja	1.000
<i>Rhizoctonia solani</i>	soja	8,5
<i>Sclerotium cepivorum</i>	alho	12,8
<i>Sclerotium rolfsii</i>	amendoim	7,8
<i>Sclerotinia minor</i>	alface	2
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	girassol	1,7
<i>Phytophthora parasitica</i>	citrus	11.320
<i>Phytophthora parasitica</i> var. <i>nicotianae</i>	fumo	1.000
<i>Phytophthora palmivora</i>	mamão	5.000

Fonte: Davis & Everson (1986), Hall (1996), Harris & Ferris (1991), Holley & Nelson (1986), McFadden *et al.* (1989), Meyer & Shew (1991), Mihail (1989), Neher *et al.* (1993), Paplomatas *et al.* (1992) e Subbarao *et al.* (1996).



## **Eficiência do inóculo**

A eficiência do inóculo é uma medida do sucesso do propágulo para incitar uma infecção. Em termos de população de propágulos, eficiência do inóculo é a porcentagem de propágulos que tem êxito em iniciar uma infecção. Tendo como base um propágulo individual, eficiência do inóculo é a probabilidade que um único propágulo teria para causar uma infecção. A forma do inóculo, seu estado nutricional, a distância do sítio de infecção e as condições ambientais afetam a eficiência do inóculo. Com o passar do tempo, a eficiência do inóculo de propágulos sujeitos à fungistase do solo pode ser aumentada, diminuída ou inalterada, dependendo das flutuações ambientais e dos níveis de nutrientes no solo. Contudo, essas mudanças na eficiência do inóculo não se manifestam até o hospedeiro estar presente (Benson, 1994).

Como exemplo, Bowers & Mitchell (1991) analisaram a relação entre densidade de oosporos de *Phytophthora capsici* e a mortalidade em pimentão. A eficiência do inóculo dos oosporos foi estimada através dos dados de porcentagem de mortalidade após transformação para infecção múltipla e calculo por regressão ( $y = a + b.x$ ) do número estimado de infecções, como  $\ln[1/(1 - y)]$ , onde  $y$  é incidência de doença, em relação ao número de oosporos por grama de solo. Assim, a eficiência do inóculo foi estimada pela inclinação da linha de regressão ( $b$ ) do número estimado de êxitos nas infecções por planta em relação ao número de oosporos por grama de solo. Para *P. capsici*, a eficiência de inóculo foi de 0,011, ou seja, eram necessários cerca de 91 oosporos por grama de solo para que ocorresse êxito na infecção. No patossistema *P. capsici*-pimentão, os oosporos germinam indiretamente para formar esporângios que liberam zoosporos que infectam os tecidos de planta. A baixa eficiência do inóculo para oosporos era esperada, pois os oosporos não infectam o hospedeiro diretamente, mas através de um processo indireto de múltiplas fases.

## **Formas de inóculo**

Patógenos radiculares existem no solo em formas específicas relacionadas às características de desenvolvimento de cada patógeno. O inóculo pode ser constituído de células unicelulares com poucos micrômetros de tamanho, para bactérias habitantes do solo, variando até estruturas multicelulares de aproximadamente 10 mm, para fungos formadores de esclerócio. O entendimento da natureza e forma do inóculo que sobrevive no solo e sua habilidade para iniciar infecções primárias são indispensáveis para o desenvolvimento de estratégias de manejo de doenças radiculares. Fungos podem existir no solo sob a forma de esporangiosporos, oosporos, clamidiosporos, esporângios, zoosporos, conídios, esclerócios,

microesclerócios ou micélios associados com restos culturais. Em relação às bactérias, as células unicelulares e aglomeradas de células associados com restos de plantas são os principais meios de sobrevivência no solo.

As estruturas de resistência constituem os propágulos básicos para infecção dos hospedeiros por muitos patógenos do sistema radicular. O conhecimento do tipo de estrutura determina a forma de sobrevivência do patógeno, a técnica mais apropriada para efetuar a amostragem e a quantificação do inóculo, bem como as medidas a serem adotadas visando o controle. Na Tabela 2.3 são apresentados exemplos de formas de inóculo e as estruturas e/ou processos responsáveis pela sobrevivência de patógenos radiculares em solos tropicais.

Tabela 2.3 – Tipos de inóculo produzidos por patógenos radiculares e estruturas de resistência no solo.

Patógeno	Tipo de inóculo	Estrutura e/ou mecanismo de resistência
<b>Fungos</b>		
<i>Phytophthora</i>	micélio, esporângio, zoosporo, clamidosporo, oosporo	clamidosporo, oosporo
<i>Fusarium oxysporum</i>	micélio, microconídio, macroconídio, clamidosporo	clamidosporo
<i>Fusarium solani</i>	micélio, microconídio, macroconídio, clamidosporo, esclerócio	clamidosporo, esclerócio
<i>Macrophomina</i>	micélio, picnídio, conídio, microesclerócio	picnídio, microesclerócio
<i>Lasioidiplodia</i>	micélio, picnídio, conídio, esclerócio	picnídio, esclerócio
<i>Pyrenochaeta</i>	micélio, picnídio, conídio, microesclerócio	picnídio, microesclerócio
<i>Rhizoctonia</i>	micélio, esclerócio	esclerócio
<i>Sclerotium</i>	micélio, esclerócio	esclerócio
<b>Bactérias</b>		
<i>Agrobacterium</i>	célula	hipobiose (célula)
<i>Streptomyces</i>	célula, esporo de resistência (endosporo)	endosporo
<i>Erwinia</i>	célula	hipobiose (célula)
<i>Ralstonia</i>	célula	hipobiose (célula)
<i>Xanthomonas</i>	célula	hipobiose (célula)
<b>Nematóides</b>		
<i>Ditylenchus dipsaci</i>	juvenis, adultos, juvenis de 3º. e 4º. estágio	anidrobiose (juvenis de 3º. e 4º. estágio)
<i>Globodera</i>	juvenis, adultos, ovos, cistos	cistos
<i>Heterodera</i>	juvenis, adultos, ovos em massa	criptobiose (ovos em massa)
<i>Meloidogyne</i>	juvenis, adultos, ovos em massa	criptobiose (ovos em massa)

Fonte: Bruehl (1987) e Singleton *et al.* (1992).

O aumento da população de um agente patogênico está intimamente relacionado à sua capacidade de reprodução, à forma e natureza dos propágulos e ao modo como estas unidades infecciosas são dispersas. Para

alguns microrganismos patogênicos, a reprodução ocorre uma única vez durante o período em que o seu hospedeiro está na área, enquanto para outros se reproduzem múltiplas vezes ao longo desse período cultural. Se a reprodução ocorre uma única vez, cada propágulo participa somente em um único ciclo de patogênese ao longo do período em que o hospedeiro se desenvolve. Cada ciclo é equivalente a uma geração do agente patogênico que compreende a disseminação dos propágulos, sua deposição e germinação na superfície do hospedeiro, penetração e estabelecimento do agente patogênico nos tecidos e, finalmente, a produção de novos propágulos (Ferraz, 1990).

Muitos fitopatógenos habitantes do solo causam doenças radiculares que são monocíclicas, ou seja, concluem parcial ou completamente no máximo um ciclo de patogênese por período de cultivo da planta hospedeira, desenvolvendo infecções resultantes de inóculo primário. Outros patógenos, como *Aphanomyces* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*, podem induzir doenças policíclicas, ou seja, o inóculo secundário produzido durante o desenvolvimento da doença resulta em infecções adicionais ou novas infecções em outro hospedeiro (Benson, 1994).

### **Inóculo primário**

A forma de inóculo existente no solo que inicia a infecção de tecidos do hospedeiro direta ou indiretamente é chamada inóculo primário. A formação do inóculo primário pode acontecer em tecidos do hospedeiro durante a patogênese ou como resultado de colonização saprofítica de tecidos mortos do hospedeiro. Microesclerócios de *V. dahliae* são um exemplo de inóculo primário formado saprofiticamente em tecidos do hospedeiro após a patogênese. Em outros casos, o inóculo primário pode ser formado como resultado da conversão de propágulos no solo. Macroconídios de *F. solani*, formados em esporodóquios sobre os tecidos do hospedeiro, são convertidos a clamidosporos quando introduzidos no solo. O inóculo primário está sujeito a várias adversidades durante a fase de sobrevivência. Os fatores ambientais podem influenciar o estado nutricional do inóculo primário durante a sobrevivência e, conseqüentemente, afetar o potencial e a eficiência do inóculo (Benson, 1994).

Esclerócios e microesclerócios são dois outros exemplos de inóculo primário que persistem por longos períodos no solo. Esclerócios de *Sclerotium* spp. e *Sclerotinia* spp. desenvolvem-se de hifas na superfície externa de tecidos de plantas infectados. Determinado cultivo pode introduzir esclerócios no solo e quando os resíduos culturais se decompõem, os esclerócios sobrevivem como inóculo primário. Esclerócios podem ser organizados em tecidos distintos como casca e medula ou formar uma massa

compacta de hifas emaranhadas, como são os casos de *Sclerotium rolfsii* e *Rhizoctonia solani*, respectivamente. Compostos voláteis produzidos de restos culturais em decomposição podem estimular os esclerócios e microesclerócios para germinar e infectar tecidos hospedeiros (Punja, 1985). Microesclerócios são formas efetivas de inóculo primário para fitopatógenos habitantes do solo como *Macrophomina* sp., *Cylindrocladium* sp. e *Verticillium* sp. Normalmente, microesclerócios são formados em tecidos corticais do hospedeiro pelo desenvolvimento saprofítico seguindo a atividade parasítica do patógeno. Portanto, microesclerócios ficam envolvidos no tecido hospedeiro até a decomposição do tecido na morte da planta ou após a colheita.

O inóculo primário de bactérias incluem células simples e aglomerado de células no solo em restos culturais ou raízes de plantas suscetíveis ou imunes como ervas daninhas. Devido às bactérias serem organismos unicelulares, a infecção do tecido hospedeiro ocorre diretamente a partir do inóculo residente no solo por ferimentos, tais como ponto de emergência e raízes laterais.

### **Inóculo secundário**

Em doenças radiculares, o inóculo secundário pode ser produzido dentro ou sobre as plantas infectadas. O inóculo secundário pode induzir infecções adicionais durante o ciclo da cultura e resultar num aumento da doença. Para culturas perenes, como árvores, não é difícil visualizar a importância do inóculo secundário em infecções secundárias do sistema radicular. Em alguns casos, o inóculo secundário pode também exercer uma função em epidemias de culturas anuais. A importância do inóculo secundário na canela preta do fumo, causada por *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*, foi demonstrada por Campbell & Powell (1980). Neste experimento, provavelmente, esporângios e/ou zoósporos formados nas raízes de fumo, como resultado da infecção pelo inóculo primário, foram disseminados por irrigação ou chuva nos sulcos, resultando em novas infecções em plantas previamente não infectadas, evidenciando a importância do inóculo secundário em doenças de juro simples, o que foi contestado durante muito tempo.

### **Influências sobre o inóculo**

No ambiente do solo, o inóculo pode ser estimulado a germinar e infectar o tecido do hospedeiro de zonas de influência próximas às raízes e às sementes germinando. O termo “rizosfera” refere-se a zona do solo em torno da raiz que influencia a microbiota. Na rizosfera, a população microbiana e

as relações são diferentes de solos não rizosféricos, sendo que a grande atividade microbiana, incluindo de fitopatógenos, é devida aos efeitos estimulantes de nutrientes exsudados na rizosfera.

Muitos patógenos dependem de nutrientes da rizosfera para proporcionar a energia para germinação e infecção das raízes do hospedeiro. Outra importante zona de influência sobre inóculo de fitopatógenos habitantes do solo é a área próxima à semente germinando, denominada “espermosfera”.

Exsudatos podem influenciar a germinação de esporos, o crescimento micelial, quimiotaxia de zoosporos e outros processos patogênicos envolvidos no reconhecimento inicial e infecção de tecidos do hospedeiro. Padrões de exsudação são hospedeiro-específicos e, algumas vezes, cultivar-específicos, podendo ser alterados por mudanças no ambiente e outros fatores físicos que afetam o crescimento do hospedeiro. Alterações nos padrões de exsudação podem influenciar subsequente germinação de esporos e infecção na rizosfera.

Germinação de propágulos na rizosfera, como resultado de nutrientes que superam a fungistase do solo, é apenas um passo na infecção do tecido hospedeiro. Os nutrientes que favorecem a germinação podem não ter o mesmo efeito na penetração e no desenvolvimento de lesões. O efeito de nutrientes sobre a patogênese na rizosfera pode ser analisado sob diferentes pontos de vista. Carbono e nitrogênio são requeridos para germinação de esporos, mas efeitos indiretos envolvendo microrganismos saprofíticos do solo mediados pela qualidade e quantidade dos exsudatos na espermosfera e rizosfera podem afetar a subsequente penetração e desenvolvimento da doença.

### **Dinâmica do inóculo**

A atividade de todos os seres vivos que integram o ecossistema é determinada pelo fluxo de energia que flui por esse sistema. O solo é um ecossistema que integra os organismos que nele e dele vivem, recebendo energia das mais variadas formas. Nesse sentido, a incorporação de fertilizantes químicos ou orgânicos no solo e o plantio de determinada cultura são exemplos de fontes de energia introduzidas no agroecossistema. Durante o processo de decomposição da matéria orgânica, são liberados nutrientes necessários à atividade da microbiota do solo e, em particular, dos microrganismos fitopatogênicos. Além disso, fontes de açúcares e aminoácidos são exsudadas pelas sementes germinando e pelas raízes de plantas jovens, constituindo pólos de grande atividade microbiana. Considerando outros fatores ambientais constantes, o fluxo de energia que atravessa o ecossistema que o solo constitui determina, em última análise, a atividade dos microrganismos que nele vivem e, por conseguinte, controla a

dinâmica dessas populações. Nesse contexto, o potencial de inóculo é algo dinâmico, cujo aumento ou redução é controlado pela variação do fluxo de energia que chega ao ecossistema (Ferraz, 1990).

Os dois principais fatores na dinâmica do potencial de inóculo de fitopatógenos habitantes do solo são (1) a natureza da resposta de crescimento que pode servir para aumentar a biomassa mediante a introdução de energia no sistema e (2) a eficiência de utilização da energia na preservação da população. O primeiro determina o aumento na inclinação da curva da dinâmica de potencial de inóculo quando a energia é disponível e a segunda determina a extensão na qual a curva poderá declinar entre períodos de disponibilidade de energia (Mitchell, 1979).

A dinâmica do potencial de inóculo caracteriza-se por apresentar quatro fases, cuja duração varia com os hábitos de infecção e sobrevivência do agente patogênico, bem como com a natureza e suscetibilidade do hospedeiro. As circunstâncias físicas, químicas e biológicas predominantes no solo em cada momento constituem os fatores determinantes desse declive e regulam a atividade da população do agente fitopatogênico. Por conseguinte, a taxa de utilização da energia disponível determina a dinâmica no potencial de inóculo no solo (Mitchell, 1979).

Em excelente compilação de informações, Ferraz (1990) caracterizou as diferentes fases da dinâmica do potencial de inóculo de um agente fitopatogênico no solo, representada por uma curva. Essa sequência de fases encontra-se representada na Figura 2.2, em que o declive em cada ponto da curva constitui a característica mais importante.

O início da atividade de um microrganismo fitopatogênico no solo ocorre no momento em que a raiz entra em contato com um propágulo ou unidade infecciosa. Até esse instante, o microrganismo encontra-se numa *fase inativa*, na forma de estruturas de resistência que apresentam atividade metabólica nula ou reduzida. Condições exógenas, impostas por fatores ambientais, ou condições endógenas, reguladas geneticamente pela própria constituição dos propágulos, determinam a duração dessa fase. Segue uma *fase de pré-colonização*, durante a qual um propágulo germina e entra em contato com as raízes do hospedeiro que cresce nas suas proximidades. Um maior ou menor declive da curva nessa fase significa uma maior ou menor capacidade de resposta do agente patogênico à presença do hospedeiro, traduzida na rapidez de germinação dos seus propágulos e na taxa de crescimento mais ou menos elevada do seu micélio. Após a penetração no hospedeiro, ocorre a *fase de colonização*, que se caracteriza pela invasão progressiva dos tecidos do hospedeiro e conseqüente aumento da produção de biomassa do agente patogênico. O declive da curva nessa fase traduz o grau de eficiência da relação agente patogênico-hospedeiro, que será tanto

mais elevado quanto maior for a capacidade do parasita para extrair a máxima energia possível.

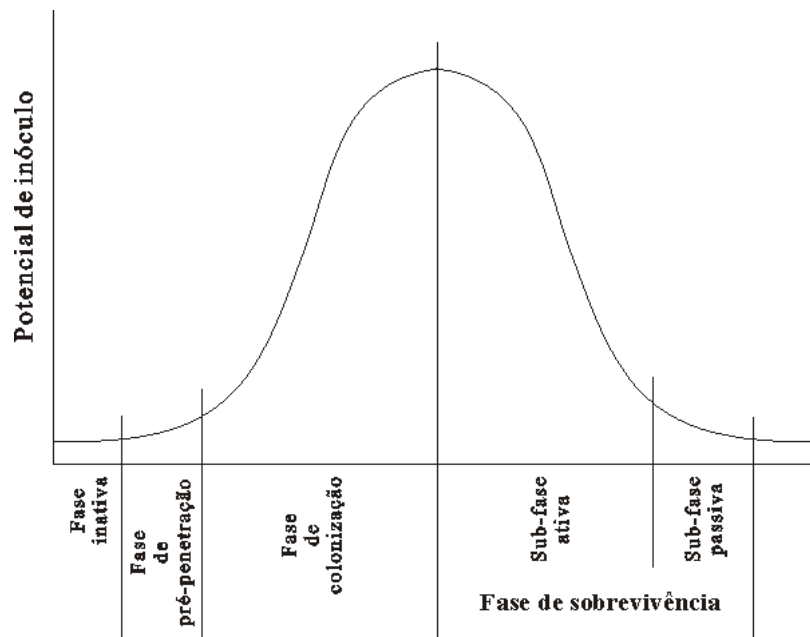


Figura 2.2 – Curva da dinâmica do potencial de inóculo de um agente fitopatogênico no solo, com indicação das fases mais importantes [segundo Ferraz (1990)].

No momento em que a disponibilidade de energia diminui e atinge valores mínimos, como resultado das perturbações funcionais causadas no hospedeiro pelo agente patogênico, ocorre a redução na produção de biomassa, iniciando a *fase de sobrevivência*. Essa fase caracteriza-se por uma diminuição da atividade do agente patogênico, prolonga-se para além da morte do hospedeiro, pela colonização dos tecidos vegetais mortos ou pelos propágulos do patógeno que serão liberados para o solo. Essa fase termina no momento em que esses propágulos entram em contato com uma nova fonte de energia que estimule sua germinação. Um maior ou menor declive da curva nessa fase significa que o período de sobrevivência do agente patogênico no solo será mais ou menos longínquo. Quanto mais longo for esse período, mais elevado será o risco a que uma cultura fica sujeita quando instalada numa área, o que explica a grande ênfase ao fenômeno da sobrevivência quando o objetivo é o manejo integrado de patógenos radiculares.

A sobrevivência é dependente do modo como a energia é conservada ao longo do tempo através de mecanismos que reduzem a atividade metabólica dos organismos patogênicos. Várias estratégias determinam o período de sobrevivência e, conseqüentemente, a manutenção da população de um organismo no solo, sendo possível agrupa-los em duas categorias: (a) fatores inerentes ao agente patogênico; (b) fatores inerentes aos propágulos.

As características intrínsecas do agente patogênico são fatores críticos após a morte do hospedeiro, cuja resistência à invasão por outros microrganismos vai reduzindo até que cessa, não restando ao agente patogênico, outra alternativa que não seja sobreviver ou resistir de outras maneiras. Três características são fundamentais para a sobrevivência de um agente patogênico: (a) gama de hospedeiros; (b) capacidade de competição saprofítica; (c) capacidade de produção de estruturas de resistência.

Os agentes patogênicos que têm uma vasta gama de hospedeiros alternativos, independentemente de quaisquer outros mecanismos de sobrevivência que possuam, estão melhor preparados para se perpetuarem, alongando assim o período em que os níveis das suas populações no solo são elevados.

A capacidade de competição saprofítica é a faculdade que um agente patogênico tem de manter ou mesmo aumentar a sua biomassa por colonização saprofítica dos tecidos mortos do seu hospedeiro e/ou pela utilização de substratos indiferenciados presentes no solo. Os atributos determinantes da capacidade para competição saprofítica foram destacados por Garrett (1970), como: (a) rápida germinação dos propágulos; (b) elevada taxa de crescimento; (c) capacidade enzimática para degradar celulose e lignina; (d) capacidade para produzir substâncias biostáticas; (e) tolerância às substâncias fungistáticas produzidas por outros microrganismos. Os atributos que um agente patogênico possui determina a maior ou menor capacidade para utilizar a energia disponível no substrato.

Quanto maior a capacidade para produzir estruturas de resistência, maior será o número de propágulos presentes no solo e, por conseguinte, o nível da população de um agente patogênico. Duas características determinam a longevidade dos propágulos: (a) capacidade para resistir a condições adversas; (b) suscetibilidade a fatores bióticos.

O efeito negativo de fatores físicos e químicos do solo, principalmente temperatura, umidade, pH e concentração de oxigênio, na preservação da viabilidade dos propágulos como unidades infecciosas são evidentes e não serão analisados em detalhes. Mais marcante é a influência negativa dos fatores bióticos na viabilidade das estruturas de resistência dos patógenos, cujo fenômeno é designado genericamente de antagonismo. Este se manifesta de diversas formas, tais como parasitismo, predação, competição, antibiose e biostase.



A análise dos fatores que determinam a sobrevivência dos microrganismos no solo permite a distinção de dois tipos de comportamento entre os patógenos radiculares: (a) aqueles cuja perpetuação ocorre sob a forma de micélio ativo, quer parasitando diversos hospedeiros quer colonizando saprofiticamente os mais variados substratos; (b) aqueles cuja sobrevivência ocorre, preferencialmente, na forma de propágulos. Uma vez que esses modos de comportamento têm implicações diretas na dinâmica do potencial de inóculo, é importante distinguir duas sub-fases após a morte do hospedeiro: a *sub-fase de sobrevivência ativa* e a *sub-fase de sobrevivência passiva*.

Um declive reduzido na *sub-fase de sobrevivência ativa* significa que o agente patogênico apresenta uma vasta gama de hospedeiros alternativos e/ou uma elevada capacidade de competição saprofítica. Na *sub-fase de sobrevivência passiva*, o declive pouco acentuado da curva indica que a viabilidade dos propágulos como unidades infecciosas é longa, tanto maior quanto mais elevada for a suscetibilidade à fungistase que, como visto, prolonga a fase de dormência.

Na análise do comportamento dos fungos habitantes do solo causadores de doenças radiculares, foram considerados aspectos gerais comuns a várias espécies, embora esses microrganismos sejam diferentes entre si e apresentem formas de comportamento específicas. Portanto, é necessário considerar, caso a caso, o que ocorre com os agentes patogênicos que apresentam hábitos de infecção e sobrevivência distintos e verificar de que maneira tais diferenças de comportamento influem na dinâmica dos seus inóculos.

## **MANEJO SUSTENTÁVEL DE DOENÇAS RADICULARES**

Considerando que muitas das doenças causadas por patógenos radiculares não são eficientemente controladas por produtos químicos, ou se são, tal estratégia está associada a riscos ecológicos, a busca por medidas alternativas de controle é prioritária (Maffia & Mizubuti, 2001). Além disso, embora um patógeno específico possa, em certos casos, ser controlado por uma única medida de controle, a complexidade dos fatores que envolvem o ciclo das relações patógeno-hospedeiro requer o uso de mais de um método para o controle satisfatório da doença. Portanto, há necessidade da concentração de esforços para combinar vários métodos de controle visando a obtenção de sucesso na redução da intensidade das doenças, resultando num alcance do máximo em produtividade sem reflexos negativos no meio ambiente, mas que sejam aceitáveis pela sociedade e economicamente viáveis (Zambolim & Vale, 2000).

## Princípios e estratégias de manejo de doenças

O controle de doenças de plantas pode ser agrupado em sete princípios biológicos gerais: *evasão* - prevenção da doença pelo plantio em épocas ou áreas quando ou onde o inóculo é ineficiente, raro ou ausente; *exclusão* - prevenção da entrada de um patógeno numa área ainda não infestada; *erradicação* - eliminação do patógeno de uma área em que foi introduzido; *proteção* - interposição de uma barreira protetora entre as partes suscetíveis da planta e o inóculo do patógeno, antes de ocorrer a deposição; *imunização* - desenvolvimento de plantas resistentes ou imunes ou, ainda, desenvolvimento, por meios naturais ou artificiais, de uma população de plantas imunes ou altamente resistentes, em uma área infestada com o patógeno; *terapia* - restabelecimento da sanidade de uma planta com a qual o patógeno já estabeleceu uma íntima relação parasítica; *regulação* - modificações do ambiente, tornando-o desfavorável ao patógeno ou ao desenvolvimento da doença (Kimati & Bergamin Filho, 1995). Esses princípios de controle fundamentam-se, essencialmente, em conhecimentos epidemiológicos, pois atuam no triângulo hospedeiro-patógeno-ambiente, impedindo ou retardando o desenvolvimento seqüencial dos eventos do ciclo das relações patógeno hospedeiro. Entretanto, o fator tempo, essencial para a compreensão de epidemias, só foi explicitamente considerado a partir de 1963, pelas análises epidemiológicas baseadas na taxa de infecção e na quantidade de inóculo inicial (Vanderplank, 1963). Essa relação aparece simplificada na equação:

$$y = y_0 \exp^{r.t}$$

onde a proporção  $y$  de doença em um tempo  $t$  qualquer é determinada pelo inóculo inicial  $y_0$ , pela taxa média de infecção  $r$  e pelo tempo  $t$  durante o qual o hospedeiro esteve exposto ao patógeno. Baseado nessa abordagem, três estratégias epidemiológicas podem ser utilizadas para minimizar os prejuízos de uma doença:

- Eliminar ou reduzir o inóculo inicial ( $y_0$ ) ou atrasar o seu aparecimento
- Diminuir a taxa de desenvolvimento da doença ( $r$ )
- Encurtar o período de exposição ( $t$ ) da cultura ao patógeno

Os princípios de controle sob os pontos de vista biológico e epidemiológico, atuando nos mesmos fatores que compõem a doença, estão intimamente relacionados (Figura 2.3).

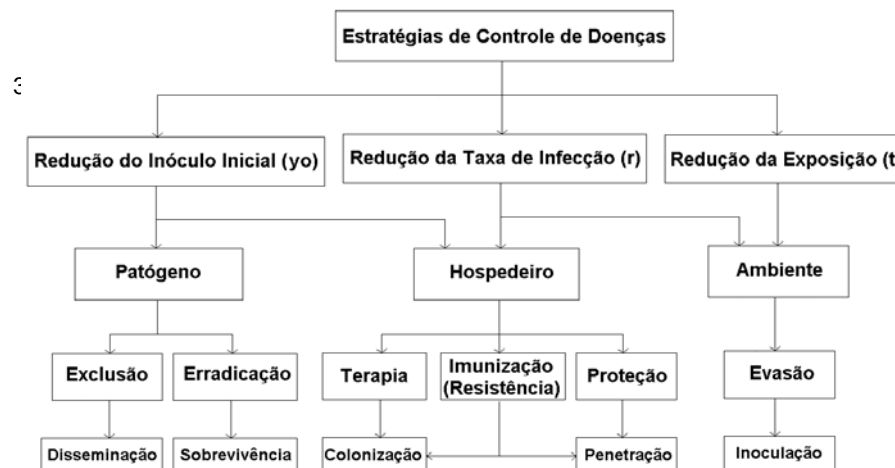


Figura 2.3 – Estratégias e princípios de controle de doenças de plantas, com indicação do modo de atuação de cada princípio no ciclo das relações patógeno-hospedeiro [adaptado de Roberts & Boothroyd (1984)].

Nesse contexto, *manejo integrado de doenças de plantas* pode ser conceituado como o "conjunto de princípios e medidas que se aplica visando o patógeno, o hospedeiro e o ambiente, pela redução ou eliminação do inóculo inicial, redução da taxa de progresso da doença e manipulação do período de tempo em que a cultura permanece exposta ao patógeno em condições de campo" (Berger, 1977).

Considerando a abordagem anterior e as particularidades associadas às doenças radiculares, principalmente quanto à importância do inóculo inicial como um dos fatores determinantes da intensidade das doenças, podemos destacar como principais estratégias de manejo de doenças radiculares:

1. Evasão do inóculo
2. Exclusão do inóculo
3. Redução da densidade de inóculo
4. Redução da taxa de infecção primária e secundária
5. Redução da sobrevivência do inóculo
6. Redução do estresse da planta
7. Aumento da resistência da planta ao patógeno
8. Manutenção das condições físicas, químicas ou biológicas do solo desfavoráveis para um ou mais estádios do ciclo de vida do patógeno

### **Estratégias de manejo de doenças e sustentabilidade**

Doenças radiculares são de controle difícil, pois os fitopatógenos habitantes do solo são bem adaptados e os fungicidas apresentam baixa eficiência, além do potencial efeito deletério ao ambiente. Práticas de controle devem ser integradas, para estabelecer um sistema de manejo efetivo e que seja o mais sustentável possível (Maffia & Mizubuti, 2001). Portanto, o manejo de doenças envolve a seleção e o uso de técnicas apropriadas para manter a doença a um nível tolerável. A adequação de determinada técnica de controle depende de várias informações: o patógeno envolvido, as características epidemiológicas do patossistema, as características do agroecossistema e a eficiência da técnica específica. A doença pode atingir níveis intoleráveis se houver falha na obtenção de uma dessas informações (Fry, 1982).

A determinação do nível “tolerável” de determinada doença radicular é complexa e de difícil aplicação. Fatores relacionados à dinâmica da doença, bem como aspectos econômicos, sociais e sanitários influenciam a definição do nível tolerável de doença (Fry, 1982). Por outro lado, o *limiar de dano econômico*, definido como o “nível de intensidade da doença ou do patógeno que provoca um prejuízo maior do que o custo de controle”, embora seja a base do manejo integrado de doenças de plantas, raramente tem sido estimado na prática, inclusive para doenças foliares. As principais razões para esse fato incluem, dentre outras, a pequena disponibilidade de estimativas confiáveis de danos decorrentes da presença ou ação dos patógenos e a dificuldade no monitoramento do patógeno (Kimati & Bergamin Filho, 1995).

Além da integração das práticas de controle, um importante questionamento no manejo de doenças radiculares relaciona-se ao nível de sustentabilidade dessas práticas. Considerando que sustentabilidade refere-se à habilidade para manter o sistema em existência por um longo período de tempo (Thurston, 1992), as práticas adotadas no manejo de doenças radiculares, além de serem eficientes na manutenção da intensidade das doenças em níveis aceitáveis, devem propiciar:

- mínima dependência externa de insumos
- uso de processos biológicos
- aumento da biodiversidade em espaço e tempo
- manutenção da estrutura física, química e biológica do solo
- ciclagem de nutrientes e o equilíbrio nutricional das plantas
- estabilidade fisiológica das plantas, evitando situações de estresse
- reaproveitamento de subprodutos agropecuários
- baixo ou nenhum risco de degradação ambiental
- baixo ou nenhum risco toxicológico aos seres vivos
- capacidade de manutenção por longo período de tempo
- balanço energético positivo do sistema produtivo

Na Tabela 2.4 são apresentadas várias práticas sustentáveis de controle de doenças radiculares e os efeitos predominantes sobre as estratégias de manejo.

Tabela 2.4 – Relação entre práticas sustentáveis de controle de doenças radiculares e seus efeitos predominantes sobre as estratégias de manejo.

Práticas de controle	Estratégia* / Efeito predominante							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Escolha do local de plantio		•						

Escolha da época de plantio	•								
Quarentena		•							
Inspeção e certificação de materiais propagativos		•							
Pousio			•				•		
Solarização do solo			•		•		•		
Inundação do solo			•		•		•		
Aração profunda							•		
Ajuste do pH do solo									•
Aplicação de matéria orgânica no solo			•						•
Ajuste do espaçamento e da densidade de plantio							•		
Plantio a pouca profundidade	•								
Uso de materiais propagativos livres de patógenos		•							
Desinfestação de ferramentas e implementos					•				
Tratamento térmico de substratos		•	•						
Tratamento térmico de materiais propagativos		•	•						
Tratamento biológico de solo e substratos			•		•				
Tratamento biológico de sementes e mudas			•		•				•
Uso de cultivares resistentes			•		•				•
Rotação de culturas			•			•			
Uso de multilinhas			•		•				•
Consociação de culturas					•				
Emprego de cultivares de ciclo precoce	•								
Uso de água de qualidade	•								
Evitar ferimentos no colo e raízes das plantas							•		
Eliminação de plantas doentes ou partes de plantas doentes			•			•			
Eliminação de hospedeiros alternativos			•			•			
Remoção e destruição de restos culturais			•			•			
Modificação da nutrição								•	
Alteração de tipo e/ou frequência de irrigação					•		•		•
Drenagem adequada do solo							•		•

\*Estratégias de manejo: 1. Evasão do inóculo; 2. Exclusão do inóculo; 3. Redução da densidade de inóculo; 4. Redução da taxa de infecção primária e secundária; 5. Redução da sobrevivência do inóculo; 6. Redução do estresse da planta; 7. Aumento da resistência da planta ao patógeno; 8. Manutenção das condições físicas, químicas ou biológicas do solo desfavoráveis para um ou mais estádios do ciclo de vida do patógeno.

As doenças radiculares causam elevadas perdas, tornando necessária a adoção de várias medidas, antes mesmo do plantio da primeira semente ou muda, através de um planejamento adequado da cultura. Para tanto, deve-se buscar informações sobre o histórico de plantios e doenças da região, ser criterioso na escolha da área de plantio, variedade e procedência das sementes ou mudas, entre outros. A agricultura sustentável impõe certas limitações na utilização de alguns métodos de controle de doenças, devendo ser priorizadas medidas baseadas nos métodos culturais, biológicos, genéticos e físicos e, preferencialmente, excluindo métodos químicos, como o uso de agrotóxicos.

O controle cultural das doenças radiculares consiste basicamente na manipulação das condições de pré-plantio e desenvolvimento do hospedeiro em detrimento do patógeno, objetivando a indução da supressividade do solo, a supressão do aumento e/ou a destruição do inóculo existente, escape

das culturas ao ataque potencial do patógeno e a regulação do crescimento da planta direcionado a menor suscetibilidade (Palti, 1981).

A prática cultural mais empregada pelos agricultores é a rotação de culturas, que se caracteriza pelo cultivo alternado de diferentes espécies vegetais no mesmo local e na mesma estação anual e cujo efeito principal relaciona-se à fase de sobrevivência do patógeno. Nesta fase, os patógenos são submetidos a uma intensa competição microbiana, durante a qual, geralmente, levam desvantagem. Correm, também, o risco de não encontrar o hospedeiro, o que determina, geralmente, sua morte por desnutrição. Isto ocorre no período entre dois cultivos de uma planta anual, durante a fase saprofítica. A rotação de culturas é uma medida que pode ser adotada para reduzir a quantidade de inóculo do patógeno e as condições do ambiente do solo. A rotação pode ser utilizada em áreas extensas, como também, em áreas menores, como canteiros e estufas plásticas. Apesar do grande potencial, a utilização da rotação de culturas não é efetiva no controle de patógenos que apresentam: grande habilidade de competição saprofítica; estruturas de resistência com alta longevidade e viabilidade; ampla gama de hospedeiros; esporos pequenos que podem ser transportados pelo vento a longas distâncias (Palti, 1981; Reis *et al.*, 2001).

Além da rotação de culturas, outras práticas culturais podem ser empregadas com sucesso, em determinadas situações, para controlar doenças radiculares, destacando-se: seleção de áreas de plantio, preparo do solo, escolha de épocas de plantio, uso de material propagativo sadio, inundação, ajuste do pH, fertilização adequada, incorporação de matéria orgânica no solo, ajuste da densidade de plantio, manejo da irrigação, consorciação de culturas, eliminação de plantas vivas doentes ("roguing") e destruição de restos culturais (Palti, 1981).

O preparo do solo como uma medida de controle cultural também tem suas limitações, devido aos altos gastos de energia no sistema de preparo convencional do solo aliado às perdas por erosão hídrica, que têm ameaçado a sustentabilidade da atividade agrícola. Todavia, deve-se considerar que a exposição das estruturas dos fitopatógenos à ação direta deve ter um efeito positivo na destruição da fonte de inóculo da doença. Além disso, os sistemas de preparo de solo interferem diretamente em vários estádios do ciclo de vida de patógenos do sistema radicular, enquanto afetam pouco algumas propriedades do solo, como pH e textura (Norton, 1979), determinando maior ou menor viabilidade de propágulos, pois a sobrevivência pode depender da profundidade onde se encontram.

A escolha de época de plantio atua sobre patógenos radiculares em decorrência da temperatura e da umidade do solo. Conforme a época de plantio, podem ser evitados estresses hídricos em períodos críticos para a cultura, o que predispõe às plantas ao ataque de vários patógenos radiculares.

A inundação do solo por determinado período, por ciclos sucessivos, pode resultar o controle eficiente de alguns patógenos radiculares, com exceção dos produtores de zoósporos, que são favorecidos por solos úmidos. Durante o encharcamento do solo, desenvolvem-se os microrganismos anaeróbicos e a produção de ácidos e gases tóxicos que vão atuar nos microrganismos fitopatogênicos (Reis *et al.*, 2001). A inundação tem sido empregada em pequenas áreas cultivadas, viveiros e casas-de-vegetação, tendo seu potencial restrito às situações em que estão disponíveis equipamentos para irrigação e as condições geográficas são favoráveis, pois as grandes extensões de área e a topografia do terreno podem limitar esse procedimento como prática de controle de doenças.

O manejo do pH do solo pode interferir no desenvolvimento de doenças radiculares, sendo mais freqüente o emprego de calcários dolomíticos e calcíticos para a correção em solos ácidos, e do gesso agrícola em solos alcalinos. No entanto, com poucas exceções, os limites de pH favoráveis ao melhor desenvolvimento das plantas são os mesmos para a atividade de patógenos e desenvolvimento de doenças radiculares.

O manejo de doenças pela nutrição equilibrada de plantas deveria receber maior atenção pela pesquisa. A fertilização adequada do solo é um componente essencial no manejo de patógenos radiculares, pois o estado nutricional da planta pode favorecer ou limitar o processo de infecção e de colonização por patógenos radiculares, determinando a resistência ou suscetibilidade à doença, bem como a virulência e a habilidade do patógeno sobreviver. A imobilização de nutrientes necessários à síntese de barreiras físico-químicas ou à redução da concentração dos elementos ao redor dos sítios de infecção podem tornar a planta suscetível à doença. Por outro lado, a resistência pode ser devida à ausência de nutrientes essenciais para a atividade patogênica (Huber, 1994). No contexto de uma agricultura orgânica, pode-se utilizar adubos de diferentes origens, como rochas de fosfato, compostos orgânicos, esterco de animais, tortas de materiais diversos, entre outros, os quais devem ser melhor avaliados quando ao potencial no controle de doenças.

A incorporação de matéria orgânica no solo tem efeito marcante na dinâmica populacional dos microrganismos. A qualidade e quantidade de material orgânico acrescentado ao solo determinarão o aumento da densidade de uma, ou de várias espécies de microrganismo selecionada(s) por este substrato. Caso a espécie beneficiada seja antagônica de um fitopatógeno, os danos provocados pelo patógeno nos hospedeiros poderão ser minimizados (Reis *et al.*, 2001). A adição de matéria orgânica ao solo tem sido realizada pelo uso de esterco de curral, cama de aviário, esterco de suíno estabilizado, adubação verde, bagaço de cana-de-açúcar, casca de

arroz, pó de concha de ostra, uréia, superfosfato de cálcio, cinza mineral, composto de resíduos vegetais ou de esgoto municipal (Summer, 1994).

A densidade de plantio pode exercer um efeito sobre o mesoclima no dossel das plantas, principalmente sobre a duração do molhamento dos sítios de infecção que ocorre nos cultivos mais adensados.

A irrigação pode influir positiva ou negativamente as doenças do sistema radicular. A irrigação fornece alto potencial de umidade, interferindo na microbiota do solo, incluindo patógenos e antagonistas. No Brasil, a irrigação por pivô-central tem sido empregada intensivamente para algumas culturas, o que mantém a umidade do solo sempre elevada, sendo importante averiguar em estudos de longo prazo as implicações que o cultivo contínuo, sob essas condições de irrigação, possa trazer para as doenças do sistema radicular.

A eliminação dos restos culturais tem como princípio a destruição do substrato nutricional ao patógeno, podendo ser efetuado pela incorporação no solo, queima ou remoção de plantas doentes e de restos culturais.

### **Controle genético**

A resistência genética representa uma grande esperança no controle de diversas doenças radiculares, além de proporcionar o aumento significativo da produtividade. Em países subdesenvolvidos, onde os agricultores frequentemente não dispõem de recursos, assistência técnica, instrumentos de política agrícola ou incentivos governamentais para adotar outros métodos de controle, a disponibilidade de cultivares resistentes assume importância ainda maior. O plantio desses cultivares alinha-se também à crescente pressão da sociedade pela redução no uso de agrotóxicos e por técnicas que conduzam à uma agricultura sustentável.

### **Controle biológico**

O biocontrole de doenças radiculares é a área mais desenvolvida de biocontrole de doenças de plantas, com exemplos clássicos como o controle de *A. tumefaciens*, agente da galha em coroa em diversas culturas, por *Agrobacterium radiobacter*. A introdução de microrganismos adaptados ao microhabitat do patógeno é um dos aspectos mais relevantes para o sucesso de um programa de controle biológico de doenças de plantas. Neste contexto, diversos microrganismos são isolados, selecionados e utilizados como agentes biocontroladores de doenças. Muitos fungos e bactérias têm sido testados no controle de doenças radiculares, alguns com sucesso comprovado, e muitos outros com grande potencial de uso. Neste caso, tem-se descrito como potenciais agentes de biocontrole: *Trichoderma* sp.,



*Gliocladium virens*, *Talaromyces flavus*, *Pythium oligandrum*, *Coniothyrium minitans*, *Sporidesmium sclerotivorum*, *Peniophora gigantea*, *Penicillium* spp., *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Agrobacterium radiobacter* e *Pasteuria penetrans*. Alguns desses microrganismos apresentam especialização, parasitando um determinado microrganismo patogênico, enquanto outros são capazes de inibir uma variada gama de patógenos (Melo, 1998).

### **Controle físico**

Os métodos físicos, que incluem várias formas de energia física para o controle de patógenos radiculares. Contudo, novas técnicas surgem em razão de novas descobertas científicas e avanços tecnológicos. O tratamento térmico com vapor foi um dos primeiros a ser adotado e, posteriormente, a solarização foi desenvolvida, onde temperaturas mais amenas são atingidas, causando alterações menos drásticas nas comunidades do solo. Recentemente, até a utilização de microondas tem sido testada na desinfestação de solos (Ghini & Bettiol, 2001).

Apesar de ter sido desenvolvido há mais de um século, o uso de vapor para a desinfestação de solo está restrito a pequenas áreas devido ao custo dos equipamentos necessários para sua aplicação. Dessa forma, o vapor tem sido praticado em estufas, canteiros para produção de mudas ou campos de culturas altamente rendosas. O solo é coberto por uma lona plástica e o vapor a 80-100°C, produzido por uma caldeira, é injetado, promovendo o controle de patógenos, plantas daninhas e pragas, por meio da elevação da temperatura do solo. A vantagem do uso de vapor consiste no fato de não se tratar de um método químico, com ausência de resíduos, embora as altas temperaturas muitas vezes aumentem o teor de manganês a níveis fitotóxicos (Ghini & Bettiol, 2001).

A técnica da solarização consiste na utilização da energia solar para a desinfestação do solo, por meio da cobertura com um filme plástico transparente, antes do plantio. A solarização pode ser utilizada, tanto em condições de campo, quanto em extensas áreas, como em cultivo protegido, e deve ser realizada preferencialmente durante o período de maior incidência de radiação solar. Após a cobertura do solo, as camadas superficiais apresentam temperaturas superiores às do solo descoberto, sendo que o aquecimento é menor quanto maior for a profundidade. A inativação térmica de diversos patógenos apresenta, de modo geral, uma relação inversa entre tempo de exposição e temperatura, de forma que quanto menor a temperatura, um tempo maior de exposição é necessário para inativar as estruturas e vice-versa (Viana & Souza, 1997). Por esse motivo, o filme plástico deve ser mantido por um período de tempo suficiente para que haja a inativação das estruturas localizadas nas camadas mais profundas do solo.

Outra aplicação prática do calor é a termoterapia. Seu sucesso reside no fato de que o patógeno é eliminado por tratamentos em determinadas relações tempo-temperatura que produzem poucos efeitos deletérios no material vegetal. Nesse caso, quanto maior for a diferença entre a sensibilidade térmica do hospedeiro e do patógeno, maiores serão as chances de sucesso da termoterapia. Vários fatores podem afetar a sensibilidade térmica, como o teor de umidade do material vegetal; a dormência; a idade e o vigor, especialmente das sementes; a condição das camadas externas do material a ser tratado; as condições de temperatura durante o desenvolvimento da planta; o tamanho do material e a suscetibilidade varietal (Baker, 1962). Assim, devido ao efeito de diversas variáveis, a relação tempo-temperatura não pode ser reduzida a uma fórmula geral aplicável a todos os casos. O mecanismo de ação da temperatura, tanto no controle de patógenos quanto na injúria do hospedeiro é complexo, sendo que um ou vários fatores podem estar envolvidos, como desnaturação de proteínas, liberação de lipídeos, destruição de hormônios, asfixia de tecidos, destruição de reservas e injúria metabólica com ou sem acúmulo de intermediários tóxicos.

Cada alternativa disponível apresenta vantagens e desvantagens, sendo que os problemas têm que ser analisados caso a caso para a escolha do melhor método a ser aplicado. Porém, a integração de diferentes métodos parece ser a estratégia mais atraente, visto que pode resultar em um controle mais eficiente e duradouro.

## **PATÓGENOS RADICULARES E MANEJO SUSTENTÁVEL DE DOENÇAS**

Considerando as particularidades de cada patógeno radicular, principalmente quanto aos tipos de doenças causadas e aos fatores predisponentes à ocorrência dessas doenças, a seguir são listadas algumas práticas sustentáveis de controle aplicadas a cada patógeno, visando servir como guia prático na solução de problemas no campo.

### **FUNGOS**

#### ***Pythium***

Espécies de *Pythium* são saprófitas ou parasitas, de distribuição mundial, estando presentes em habitats bastante diversificados. Espécies parasíticas foram relatadas em algas e em outros organismos de ambiente aquático, tanto em água doce ou salgada. Além disso, podem também ser parasitas de mais de 80 espécies de fungos, ovos de crustáceos e larvas de mosquito (Agrios, 1997).

#### **Doenças causadas**

Muitas espécies de *Pythium* são saprófitas facultativos ou parasitas em diversas culturas, causando tombamento de pré e pós-emergência, que podem resultar em perdas econômicas significativas. Embora sejam considerados primariamente como patógenos de sementes e plântulas, como pode ser observado na Tabela 2.1, algumas espécies de *Pythium* podem causar queima de folhas, podridão de caules e raízes em plantas maduras e podridão mole em frutos e vegetais maduros, no campo ou em pós-colheita (Martin, 1992). Espécies de *Pythium* sobrevivem no solo saprofiticamente ou por meio de estruturas de sobrevivência. O mecanismo principal de sobrevivência por períodos curtos ou intermediários é através de zoósporos e esporângios e por períodos longos, por oósporos (Agrios, 1997).

#### **Fatores predisponentes**

- Alta umidade do solo favorece a atividade saprofitica
- Temperaturas do solo amenas em torno de 22°C
- Elevada concentração de gás carbônico
- Alta quantidade de matéria orgânica

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Utilização da vaporização ou calor seco no solo e substratos
- Uso de material de propagação livre do patógeno
- Tratamento biológico de sementes
- Rotação de culturas
- Manutenção de boa drenagem do solo
- Manutenção de boa circulação do ar entre as plantas
- Evitar a aplicação excessiva de fertilizantes, principalmente nitrogênio na forma de nitrato
- Solarização do solo

### ***Phytophthora***

O gênero *Phytophthora* é constituído em grande parte por espécies patogênicas e responsáveis por severos danos em culturas de grande importância econômica no Brasil e no mundo. Embora as espécies de *Phytophthora* sejam importantes patógenos da parte aérea das plantas, é, principalmente, como patógeno habitante do solo, atacando as raízes e o coleto de plantas de inúmeras culturas, que o gênero tem se notabilizado. De uma forma genérica as espécies de *Phytophthora* patogênicas às raízes são polífagas e cosmopolitas atacando uma grande variedade de plantas de extensa distribuição geográfica (Erwin & Ribeiro, 1996).

### **Doenças causadas**

*Phytophthora capsici* causa a podridão das raízes e murcha do pimentão, da pimenta, do pepino, da berinjela, da moranga, da abóbora, da abobrinha e da podridão do pé da pimenta-do-reino, *P. palmivora* causa podridão da base do estipe da pupunheira, podridão das raízes do mamoeiro, coqueiro e cupuaçuzeiro, *P. citrophthora*, *P. citricola* e *P. nicotianae*, provoca a podridão das raízes e gomose dos citrus em geral, *P. sojae* (*P. megasperma* f.sp. *glycinea*) causa a podridão das raízes da soja, *P. cinnamomi* causa a podridão radicular do abacaxizeiro, do abacateiro, do pinheiro e de outras coníferas, e *P. parasitica* causa a podridão radicular, talo preto e a requeima em várias culturas (Erwin & Ribeiro, 1996), como pode ser observado na Tabela 2.1.

## **Fatores predisponentes**

- *Phytophthora capsici*

- Umidade do solo próximo à capacidade de campo e em algumas fases encharcamento
- Temperaturas do solo entre 10-24°C
- Solos pouco arejados, mal drenados e pouco profundos
- Alta precipitação pluvial
- Plantas com crescimento vegetativo abundante
- Altos níveis de nitrogênio no solo
- pH alto
- Estresse da planta, tanto hídrico quanto por salinidade

- *Phytophthora cinnamomi*

- Temperaturas entre 24-30°C
- Alta umidade
- Solos basálticos, permanecendo úmidos por um longo período
- Solos pouco arejados, mal drenados e pouco profundos
- Ocorrência de chuvas
- pH entre 6,0 e 6,5
- Adubação excessiva com nitrogênio e fósforo
- Estresse da planta, tanto hídrico quanto por salinidade

- *Phytophthora parasitica*

- Solo com alta umidade
- Temperatura entre 24-30°C
- Solos pouco arejados, mal drenados e pouco profundos
- Ocorrência de chuvas
- Excessiva adubação nitrogenada
- pH elevado
- Aplicação de cálcio
- Estresse da planta, tanto hídrico quanto por salinidade

## **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Uso de material de propagação livre do patógeno
- Tratamento térmico de sementes com água quente a 52°C por 10 minutos
- Preparação do solo para deixá-lo permeável, leve e bem drenado

- Instalação de drenos superficiais ou sub-superficiais para remover os excessos de chuvas ou irrigação
- Tipo e controle da irrigação
- Redução do excesso de sombra
- Solarização do solo
- Rotação de culturas
- Uso de variedades resistentes
- Utilização de microorganismos antagônicos e hiperparasitas
- Remoção e destruição de plantas infectadas
- Destruição dos restos culturais

### ***Rhizoctonia***

O gênero *Rhizoctonia* consiste de uma coleção bastante diversificada de teleomorfos que são componentes de diferentes famílias e classes, sendo *R. solani* (teleomorfo *Thanatephorus cucumeris*) a principal espécie representante desse gênero (Sneh *et al.*, 1996). As doenças causadas por *Rhizoctonia* são amplamente distribuídas pelo mundo, com os danos variando de acordo com a cultura afetada e as condições do ambiente.

#### **Doenças causadas**

*Rhizoctonia solani* é um habitante do solo que comumente causa doenças nas raízes, no entanto sob certas condições, como alta umidade relativa do ar, ataca partes aéreas de plantas. A infecção do fungo *R. solani* nos diversos hospedeiros ou órgãos podem resultar em diferentes sintomas como as podridões e cancos de caules e raízes, tombamentos de pré e pós-emergência, queima e morte de plantas, podridões em tubérculos, degeneração de frutos e grãos, além de manchas e queima das folhas e brotos, na parte aérea, como pode ser observado na Tabela 2.1. *Rhizoctonia solani* pode estar presente em qualquer ambiente nas formas de micélio ou microsclerócios, sendo estes as principais estruturas de sobrevivência e a fonte de inóculo primária (Ogoshi, 1987).

#### **Fatores predisponentes**

- Solos úmidos, mas não encharcados
- Manutenção de restos culturais no campo
- Solos arenosos, desestruturados e pobres em outros microorganismos
- Plantio profundo de sementes
- Plântulas de crescimento lento ou estioladas

#### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Realização de calagem e adubação profunda
- Adubação equilibrada
- Uso de material de propagação livre do patógeno
- Realizar plantio em épocas favoráveis ao rápido crescimento da planta
- Plantios em épocas quentes desfavorecem o patógeno
- Aumento do espaçamento de plantio
- Adubação verde utilizando várias espécies
- Uso de variedades resistentes quando disponível
- Solarização do solo
- Uso de antagonistas no controle biológico
- Controle da umidade do solo
- Remoção e destruição de plantas infectadas
- Destruição dos restos culturais

### **Sclerotium**

A espécie-tipo deste gênero é *Sclerotium rolfsii* Sac., que possui uma gama de hospedeiro muito extensa, em torno de 500 espécies botânicas, incluindo dicotiledôneas e monocotiledôneas, encontrando-se distribuída em várias partes do mundo. Outra espécie importante é *S. cepivorum*, que possui uma gama de hospedeiros bem reduzida (Punja, 1985; Punja & Rahe, 1992).

### **Doenças causadas**

*Sclerotium rolfsii* é um fitopatógeno causador de tombamento em plântulas, cancos, queima, podridões em caule, raízes, bulbos e tubérculos, enquanto *S. cepivorum* causa podridão branca em alho e cebola, como pode ser observado na Tabela 2.1. Estes patógenos predominam em regiões tropicais e subtropicais do mundo (Punja & Rahe, 1992).

### **Fatores predisponentes**

- Alta luminosidade e oxigenação
- Solo com alta umidade, mas não encharcado
- Temperatura elevada (20-36°C)
- Manutenção de restos culturais no campo
- Solos arenosos
- Plantas com injúrias de natureza diversa

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Uso de material de propagação livre do patógeno
- Rotação de culturas
- Fertilização do solo com compostos a base de amônia
- Aplicação de compostos de cálcio e nitrogênio
- Solarização do solo
- Uso de antagonistas como fungos e bactérias
- Adição de matéria orgânica ou compostos orgânicos
- Remoção e destruição de plantas infectadas
- Destruição dos restos culturais

### ***Macrophomina***

*Macrophomina phaseolina* é a única espécie representante do gênero *Macrophomina*. Este fungo habitante do solo apresenta ampla distribuição geográfica, podendo ser encontrado desde os países de clima tropical até os desérticos e temperados quentes (Dhingra & Sinclair, 1978; Mihail, 1992). No Brasil, os maiores danos ocorrem na região Nordeste, devido às condições climáticas favoráveis, chegando a causar prejuízos consideráveis em diversas culturas.

### **Doenças causadas**

*Macrophomina phaseolina* ataca várias espécies vegetais cultivadas, causando principalmente a podridão cinzenta do caule, no entanto, provoca também tombamentos de pré e pós-emergência, nos estágios iniciais de desenvolvimento das culturas, a podridão de raízes e as podridões do colmo de gramíneas, como pode ser observado na Tabela 2.1. A sobrevivência no solo ocorre na forma de esclerócios, com estes constituindo-se na fonte de inóculo primário (Dhingra & Sinclair, 1978).

### **Fatores predisponentes**

- Cultivos sucessivos
- Solos arenosos, com baixa capacidade de retenção de água e alta capacidade de absorção do calor
- Solos pobres em matéria orgânica e com baixos níveis de potássio
- Alta temperatura (ótima entre 28 e 30°C) e baixa umidade do solo nas fases de plântula, na formação ou maturação de grãos/sementes
- Estresse na planta pelo ataque de outros patógenos, fatores ambientais ou nutricionais



### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Uso de semente livre do patógeno
- Uso de cobertura morta
- Aração profunda
- Uso de cultivares resistentes
- Rotação de culturas
- Cultivo mínimo e cobertura morta
- Controle da água de irrigação
- Utilização de antagonistas sozinhos ou em mistura
- Solarização do solo
- Remoção e destruição de plantas infectadas
- Destruição dos restos culturais

### ***Sclerotinia sclerotiorum***

*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary é um patógeno de importância mundial por sua ampla gama de plantas hospedeiras, longa sobrevivência no solo por meio de escleródios (estruturas de resistência), e indisponibilidade de fontes de resistência em materiais comerciais, tornando as doenças causadas por este patógeno de difícil controle (Purdy, 1979).

### **Doenças causadas**

As doenças provocadas por *S. sclerotiorum* são conhecidas principalmente como mofo-branco, podridão-de-esclerotínia, podridão-da-haste, murcha-de-esclerotínia, ou simplesmente como esclerotínia, de acordo com os seus sinais, ou sintomas que causa em suas hospedeiras, como pode ser observado na Tabela 2.1. *Sclerotinia sclerotiorum* pode sobreviver em sementes infectadas por mais de três anos, causando falhas na germinação e morte de plântulas (Hall & Steadman, 1991).

### **Fatores predisponentes**

- Temperatura entre 18-25°C, ótima de 23°C
- Molhamento foliar de 7 a 26 horas
- Rotação de cultura de soja com outros hospedeiros suscetíveis, como feijão e girassol
- Plantio adensado, que aumenta a umidade e diminui o arejamento abaixo da copa
- Irrigações pesadas, coincidindo com baixas temperaturas, na fase de crescimento

- Alta umidade e baixa temperatura, que favorecem a germinação miceliogênica e a infecção
- Manutenção de restos culturais no campo
- Presença de luz para formação de apotécio
- Monocultura e plantios intensivos

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Pré-incorporação dos resíduos vegetais e aração profunda com tombamento da leiva
- Uso de material de propagação livre do patógeno
- Plantio em solos com boa drenagem
- Manejo racional da irrigação, evitando o acúmulo de água no solo
- Evitar períodos longos de molhamento foliar
- Evitar plantios adensados
- Adubação nitrogenada em excesso deve ser evitada
- Rotação de culturas
- Uso de variedades resistentes, quando disponível
- Uso de variedades de crescimento determinado, que permitem a formação de vagens ou frutos longe da superfície do solo
- Plantio direto
- Solarização do solo
- Controle biológico através do uso de antagonistas
- Remoção e destruição de plantas infectadas
- Destruição dos restos culturais

### ***Fusarium***

Dentre as espécies fitopatogênicas de *Fusarium*, somente as formadoras de clamidósporos são consideradas habitantes do solo, em que se destacam *F. oxysporum* e *F. solani*. Por outro lado, entre as espécies fitopatogênicas que não formam clamidósporos e são consideradas não habitantes do solo, destaca-se *F. moniliforme* (Nelson *et al.*, 1981).

### **Doenças causadas**

Essencialmente, o gênero *Fusarium* causa dois tipos de doenças em plantas: murchas vasculares e podridões corticais. As partes de plantas atacadas e os tipos de doenças envolvem: murchas vasculares, podridões radiculares, podridões de sementes e frutos, podendo também ser causados tombamentos, queimas de plântulas, podridões de espigas e colmos (Nelson

*et al.*, 1981). Os tipos de doenças são característicos de determinadas espécies, como exemplo, *F. oxysporum* causa murchas vasculares, enquanto *F. solani* causa podridões corticais, como pode ser observado na Tabela 2.1.

### **Fatores predisponentes**

- *Fusarium oxysporum*

- Solos arenosos, pouco estruturados e pobres em matéria orgânica
- Incorporação de matéria orgânica com baixa relação C/N
- Altos teores de nitrogênio, principalmente quando aplicado na forma amoniacal
- Baixos teores de potássio
- Altos níveis de umidade no solo, sem encharcamento
- Baixo pH
- Dias curtos e baixa intensidade luminosa
- Nutrição desbalanceada
- Solos infestados com nematóides
- Manutenção de restos culturais no campo

- *Fusarium solani*

- Clima ameno
- Solos arenosos ou calcáreo-arenosos
- Solos úmidos, mas não encharcados
- Manutenção de restos culturais no campo
- Alta precipitação pluviométrica
- Solos irrigados
- Estresse do hospedeiro pelo ataque de outros patógenos

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Uso de material de propagação livre do patógeno
- Uso de variedades resistentes, quando disponíveis
- Manipulação da fertilidade do solo, visando reduzir o crescimento, esporulação e virulência do patógeno
- Adição de calcário para obter pH no mínimo 7,0
- Evitar o uso de micronutrientes
- Evitar o uso excessivo de solo com fósforo e magnésio
- Uso de nitrogênio na forma de nitrato e evitar a forma de amônia
- Aplicação de fertilizantes em bandas próximo às raízes, não aplicar na cova
- Permitir que o solo repouse antes do plantio (alqueive)

- Uso da rotação de culturas com plantas não hospedeiras
- Uso da solarização do solo com polietileno transparente
- Uso de agentes de controle biológico, integrados com práticas culturais
- Prevenir a disseminação do patógeno eliminando o movimento de solo infestado para áreas livres de doença
- Remoção e destruição de plantas infectadas
- Destruição dos restos culturais

### ***Verticillium***

As principais doenças causadas por *Verticillium* são incitadas por cinco espécies: *V. albo-atrum* Berth., *V. dahliae* Kleb., *V. nigrescens* Pethybr., *V. nubilum* Pethybr. e *V. tricorpus* Isaac. Sendo, no entanto, as causadas pelas duas primeiras espécies, as mais importantes (Schnathorst, 1981). As doenças causadas por *Verticillium* são de distribuição mundial sendo, no entanto, mais comuns nas zonas temperadas. Nos trópicos úmidos e nas áreas semitropicais muito úmidas, as murchas de *Verticillium* têm, geralmente, importância secundária (Agrios, 1997).

### **Doenças causadas**

As espécies de *Verticillium* incitam murchas vasculares em diversas culturas, como pode ser observado na Tabela 2.1. As infecções ocorrem de maneira tardia, no entanto, algumas vezes, a infecção se desenvolve em plântulas, que normalmente morrem logo após a infecção (Schnathorst, 1981).

### **Fatores predisponentes**

- Monocultura
- Clima frio e úmido, principalmente em áreas irrigadas
- Manutenção de restos culturais no campo
- Manutenção de ervas daninhas

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Uso de material de propagação livre do patógeno
- Uso de cultivares resistentes, quando disponíveis
- Solarização do solo
- Rotação de culturas
- Eliminação de ervas daninhas

- Incorporação de resíduos vegetais
- Utilização de microrganismos antagônicos
- Fertilização adequada do solo
- Escolha do método de irrigação
- Remoção e destruição de plantas infectadas
- Destruição dos restos culturais

## **BACTÉRIAS**

### ***Agrobacterium***

O gênero *Agrobacterium* Conn é amplamente distribuído em todo o mundo, possuindo representantes que causam doença em mais de 600 espécies botânicas, sendo as culturas mais frequentemente afetadas a videira, roseira, macieira, nogueira e ameixeira (Kerr, 1992).

### **Doenças causadas**

*Agrobacterium* é um patógeno habitante do solo, onde sobrevive por longos períodos na ausência de plantas hospedeiras, causando as doenças de plantas conhecidas como galhas em coroa e raízes em cabeleira. Ambos os sintomas são induzidos por desequilíbrios hormonais nos tecidos dos hospedeiros infectados (Clare & McClure, 1995).

### **Fatores predisponentes**

- Temperatura favorável para formação das galhas oscila entre 25-30°C
- Temperatura favorável para formação das raízes em cabeleira oscila entre 20-26°C

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Termoterapia
- Solarização do solo
- Utilização de variedades resistentes
- Rotação de culturas
- Uso de antibióticos (penicilina, estreptomicina e oxitetraciclina + estreptomicina)
- Controle biológico da galha, usando isolados não patogênicos de *A. radiobacter*
- Remoção e destruição de plantas infectadas
- Destruição dos restos culturais

### ***Erwinia***

O gênero *Erwinia* é dividido basicamente nos grupos carotovora, amylovora e herbícola (Pérombelon, 1992). O grupo carotovora tem espécies bioquimicamente ativas que causam podridão mole, sendo formado por *E. carotovora* subsp. *carotovora*, *E. carotovora* subsp. *atroseptica*, *E. carotovora* subsp. *betavasculorum*, *E. chrysanthemi*, *E. rhapontici*, *E. cypripedii* e *E. ananas*. O grupo amylovora possui espécies que causam necrose seca ou murcha em hospedeiros específicos, sendo a principal representante *E. amylovora*. O grupo herbícola é bastante complexo, apresentando espécies variadas. A importância econômica das perdas causadas por esses patógenos pode ser muito grande, dependendo do valor da cultura, severidade do ataque, subespécie ou patovar da espécie envolvida, condições ambientais, potencial de inóculo e manejo da cultura.

### **Doenças causadas**

As espécies *E. carotovora* e *E. chrysanthemi* induzem sintomas de murcha, podridão mole, canela preta, talo oco e tombamento de plântulas, como pode ser observado na Tabela 2.1. Estas espécies de *Erwinia* ocorrem praticamente em todo mundo, infectando uma variada gama de hospedeiros de diversas famílias botânicas, no campo ou nas fases de armazenamento e comercialização. *E. amylovora* causa murchas vasculares em algumas frutíferas (Agris, 1997).

### **Fatores predisponentes**

- Temperaturas favoráveis oscilam entre 25-35°C
- Umidade relativa próxima a 100 %
- Alta precipitação pluviométrica
- Pouca aeração
- Presença de ferimentos e estresse fisiológico da planta
- Danos causados por insetos e nematóides
- Excesso de adubação nitrogenada
- Irrigações leves e constantes
- Baixa concentração de O<sub>2</sub> no armazenamento

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Variedades resistentes
- Plantio de material vegetal (tubérculos, sementes, etc) certificados
- Desinfestação de tubérculos sementes
- Não armazenar tubérculos ou frutos doentes e sadios conjuntamente
- Armazenagem em local bem ventilado, seco e frio
- Desinfestação de facas e utensílios usados no campo
- Rotação de culturas por 3 a 4 anos com milho e soja
- Evitar ferimentos durante o plantio e tratos culturais
- Controle de insetos mastigadores
- Desinfestação de depósitos e armazéns com sulfato de cobre
- Evitar o plantio em solos de baixada mal drenados
- Usar água de irrigação livre de contaminação
- Usar o maior espaçamento possível entre plantas
- Manter um sistema de drenagem
- Efetuar adubação equilibrada e rica em cálcio
- Aplicação de espécies antagonistas de *Pseudomonas*
- Remoção e destruição de plantas infectadas
- Destruição dos restos culturais

### ***Ralstonia solanacearum***

*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* possui hospedeiros em cerca de 53 famílias botânicas incluindo mono e dicotiledôneas, onde ocasiona elevadas perdas em várias culturas a nível mundial e nacional. No Brasil, por ser nativa na maioria dos solos, tem sido assinalada em diversas culturas por todo o país causando grandes prejuízos em condições de alta temperatura e umidade (Lopes & Quezado-Soares, 1997). O controle dessa bactéria é

extremamente difícil, principalmente devido à ampla gama de hospedeiros, alta variabilidade genética e sobrevivência no solo por longos períodos, além da localização do patógeno no xilema onde se acha protegido contra medidas convencionais de controle.

### **Doenças causadas**

A murcha bacteriana, causada por *R. solanacearum*, é uma das mais importantes doenças no mundo, sendo particularmente limitante em climas úmidos, com altitudes baixas e médias, em regiões tropicais e subtropicais (Hayward & Hartman, 1994). Na maioria dos hospedeiros, a doença é conhecida como murcha bacteriana, murchadeira, água quente e dormideira, enquanto em cultivo de banana denomina-se moko (Reifschneider *et al.*, 1983), como pode ser observado na Tabela 2.1.

### **Fatores predisponentes**

- Alta temperatura do ar e do solo
- Alta umidade do solo
- Luminosidade e comprimento do dia
- Estresse da planta
- Altas populações de nematóides das galhas (*Meloidogyne* spp.)

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Uso de cultivares resistentes, quando disponíveis
- Uso de material de propagação livre do patógeno
- Plantio em solos bem drenados, livres do patógeno ou supressivos
- Rotação de culturas por 2 a 5 anos com cana-de-açúcar, cereais, milho, sorgo ou soja
- Cultivos consorciados com caupi, feijão e milho, no caso da batata e com cana-de-açúcar, no caso do tomate
- Manipulação da data de plantio
- Controle de nematóides e resistência aos mesmos
- Solarização do solo
- Manejo da umidade e do fluxo de água
- Não utilizar água contaminada para irrigação
- Evitar injúrias durante o plantio, transplantio e tratos culturais
- Restringir o uso de equipamentos oriundos de áreas infestadas
- Desinfestar equipamentos com NaClO (12,5% de cloro ativo)
- Alterar horas de drenagem de áreas infestadas para longe de áreas isentas da doença



- Usar espaçamento adequado para reduzir a possibilidade de transmissão de raiz para raiz
- Proteger a inflorescência da bananeira para evitar a disseminação por insetos
- Enxertia de tomate sobre espécies como jurubeba (*Solanum jurubeba*) e juna (*S. toxicarium*)
- Correção do solo com mistura S-H, CaO com uréia
- Uso de microrganismos antagonistas
- Remoção e destruição de plantas infectadas
- Destruição dos restos culturais

## **Streptomyces**

Espécies de *Streptomyces* fitopatogênicas causam doenças em órgãos subterrâneos de diversas plantas (Agrios, 1997).

### **Doenças causadas**

As sarnas comum e ácida são causadas respectivamente por *Streptomyces scabies* e *S. acidiscabies*, são importantes doenças em tubérculos de batata, como pode ser observado na Tabela 2.1. Essas doenças ocorrem na maioria das regiões produtoras do mundo, onde causam lesões elevadas ou deprimidas nos tubérculos, não ocorrendo sintomas na parte aérea. A sarna da batata-doce é causada por *S. ipomoeae* (Souza Dias & Iamauti, 1997).

### **Fatores predisponentes**

- Baixa umidade do solo
- pH próximo à neutralidade (*S. scabies*) e ácido (*S. acidiscabies*)
- Temperatura em torno de 30°C
- Uso de esterco animal

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Uso de batata-semente certificada
- Desinfestação dos tubérculos-semente
- Utilização de cultivares resistentes
- Solarização do solo
- Irrigação por 4 a 6 semanas no início da formação do tubérculo
- Rotação de cultura com gramíneas por pelo menos 3 anos
- Acidificação do solo com enxofre até pH 5,2
- Evitar excesso de calcário na correção do solo

- Manutenção da alta umidade do solo
- Não plantar em solos com alto teor de matéria orgânica

## **NEMATÓIDES**

### ***Ditylenchus***

O gênero *Ditylenchus* é constituído por um grande número de espécies dentre essas se destacam *D. angustus*, *D. destructor*, *D. radicolus* e *D. dipsaci*, sendo este último um dos nematóides mais destrutivos, em razão de sua capacidade de suportar condições adversas (anidrobiose), polifagia e ciclo vital curto, atingindo altas populações em curto espaço de tempo (Becker, 1995). Ao contrário da maioria dos fitonematóides, que são parasitos de raízes e órgãos subterrâneos, as espécies patogênicas de *Ditylenchus* parasitam principalmente a parte aérea das plantas. Algumas espécies são ectoparasitas, parasitas obrigatórias e, outras, endoparasitos migradores de caules, folhas e flores, raramente aparecendo em tecidos de raízes (Luc *et al.*, 1990).

### **Doenças causadas**

Na maioria das culturas, *Ditylenchus* causa grandes perdas por causar a morte de plântulas, enfezamento de plantas, destruição de bulbos, tornando-os impróprios para propagação ou consumo, desenvolvimento de caules e folhas distorcidas, entumescidas e enroladas, o que reduz bastante a produção (Agris, 1997).

### **Fatores predisponentes**

- Alto teor de argila no solo
- Presença constante de filme de água no solo
- Alta pluviosidade
- Excesso de irrigação
- Hospedeiro suscetível
- Temperatura do solo em torno de 21°C

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Alqueive
- Inundação da área
- Utilização de sementes certificadas
- Plantio em solo não infestado
- Tratamento de bulbilhos-sementes com agentes de controle biológico
- Termoterapia para bulbilhos de alho
- Eliminação de plantas hospedeiras
- Solarização do solo
- Rotação com culturas não hospedeiras por no mínimo dois anos e meio
- Uso de variedades resistentes
- Remoção e destruição de plantas infestadas
- Destruição dos restos culturais

### ***Meloidogyne***

O gênero *Meloidogyne* Goeldi engloba as espécies de nematóides formadoras de galhas em plantas, destacando-se *M. incognita*, *M. javanica*, *M. exigua*, *M. hapla*, entre outras. Os nematóides desse gênero apresentam marcante dimorfismo sexual e parasitam mais de 2.000 espécies de plantas, incluindo praticamente todas as plantas cultivadas e várias ervas daninhas (Agrios, 1997).

### **Doenças causadas**

As doenças provocadas pelos nematóides desse gênero são denominadas comumente de galhas, como pode ser observado na Tabela 2.1, devido aos sintomas característicos da doença serem as galhas formadas, que são engrossamentos das raízes. O tamanho das galhas é variável, dependendo da espécie do nematóide, grau de infestação e planta hospedeira. O principal sinal da doença é a presença de massa de ovos sobre as raízes parasitadas. Além do efeito direto sobre a planta hospedeira, as alterações promovidas pelos nematóides das galhas, também são exibidas na parte aérea das plantas (Whitehead, 1998).

### **Fatores predisponentes**

- Temperatura relativamente elevada
- pH na faixa de 4,0 a 8,0
- Baixa precipitação
- Solos arenosos ou com alto teor de matéria orgânica
- Solos com níveis de umidade de 40 a 60% da capacidade de campo

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Uso de resistência genética
- Rotação de culturas com *Crotalaria juncea*, *Tagetes* spp. ou *Mucuna* spp.
- Controle da época de plantio
- Preparo do solo com aração para exposição dos nematóides a radiação solar
- Alqueive
- Solarização do solo
- Introdução de agentes de biocontrole
- Remoção e destruição de plantas infestadas
- Destruição dos restos culturais

### ***Pratylenchus***

No gênero *Pratylenchus* Filipjev encontram-se os nematóides endoparasitos migradores, compreendendo espécies polífagas como *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. zae*, *P. penetrans*, *P. scribneri* e *P. vulnus*, que apresentam ampla distribuição geográfica e afetam várias culturas de importância econômica (Moura, 1997). No Brasil, nas regiões Centro-oeste, Norte e Nordeste, onde predominam temperaturas elevadas, as espécies *P. brachyurus*, *P. zae* e *P. coffeae* são as mais frequentes, enquanto espécies mais adaptadas a temperaturas baixas, como *P. pseudofallax* e *P. jordanensis* mostraram distribuição restrita à região Sul.

### **Doenças causadas**

Esses nematóides são conhecidos como “nematóides das lesões radiculares” em razão dos sintomas que incitam nas raízes, causando a redução drástica no crescimento e produção de culturas perenes em áreas infestadas. No Nordeste brasileiro, *P. coffeae* e *P. brachyurus* causam a casca preta do inhame (Moura, 1997).

### **Fatores predisponentes**

- Temperaturas ótimas para as diferentes espécies são extremamente variáveis: *P. indicus* (23-30°C), *P. penetrans* (20-24°C), enquanto *P. zaeae*, *P. brachyurus* e *P. hexincisus* (em torno de 30°C)
- Alta umidade do solo, entretanto redução gradual da umidade do solo pode induzir a anidrobiose e favorecer a sobrevivência
- Solos arenosos favorecem o desenvolvimento do nematóide

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Utilização de mudas certificadas ou qualquer outro material propagativo sadio
- Tratamento térmico em água a 35 a 54°C por 15 a 60 min., a 45°C por 45 min., a 51°C por 35 min. ou a 50°C por 40 min antes do plantio
- Limpeza de rizomas de bananeira e tratamento térmico
- Redução de temperatura de 22-31°C para 12°C em locais de armazenamento
- Enxertia de *Coffea arabica* ou *C. excelsa*, suscetíveis a *P. coffeae*, sobre porta-enxertos resistentes como *C. conuga* ou *C. canephora*
- Uso de variedades resistentes ou tolerantes a *Pratylenchus* spp.
- Rotação de culturas
- Plantio intercalar na cultura de plantas não hospedeiras
- Introdução de matéria orgânica
- Adubação verde com *Tagetes* sp., alfafa, *Crotalaria juncea* e *Coriandrum sativum* L.
- Solarização do solo
- Remoção e destruição de plantas infestadas
- Destruição dos restos culturais e hospedeiros alternativos

### ***Radopholus***

Os nematóides do gênero *Radopholus* Thorne são endoparasitos migradores causadores de lesões nas raízes e órgãos de reserva subterrâneos de seus hospedeiros. As lesões podem evoluir para extensas galerias, razão pela qual receberam a denominação de nematóides cavernícolas. Embora o gênero *Radopholus* compreenda 29 espécies, apenas uma, *R. similis*, apresenta importância econômica, primariamente em razão de sua distribuição mundial em associação com o seu principal hospedeiro, a bananeira. Embora seu principal hospedeiro seja a bananeira, a gama de hospedeiros de *R. similis* inclui mais de 250 espécies de plantas distribuídas em diferentes famílias (Whitehead, 1998).

### **Doenças causadas**

A nematose da bananeira causada por *R. similis* apresenta como sintoma principal o tombamento de plantas com exposição do rizoma necrosado, observado principalmente na fase de produção, em razão do peso dos cachos. Na parte aérea, os sintomas são caracterizados pela clorose foliar, redução do crescimento, pseudocauls finos e redução no tamanho dos cachos, como consequência da diminuição da absorção de água e nutrientes.

### **Fatores predisponentes**

- Alta umidade do solo
- Solos arenosos favorecem o desenvolvimento do nematóide
- Hospedeiro suscetível
- Temperatura do solo em torno de 22°C

### **Manejo sustentável**

- Seleção de área de plantio livre do patógeno
- Uso de mudas saudáveis, preferencialmente produzidas por cultura de tecidos
- Plantio em áreas não infestadas
- Tratamento biológico do material propagativo
- Descortiçamento do rizoma (eliminação com faca ou facão do tecido doente das partes externas do rizoma, até expor o tecido branco do rizoma), seguido de tratamento térmico em água a 55°C por 20 minutos
- Replantio do bananal
- Alqueive (ausência de rizomas vivos e plantas daninhas hospedeiras, por 6 meses a um ano)
- Inundação por 3 a 7 semanas
- Rotação com culturas não hospedeiras
- Remoção e destruição de plantas infestadas
- Destruição dos restos culturais e hospedeiros alternativos

## BIBLIOGRAFIA

- Agrios, G.N. Plant pathology. 4<sup>th</sup> ed. New York: Academic Press, 1997. 635p.
- Amorim, L. Sobrevivência do inóculo. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds.) Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3<sup>a</sup> ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.246-267.
- Andrews, J.H. Biological control in the phyllosphere. Annual Review of Phytopathology 30: 603-635. 1992.
- Baker, K.F.; Cook, R.J. Biological control of plant pathogens. San Francisco: W.H. Freeman, 1974. 433p.
- Baker, K.F. Thermotherapy of planting material. Phytopathology 52: 1244-1255, 1962.
- Baker, R. Inoculum potential. In: Horsfall, J.G.; Cowling, E.C. (Eds.) Plant disease: an advanced treatise. New York: Academic Press, 1978. v.2, p.137-157.
- Becker, W.F. Doenças causadas por nematóides em alho. Informe Agropecuário 17: 22-27, 1995.
- Benson, D.M. Inoculum. In: Campbell, C.L.; Benson, D.M. (Eds.) Epidemiology and management of root diseases. Heidelberg: Springer-Verlag, 1994. p.1-33.
- Berger, D. Application of epidemiological principles to achieve plant disease control. Annual Review of Phytopathology 15: 165-183, 1977.
- Bowers, J.H.; Mitchell, D.J. Relationship between inoculum level of *Phytophthora capsici* and motality of pepper. Phytopathology 81: 178-184, 1991.
- Bruehl, G.W. Soilborne plant pathogens. New York: MacMillan, 1987. 368p.
- Campbell, C.L.; Powell, N.T. Progression of diseases induced by soilborne pathogens: tobacco black shank. Protection Ecology 1: 177-182, 1980.
- Clare, B.G.; McClure, N.C. *Agrobacterium* In: Singh, V.S., Singh, R.P.; Kohmoto, K. (Eds.) Pathogenesis and host specificity in plant disease: hystopathological, biochemical, genetic and molecular bases. New York. Elsevier Science, 1995. v.1, p.221-236.
- Curl, E.A. The rhizosphere: relation to pathogen behavior and root disease. Plant Disease 66: 624-630, 1982.
- Davet, P.; Rouxel, F. Detection and isolation of soil fungi. Enfield: Science Publishers, 2000. 188p.

- Davis, J.R.; Everson, D.O. Relation of *Verticillium dahliae* in soil and potato tissue, irrigation method, and N-fertility to Verticillium wilt of potato. *Phytopathology* 76: 730-736, 1986.
- Dhingra, O.D.; Sinclair, J.B. *Biologia and pathology of Macrophomina phaseolina*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1978. 166p
- Dhingra, O.D.; Sinclair, J.B. *Basic plant pathology methods*. 2<sup>nd</sup> ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. 442p.
- Erwin, D.C.; Ribeiro, O.K. *Phytophthora diseases worldwide*. St. Paul: APS Press, 1996. 562p.
- Ferraz, J.F.P. Importância e dinâmica do inóculo potencial dos fungos fitopatogênicos do solo. *Summa Phytopathologica* 16: 197-213, 1990.
- Fry, W.E. *Principles of plant disease management*. New York: Academic Press, 1982. 378p.
- Garret, S.D. *Pathogenic root-infecting Fungi*. Cambridge. Cambridge University Press. 1970. 294p.
- Grau, C.R.; Radke, V.L. Effects of cultivars and cultural practices on *Sclerotinia* stem rot of soybean. *Plant Disease* 68: 56-58, 1984.
- Hall, R. Inoculum dynamics of *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* and management of Fusarium root rot of bean. In: Hall, R. (Ed.) *Principles and practice of managing soilborne plant pathogens*. St. Paul, APS Press, 1996. p.279-310.
- Hall, R.; Steadman, J.R. White mold. In: Hall, R. (Ed.) *Compendium of bean diseases*. St. Paul: APS Press, 1991. 73p.
- Harris, A.R.; Ferris, H. Interactions between *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* and *Meloidogyne* spp. in *Vigna unguiculata*. 1. Effects of different inoculum densities on Fusarium wilt. *Plant Pathology* 40: 445-456, 1991.
- Hayward, A.C.; Hartman, G.L. (Eds.) *Bacterial wilt - the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB International, 1994. p.1-7.
- Hillocks, R.J.; Waller, J.M. (Eds.) *Soilborne diseases of tropical crops*. Wallingford: CAB International, 1997a. 452p.
- Hillocks, R.J.; Waller, J.M. *Soilborne diseases and their importance in tropical agriculture*. In: Hillocks, R.J.; Waller, J.M. (Eds.) *Soilborne diseases of tropical crops*. Wallingford: CAB International, 1997b. p.3-16.
- Holley, R.C.; Nelson, B.D. Effect of plant population and inoculum density on incidence of *Sclerotinia* wilt of sunflower. *Phytopathology* 76: 71-74, 1986.



- Höper, H.; Alabouvette, C. Importance of physical and chemical soil properties in the suppressiveness of soil to plant diseases. *European Journal of Soil Biology* 32:41-58, 1996.
- Hornby, D. Diseases caused by soilborne pathogens. In: Jones, D.G. (Ed.) *The epidemiology of plant diseases*. Dordrecht: Kluwer, 1998. p.308-322.
- Huber, D.M. The influence of mineral nutrition on vegetable diseases. *Horticultura Brasileira* 12: 206-214, 1994.
- Johnson, L.F.; Curl, E.A. *Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens*. Minneapolis: Burgess Publishing Co., 1972. 247p.
- Kerr, A. The genus *Agrobacterium*. In: Balows, A., Touper, H., Dworkin, M., Harder, W.; Schleifer, K.H. (Eds.) *The prokaryotes*. 2<sup>nd</sup> ed. New York. Springer-Verlag, 1992. p.2214.
- Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Rezende, J.A.M. (Eds.) *Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, 774p.
- Kimati, H.; Bergamin Filho, A. Princípios gerais de controle. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds.) *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.692-709.
- Kohn, L. M. Delimitation of the economically important plant pathogenic *Sclerotinia* species. *Phytopathology* 69: 881-887, 1979.
- Kurozawa, C.; Pavan, M.A. Doenças das cucurbitáceas (abóbora, abobrinha, chuchu, melancia, melão, moranga, pepino). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A., Rezende, J.A.M. (Eds.) *Manual de Fitopatologia - doenças das plantas cultivadas*, 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.325-337.
- Lima, G.S.A.; Assunção, I.P.; Valle, L.A.C. Controle genético de patógenos radiculares. In: Michereff, S.J.; Andrade, D.E.G.T.; Menezes, M. (Eds.) *Patógenos radiculares em solos tropicais*. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001. (no prelo)
- Lockwood, J.L. Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 26: 93-112, 1988.
- Lopes, C.A.; Quezado-Soares, A.M. *Doenças bacterianas das hortaliças - diagnose e controle*. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1997. 70p.
- Luc, M.; Sikora, R.A.; Bridge, J. (Eds.) *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. St. Alban's: CAB International, 1990. 629p.
- Maffia, L.A.; Mizubuti, E.S.G. Epidemiologia de doenças causadas por patógenos radiculares. In: Michereff, S.J.; Andrade, D.E.G.T.; Menezes,

- M. (Eds.) Patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001. (no prelo)
- Martin, F. N. *Pythium*. In: Singleton, L. C.; Mihail, J.D.; Rush, C.M. (Eds.) Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. St. Paul: APS Press, 1992. p.39-49.
- Mcfadden, W.; Hall, R.; Phillips, L.G. Relation of inoculum density to severity of fusarium root rot of white bean in commercial fields. Canadian Journal of Plant Pathology 11: 122-126, 1989.
- Melo, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: Melo, I.S.; Azevedo, J.L. (Eds.) Controle biológico. Jaguariúna. EMBRAPA-CNPMA. v.1, 1998. pp.17-67.
- Meyer, J.R.; Shew, H.D. Development of black root rot on burley tobacco as influenced by inoculum density of *Thielaviopsis basicola*, host resistance, and soil chemistry. Plant Disease 75: 601-605, 1991.
- Mihail, J.D. *Macrophomina phaseolina*: spatio-temporal dynamics of inoculum and of disease in a highly susceptible crop. Phytopathology 79: 848-855, 1989.
- Mihail, J.D. *Macrophomina*. In: Singleton, L.L.; Mihail, J.D.; Rush, C.M. (Eds.) Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. St. Paul: APS Press, 1992. p.134-136.
- Mitchell, J.E. The dynamics of the inoculum potential of populations of soil-borne plant pathogens in the soil ecosystem. In: Schippers, B.; Gams, W. (Eds.) Soil-borne plant pathogens. London: Academic Press, 1979. p.3-20.
- Moura, R.M. Doenças do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam. Var. *rotundata* Poir). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M. (Eds.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.463-471.
- Neher, D.A.; Mckeen, C.D.; Duniway, J.M. Relationship among Phytophthora rot development, *P. parasitica* populations in soil, and yield of tomatoes under commercial field conditions. Plant Disease 77: 1106-1111, 1993.
- Nelson, P.E.; Toussoun; Cook, R.J. (Eds.) *Fusarium*: diseases, biology, and taxonomy. University Park and London: The Pennsylvania State University Press, 1981. 468p.
- Norton, D.C. Relationship of physical and chemical factors to populations of plant-parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology 17: 279-299, 1979.

- Ogoshi, A. Ecology and Pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. Annual Review of Phytopathology 25: 125-143, 1987.
- Palti, J. Cultural practices and infectious crop diseases. Berlin: Springer-Verlag, 1981. 241p.
- Paplomatas, E.J.; Bassett, D.M.; Broome, J.C.; DeVay, J.E. Incidence of Verticillium wilt and yield losses of cotton cultivars (*Gossypium hirsutum*) based on soil inoculum density of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 82: 1417-1420, 1992.
- Pérombelom, M.C.M. Potato blackleg: epidemiology, host-pathogen interaction and control. Netherland Journal of Plant Pathology 98: 135-146, 1992.
- Punja, Z.K. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. Annual Review of Phytopathology 23: 97-127, 1985.
- Punja, Z.K.; Rahe, J.E. *Sclerotium*. In: Singleton, L.L.; Mihail, J.D.; Rush, C.M. (Eds.) Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. St. Paul: APS Press, 1992. p.166-170.
- Purdy, L.H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. Phytopathology 69: 875-880, 1979.
- Reifschneider, F.J.B., Siqueira, C.B.; Cordeiro, C.M.T. Índice de doenças de hortaliças no Brasil: fungos e bactérias. Brasília: EMBRAPA-CNPH, 1983. 155p.
- Reis, E. Solos supressivos e seu aproveitamento no controle de doenças de plantas. In: Bettiol, W. (Coord.) Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p.181-193.
- Reis, E.M.; Casa, R.T.; Hoffmann, L.L. Controle cultural de patógenos radiculares. In: Michereff, S.J.; Andrade, D.E.G.T.; Menezes, M. (Eds.) Patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001. (no prelo)
- Roberts, D.A.; Boothroyd, C.W. Fundamentals of plant pathology. 2<sup>nd</sup> ed. New York: W.H. Freeman, 1984.432p.

- Rotem, J.; Palti, J. Epidemiological factors as related to plant disease control by cultural practices. In: Palti, J.; Kranz, J. (Eds.) Comparative epidemiology: a tool for better disease management. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1980. p.104-116.
- Schnathorst, W.C. Life cycle and epidemiology of *Verticillium*. In: Mace, M.E., Bell, A.A.; Beckman, C.H. (Eds.) Fungal wilt disease of plants. New York: Academic Press, 1981. p81-111.
- Schneider, R.W. (Ed.) Suppressive soils and plant disease. St. Paul: APS Press, 1982. 234p.
- Singleton, L.L.; Mihail, J.D.; Rush, C.M. (Eds.) Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. St. Paul: APS Press, 1992. 265p.
- Sneh, B.; Jabaji-Hare, S.; Neate S.; Dijst, G. (Eds) *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular, biology, ecology, pathology and disease control. Dordrecht: Kluwer, 1996. p.65-71.
- Souza Dias, J.A.C.; Iamauti, M.T. Doenças da batateira (*Solanum tuberosum* L.). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Resende, J.A.M. (Eds.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. v.2, p.137-264.
- Subbarao, K.V.; Koike, S.T.; Hubbard, J.C. Effects of deep plowing on the distribution na density of *Sclerotinia minor* sclerotia and lettuce drop incidence. Plant Disease 80: 28-33, 1996.
- Summer, D.R. Cultural management. In: Campbell, C.L.; Benson, D.M. (Eds.) Epidemiology and management of root diseases. Berlin. Springer-Verlag. 1994. p.309-333.
- Thurston, H.D. Sustainable practices for plant disease management in traditional farming systems. Boulder: Westview Press, 1992. 263p.
- Thurston, H.D. Tropical plant diseases. 3<sup>rd</sup> ed. St. Paul: APS Press, 1998. 200p.
- Vale, F.X.R.; Zambolim, L.; (Eds.) Controle de doenças de plantas – grandes culturas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 2v, 1.128p.
- Vanderplank, J.K. Plant diseases: epidemics and control. New York: Academic Press, 1963. 349p.
- Viana, F.M.P.; Souza, N.L. Efeito da temperatura e da tensão de água do substrato na germinação de microescleródios de *Macrophomina phaseolina*. Summa Phytopathologica 23: 236-239, 1997.
- Watson, A.G.; Ford, E.J. Soil fungistasis - a reappraised. Annual Review of Phytopathology 10: 327-348, 1972.

- Whitehead, A.G. Migratory endoparasites of roots and tubers (*Hirschmanniella*, *Pratylenchus*, *Radopholus* and *Scutellonema*). In: Whitehead, A.G. (Ed.) Plant nematode control. Wallingford: CAB International, 1998. p.108-145.
- Zambolim, L.; Vale, F.X.R. Controle integrado de doenças de plantas. In: Torres, J.B.; Michereff, S.J. (Eds.) Desafios do manejo integrado de pragas e doenças. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000. p.193-247.
- Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Costa, H. (Eds.) Controle de doenças de plantas – hortaliças. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 2v, 877p.

# BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS E BIOCONTROLE DE DOENÇAS

ELINEIDE BARBOSA DA SILVEIRA

## INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da agricultura moderna, atualmente mais de 1.600 pesticidas estão no mercado e o seu uso continua em crescimento, em função do aumento da área cultivada e, conseqüentemente, do controle de doenças, pragas e ervas daninhas. Embora o uso de pesticidas, sem dúvida, tenha contribuído para o aumento da produtividade, criou também sérios problemas nos ecossistemas, incluindo o amplo acúmulo de resíduos com danos ao homem, à vida selvagem, à piscicultura, a insetos e aos microrganismos benéficos. Assim, o grande desafio da agricultura mundial é aumentar a produção das culturas e diminuir a poluição ambiental. Nesse contexto, as bactérias promotoras de crescimento de plantas surgem como uma alternativa potencial para auxiliar a atingir esse objetivo.

Bactérias com capacidade de promover o crescimento de plantas são mundialmente conhecidas como Plant Growth-Promoting Rhizobacteria - PGPR (Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas), sendo definidas como bactérias que colonizam raízes de plantas e promovem um aumento no desenvolvimento e na produção do hospedeiro, devido a promoção de crescimento (efeito direto) ou biocontrole de doenças e pragas (efeito indireto). Bashan & Holguin (1998) propuseram uma nova terminologia para melhor classificar essas bactérias. O termo rizobactérias seria substituído por bactérias, uma vez que nem todas as bactérias colonizam a raiz, surgindo duas novas denominações: "biocontrol plant growth-promoting bacteria - biocontrol-PGPB" (bactérias promotoras de crescimento de plantas biocontroladoras) e "plant growth-promoting bacteria-PGPB" (bactérias promotoras de crescimento de plantas). No entanto, essa terminologia ainda não vem sendo utilizada pela maioria da comunidade científica, embora represente bem a atual compreensão do potencial dessas bactérias.

As PGPR podem ser tanto bactérias epifíticas como endofíticas. Bactérias epifíticas são encontradas na superfície de órgãos vegetais, onde sobrevivem em locais protegidos utilizando exsudatos e nutrientes de fontes externas, sem causar doença. Bactérias endofíticas são aquelas que podem ser isoladas de tecidos vegetais desinfestados ou extraídas de dentro da planta e não causam prejuízo visível a mesma (Hallmann *et al.*, 1997). Bactérias epifíticas e endofíticas fazem parte da população residente da planta.

Os principais efeitos observados na promoção de crescimento das plantas são aumento da taxa de germinação, crescimento das raízes, crescimento de colmos ou caules, aumento do número de folhas e área foliar, crescimento de tubérculos, aumento de flores e aumento de rendimento. As PGPR biocontroladoras atuam no crescimento, infectividade, virulência e agressividade do patógeno, bem como nos processos de infecção, desenvolvimento de sintomas e reprodução.

## **CARACTERÍSTICAS DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS E EPIFÍTICAS**

A população de microrganismos em raízes, folhas, frutos e ramos tem variações quantitativas e qualitativas de acordo com a fase do ciclo vegetativo. Essas variações são resultado do efeito diferencial da interação do ambiente físico, químico e biológico sobre cada organismo componente do meio (Valdebenito-Sanhueza, 1997). As bactérias são as primeiras colonizadoras dos tecidos vegetais e os fungos leveduriformes e filamentosos aumentam à medida que as culturas se aproximam da maturação e senescência (Fokkema, 1988).

### **Bactérias epifíticas**

As bactérias epifíticas são encontradas principalmente na superfície de raízes, folhas, frutos e sementes, sendo facilmente isoladas desses habitats. Não causam prejuízo visível à planta e são utilizadas na promoção de crescimento de plantas e biocontrole de doenças.

Os principais gêneros e espécies de bactérias epifíticas envolvidos na promoção de crescimento de plantas ou biocontrole são *Pseudomonas* spp. do grupo fluorescente, *Bacillus* spp. e *Streptomyces* spp.

A colonização de bactérias epifíticas na raiz, compreende as etapas de migração em direção às raízes, aderência, distribuição ao longo das raízes, crescimento e estabelecimento da população. A colonização é um processo ativo pelo qual as bactérias sobrevivem à inoculação nas sementes ou nas

raízes, multiplicam-se na espermosfera em resposta aos exsudatos das sementes, associam-se com a superfície das raízes e colonizam o sistema radicular em desenvolvimento, no solo.

### **Bactérias endofíticas**

As bactérias endofíticas, em geral, são originadas de comunidades bacterianas epifíticas do rizoplane e filoplane, bem como, de populações endofíticas principalmente de sementes ou material propagativo. Mais de 129 espécies bacterianas representando cerca de 54 gêneros já foram encontradas colonizando endofiticamente estruturas vegetais, destacando-se os gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter* e *Agrobacterium* (Hallmann *et al.*, 1997).

Essas bactérias penetram nas plantas através das sementes, aberturas naturais (hidatódios, lenticelas, etc.), ferimentos que naturalmente ocorrem como resultado do crescimento da planta (emergência de raízes laterais), ferimentos em geral induzidos por fatores bióticos (fungos, nematóides, insetos) e abióticos (manejo da cultura, variações extremas de temperatura, transplante, etc.) e ativamente pela produção de enzimas hidrolíticas (celulase e pectinase).

Após atravessar a barreira da endoderme, as endofíticas podem colonizar todos os tecidos da planta (Agarwal & Shende, 1987). A colonização pode ser localizada, penetrando nos espaços intercelulares da epiderme e córtex da raiz, ou sistêmica, penetrando na raiz e colonizando até a parte aérea da planta através dos vasos condutores ou apoplasto. Poucos relatos demonstram a colonização localizada intracelular no córtex da raiz de bactérias endofíticas. A colonização parece ser um fenômeno natural e os principais gêneros de bactérias endofíticas já foram detectados em vários órgãos da planta tais como: caules (McInroy & Kloepper, 1994); raízes (Agarwal & Shende, 1987; McInroy & Kloepper, 1994); sementes (Fisher *et al.*, 1992) e túberas (Sturz, 1995).

A bactéria endofítica deverá penetrar e colonizar eficazmente a hospedeira. Existem várias formas de demonstrar esta colonização, como: coloração de colônias por imunofluorescência (Mahafee *et al.*, 1994) e visualização das bactérias no interior das plantas pelo uso do microscópio eletrônico ou pela combinação da microscopia com imunologia. Além desses métodos, também podem ser utilizadas as técnicas de ELISA e hibridação de ácido nucleico (Quadt-Hallmann *et al.*, 1997).

Tanto as bactérias epifíticas quanto as endofíticas podem ser transmitidas de uma planta à outra através das sementes ou material propagativo. A



comunidade bacteriana epifítica e endofítica é influenciada por fatores bióticos e abióticos que compõem o seu nicho ecológico, estando a população endofítica mais protegida do que a epifítica, o que confere a endofítica vantagem ecológica sobre a epifítica (Quadt-Hallmann *et al.*, 1997). Fatores abióticos, tais como temperatura, umidade, solo, radiação, pH, cargas de superfície, pressão parcial de gases, íons e elementos, bem como compostos de carbono, variam com o tempo e espaço, interagem entre si e podem afetar diretamente as bactérias ou afetar o hospedeiro e, dessa forma, indiretamente a comunidade bacteriana. A população epifítica bacteriana aumenta quando ocorrem longos períodos de molhamento da parte aérea e alta umidade relativa no ambiente das plantas (Fokkema, 1988). Com relação aos fatores bióticos, as características do hospedeiro, a presença de patógenos e outros microrganismos associados à planta (interações microbianas) e, nematóides e pragas podem também influenciar a população de epifíticas e endofíticas. Os pesticidas utilizados no campo também causam modificações na composição da microflora, uma vez que afetam a sobrevivência e desenvolvimento da população de patógenos, a população natural dos antagonistas e ainda o estabelecimento de agentes de promoção de crescimento e biocontrole.

## **ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS EPIFÍTICAS E ENDOFÍTICAS**

O isolamento de PGPR epifíticas e endofíticas pode ser realizado de diversas estruturas da planta, tais como raiz, caule, folha, flor, fruto e semente. As bactérias devem ser isoladas preferencialmente do hospedeiro e no ambiente em que vão ser utilizadas para promoção de crescimento e biocontrole, embora sabe-se que bactérias isoladas de certos hospedeiros são capazes de exercer promoção de crescimento e biocontrole em outros.

A época de amostragem e, portanto, o estágio fisiológico das estruturas vegetais estudadas pode influir na composição da microflora epifítica e endofítica. O monitoramento da ocorrência dos microrganismos nas culturas durante todo o seu desenvolvimento poderá auxiliar na seleção de organismos com potencial antagonístico aos patógenos e com adaptação aos sítios de infecção durante os estádios mais suscetíveis da cultura.

Para isolar bactérias epifíticas, ou seja, aquelas presentes na superfície da planta, os métodos incluem agitação das amostras em água ou homogeneização dos tecidos, podendo-se ou não fazer a desinfestação prévia do material. Na literatura existem diversos protocolos para isolamento de bactérias epifíticas, como o descrito abaixo por Mariano *et al.* (2000b):

1. Remover fragmentos de órgão sadio da planta (folha, caule, ramo, semente, fruto, raiz, etc.) e lavar com água corrente;

2. Transferir para tubos de ensaio contendo 10 mL de água de torneira esterilizada (ATE) ou solução salina e submeter a banho de ultra-som por 10 minutos, na potência 10 (aproximadamente 40Kz);
3. A partir da suspensão assim obtida, efetuar diluições em série, utilizando-se tubos de ensaio com 4,5 mL de água destilada esterilizada (ADE), até a diluição  $10^{-2}$ ;
4. Plaquear em meio de cultura adequado (meio de King B- KMB para *Pseudomonas* spp. fluorescentes ou batata dextrose ágar- BDA, ágar nutritivo- AN, ágar nutritivo-dextrose-levedura-NYDA, Trypict Soy Agar- TSA para bactérias eutróficas) 0,1 mL das suspensões  $10^0$ ,  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ , com três repetições cada, efetuando o espalhamento com alça de Drigalski;
5. Após 48-72 horas de incubação, em condições de laboratório, repicar as colônias bacterianas, apresentando características morfológicas diferentes dentro de uma mesma amostra, para meio adequado, pelo método de estrias, visando obtenção de colônias puras;
6. Transferir as bactérias para tubos de ensaio com meio adequado, para posterior uso.

Várias técnicas têm sido empregadas para o isolamento de bactérias endofíticas, e em todas, a desinfestação superficial do material é imprescindível e deve ser realizada exaustivamente, até que seja comprovada pelo teste de esterilidade. Os tecidos de plantas podem ser desinfestados com hipoclorito de sódio (Quadt-Hallmann *et al.*, 1997), etanol (Dong *et al.*, 1994), peróxido de hidrogênio (McInroy & Kloepper, 1994), cloreto de mercúrio (Sriskandarajah *et al.*, 1993), ou a combinação de dois ou mais destes, seguida de várias lavagens em água esterilizada ou solução tampão. Dependendo da espécie de planta, idade, e partes da planta (raiz, caule, folha ou semente), a concentração do desinfetante pode variar e necessita ser otimizada para cada situação. Outra adaptação da técnica de desinfestação envolve imersão do tecido em etanol e flambagem da superfície (Dong *et al.*, 1994). Seguida a desinfestação, podem ser utilizadas várias técnicas para isolamento de endofíticas, tais como: trituração de qualquer estrutura vegetal em água esterilizada, soluções tampões ou meio líquido, podendo o material ser submetido ao ultra-som; extração à vácuo ou pressão para isolamento de bactérias presentes nos vasos ou espaços intercelulares adjacentes, sendo utilizada principalmente para isolamento de bactérias de raízes e caules de plantas perenes e; centrifugação para coleta de fluido intercelular e vascular de tecidos de plantas (Quadt-Hallmann *et al.*, 1997). Para qualquer uma das técnicas utilizadas, a suspensão obtida pode ser diluída e plaqueada em meio de cultura adequado. Para comprovar a eficiência da desinfestação, o teste de esterilidade pode consistir na imersão de raízes em caldo nutritivo,

plaqueamento da solução final de lavagem em meio de cultura apropriado ou impressão do tecido de planta desinfestado sobre o meio de cultura. Se o teste de esterilidade for positivo, não se deve utilizar as bactérias isoladas, por não se ter certeza de sua característica de endofítica (McInroy & Kloepper, 1994). A seguir são mostrados dois protocolos para isolamento de bactérias endofíticas.

Protocolo 1 (Mariano *et al.*, 2000b):

1. Remover fragmentos de órgão sadio da planta (folha, caule, ramo, semente, fruto, raiz, etc.), tratar com álcool a 50%, por 30 segundos e hipoclorito de sódio (NaClO) a 0,7%, por três minutos, lavar duas vezes com ADE;
2. Transferir para tubos de ensaio contendo 10 mL de ATE pH = 0,7 e submeter a banho de ultra-som por 10 minutos, na potência 10 (aproximadamente 40Kz);
3. Macerar os fragmentos em 10 mL de ATE ou solução salina e novamente submeter a banho de ultra-som por 10 minutos;
4. A partir da suspensão assim obtida, efetuar diluições em série, utilizando-se tubos de ensaio com 4,5 mL de ADE, até a diluição  $10^{-2}$ ;
5. Plaquear em meio de cultura adequado (Meio KMB para *Pseudomonas* spp. fluorescentes ou BDA/NA/NYDA/TSA para bactérias eutróficas) 0,1 mL das suspensões  $10^0$ ,  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ , com três repetições cada, efetuando o espalhamento com alça de Drigalski;
6. Plaquear em meio adequado 0,1 mL da suspensão proveniente da lavagem dos fragmentos após o primeiro banho de ultra-som, para comprovar a ausência de organismos epifíticos (teste de esterilidade);
7. Após 48 horas de incubação, em condições de laboratório, repicar as colônias bacterianas, apresentando características morfológicas diferentes dentro de uma mesma amostra, para meio adequado, pelo método de estrias, visando obtenção de colônias puras;
8. Transferir as bactérias para tubos de ensaio com meio adequado, para posterior uso

Protocolo 2 (Pillay & Novak, 1997):

1. Desinfestar raízes e caules em hipoclorito de sódio 1% + 0,05% triton X-100 (v/v) por 1 minuto (raízes) ou 2 minutos (caules), lavar duas vezes com ADE, submergir por 30 segundos (raízes) ou 1 minuto (caules) em  $H_2O_2$  15% e lavar duas vezes com ADE;

2. Homogeneizar os tecidos com triturador em 10 mL de sulfato de magnésio 0,1 M (MgSO<sub>4</sub>) (pH 6,5);
3. A partir da suspensão assim obtida, efetuar diluições em série, e plaquear alíquotas de 20 µl em meio KMB;
4. Incubar as placas em temperatura ambiente por 48 horas e determinar o número de unidades formadoras de colônias por grama de tecido fresco (ufc/g);
5. Para o teste de esterilidade, plaquear pedaços de raízes e caules esterilizados, bem como alíquotas da última água de lavagem em meio KMB.

O meio de cultura utilizado para isolamento está relacionado à finalidade do trabalho e pode ter efeito diferencial na população obtida. Os meios de cultura mais utilizados para isolamento de bactérias epifíticas e endofíticas são: TSA para isolamento de bactérias totais; KMB para bactérias do gênero *Pseudomonas* do grupo fluorescente e; BDA para as espécies de *Bacillus*.

As condições de armazenamento das amostras podem afetar quantitativamente e qualitativamente as estimativas da população epifítica e endofítica. As amostras, de maneira geral, devem ser incubadas em condições ambientais ou em temperatura controlada, em torno de  $25 \pm 3$  °C.

A população microbiana pode ser estimada pela contagem de colônias crescidas na superfície do meio de cultura, após considerar o fator diluição, e relacionada ao peso ou superfície de segmentos dos órgãos vegetais, expressando-se em número de unidades formadoras de colônias por grama de tecido ou cm<sup>2</sup> da amostra (ufc/g ou ufc/ cm<sup>2</sup>). Em geral, a média da densidade populacional de bactérias endofíticas varia de  $1 \times 10^3$  e  $1 \times 10^5$  ufc/g de tecido, com maiores densidades observadas nas raízes e decrescendo do caule para as folhas (Lamb *et al.*, 1996; Quadt-Hallmann & Kloepper, 1996). A identificação poderá ser baseada em um conjunto de testes bioquímicos e nutricionais realizados de maneira usual, ou através de sistemas de identificação como o Biolog® (Bochner, 1989) ou ácidos graxos (Sasser, 1990). Em geral, espécies Gram-negativas predominam em relação as Gram positivas.

No isolamento de PGPR biocontroladoras, estas devem ser isoladas preferencialmente de locais onde: a) o patógeno é incapaz de se estabelecer ou, se está presente não causa doença; b) o potencial do patógeno diminui com monocultura contínua; c) o hospedeiro e parasita são nativos; d) suspeita-se da presença de antagonistas e; e) preferencialmente do hospedeiro e no ambiente em que vai ser utilizado (Bettiol, 1991).

## **BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS**

Bactérias promotoras de crescimento de plantas (efeito direto) têm sido estudadas e aplicadas com muito sucesso. Na China, onde são conhecidas como bactérias que aumentam o rendimento (YIB- yield increasing bacteria) estas bactérias em 1987 já eram aplicadas em larga escala, em 48 diferentes culturas, atingindo 3,35 milhões de hectares (Wenha & Hetong, 1997). Nesse país, têm sido obtidos aumentos significativos de rendimento para diversas culturas tais como tomate e pimentão (10%), batata-doce (23%), hortaliças folhosas (15%), hortaliça de raízes, (20%), melancia (15,5%) e beterraba (16,9%) (Zhang *et al.*, 1996).

### **Mecanismos para promoção de crescimento**

Os principais mecanismos que têm sido propostos para as PGPR de ação direta no crescimento das plantas são: produção de ácido cianídrico (HCN), fitohormônios e enzimas, mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos e fixação de nitrogênio.

#### **Ácido Cianídrico (HCN)**

O HCN produzido pelas PGPR promove o crescimento das plantas pelo aumento do desenvolvimento dos pelos radiculares (Luz, 1996). As *Pseudomonas* do grupo fluorescentes são importantes microrganismos produtores de HCN.

### **Produção de fitohormônios**

A produção bacteriana de hormônios vegetais tem sido encontrada em algumas PGPR. Esses hormônios desempenham funções importantes no crescimento de plantas, como o desenvolvimento da parte aérea, aumento do crescimento das raízes e número de pêlos absorventes (Luz, 1996; Cattelan, 1999). Estudos evidenciaram que *Pseudomonas fluorescens* produz auxina e *Pseudomonas putida* sintetiza particularmente a auxinas denominada ácido indol-3-acético (Boroni *et al.*, 1993). *Bacillus subtilis* e *Azotobacter chroococum* produzem giberelinas, enquanto *Azotobacter brasiliense* é capaz de promover aumento no número de pêlos absorventes e raízes laterais em milho através da produção de ácido indol acético (AIA), giberelinas e citocininas (Luz, 1996).

### **Enzimas**

Para a maioria dos vegetais o etileno quebra a dormência e estimula a germinação de sementes (Esashi, 1991), porém se a concentração desse hormônio após a germinação for muito alta, o alongamento das raízes assim como a fixação simbiótica do nitrogênio em plantas leguminosas podem ser inibidos (Jackson, 1991). Algumas bactérias utilizam o composto 1-aminociclopropano-carboxilato (ACC) como única fonte de nitrogênio, através da ação da enzima ACC deaminase produzida por elas. Sabe-se que o composto ACC é o precursor imediato de etileno, e o sequestro e hidrólise desse composto nas sementes em germinação pela enzima ACC deaminase produzida pela PGPR diminui a concentração de etileno nas sementes e consequentemente pode estimular o crescimento vegetal e o comprimento das raízes (Glick *et al.*, 1995). Glick (2000) observou que isolados de *Pseudomonas* que produziam ACC deaminase desempenham várias funções na promoção de crescimento de plantas, como desenvolvimento precoce de raízes, aumento do tempo de corte de flores, proteção de plantas contra estresses ambientais e produção de compostos voláteis responsáveis por aroma.

### **Mineralização de nutrientes**

A mineralização de nutrientes é um processo de substituição, no solo, dos constituintes orgânicos por inorgânicos. Algumas PGPR podem, através da mineralização, prover a elevação da disponibilidade de nutrientes tais como fósforo e ferro, aumentando o crescimento da planta pelo estímulo da absorção desses elementos.

### Solubilização de fosfatos

Íons de nutrientes se movem no solo em direção às raízes por fluxo de massa com a água presente no solo e por difusão. Esses nutrientes nem sempre estão prontamente disponíveis às plantas: o fósforo, por exemplo, encontra-se no solo combinado em compostos de ferro, alumínio, cálcio e na matéria orgânica, sendo de baixa solubilidade. Vários grupos de microrganismos que vivem na rizosfera são capazes de extrair e solubilizar o fósforo, causando elevação da disponibilidade deste nutrientes, destacando-se certas PGPR que promovem o crescimento de plantas por estímulo à absorção desse elemento. Na solubilização de fosfatos por microrganismos os principais mecanismos envolvidas são a produção de  $\text{CO}_2$  e ácidos orgânicos, resultantes da mineralização do C inorgânico, exercendo ação solubilizadora direta sobre os fosfatos inorgânicos; redução de compostos de  $\text{Fe}^{3+}$  para compostos  $\text{Fe}^{2+}$ , uma vez que o  $\text{Fe}^{2+}$  é mais solúvel e facilmente assimilável pelas raízes e; produção de  $\text{H}_2\text{S}$  sob baixas concentrações de  $\text{O}_2$ , que em condições redutoras favorece a solubilização de fosfatos de ferro (Siqueira & Franco, 1988; Cattelan, 1999). Jiang & Sato (1994) estudando bactérias rizosféricas de trigo, observaram que existia correlação linear positiva entre o crescimento das plantas e o número de bactérias solubilizadoras de fósforo, quando estavam presentes espécies de *Pseudomonas* do grupo fluorescente.

### Fixação de nitrogênio

Um número reduzido de bactérias possui a capacidade de fixação biológica de nitrogênio simbioticamente, como *Rhizobium* spp. e *Bradyrhizobium* spp., ou assimbioticamente, como *Azospirillum* spp. e *Azotobacter* spp., e teoricamente essas bactérias podem fornecer parte do nitrogênio que as plantas necessitam para seu desenvolvimento. Na área de fixação biológica de nitrogênio, alguns trabalhos têm indicado a importância do estudo de bactérias endofíticas. Muitas das novas bactérias fixadoras de  $\text{N}_2$ , tais como *Acetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum* sp., isoladas de culturas diversas (cana-de-açúcar, batata doce, sorgo), não foram isoladas do solo e podem ser consideradas endofíticas de plantas. O gênero *Frankia* constitui o único actinomiceto endofítico simbiótico que realiza o processo de fixação do nitrogênio em plantas não leguminosas, e tem sua importância restrita a regiões dos trópicos e subtropicais. Benson & Silvester (1993) demonstraram o papel relevante deste gênero como fixador de nitrogênio através de nódulos das raízes de certas plantas não leguminosa como *Alnus*, *Myrica* e *Casuarina*.

Vários métodos para determinação quantitativa da maioria das características bioquímicas e fisiológicas dos mecanismos de ação das bactérias promotoras de crescimento de plantas podem ser encontrados na literatura, dentre as quais pode-se indicar o manual "Métodos qualitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal" de Cattelan (1999) e "Manual de práticas em fitobacteriologia" de Mariano (2000).

### **Seleção de bactérias para promoção de crescimento de plantas**

A seleção de PGPR pode ser realizada em laboratório com plantas micropropagadas, em casa de vegetação e no campo. A inoculação é geralmente realizada por tratamento de sementes e órgãos de propagação vegetativa, ou infestação de substratos. A utilização de agentes bacterianos nesses processos é chamado bacterização (Brown, 1974). A bacterização de sementes é considerado o método mais econômico, prático e rápido e, segundo Musson *et al.* (1995), é muito eficiente para a introdução de endofíticas.

Na seleção deve ser testado o maior número possível de bactérias, para aumentar as chances de sucesso, bem como os experimentos devem ser repetidos para que tenham confiabilidade. Pode-se também realizar a bacterização conjunta de sementes e substrato. A avaliação da promoção de crescimento pode ser realizada em plântulas ou plantas adultas no final da produção. As variáveis a serem analisadas podem ser: germinação, comprimento das raízes, altura da planta, número de folhas, área foliar, diâmetro de caule, peso fresco e seco da raiz e parte aérea, bem como, vigor vegetativo, maturação de grãos, teores de proteínas, aminoácidos totais, lisina, fibra, açúcar e óleo.

Podem ser utilizados diversos métodos para seleção de bactérias promotoras de crescimento de plantas, como os descritos por Mariano *et al.* (2000c).



#### • Bacterização da semente

1. Preparar suspensão das bactérias a testar ( $0,52 A$  ou  $10^8$  ufc/ml) a partir de cultura pura com 24-48 h em meio adequado. Se as bactérias produzirem sideróforos utilizar meio pobre em ferro (KMB);
2. Imergir as sementes (no mínimo 100 sementes por tratamento) na suspensão bacteriana adicionada de um espalhante adesivo (Tween 80 a 0,05% ou  $MgSO_4$  a 0,1 M) por 30 min. Tratar a testemunha com ADE;
3. Retirar as sementes e espalhar para secagem sobre papel toalha “overnight” (12 h);
4. Plantar em substrato adequado contido em bandejas de poliestireno, etiquetando os diversos tratamentos e colocar em casa de vegetação;
5. Observar a velocidade de emergência e porcentagem de germinação para cada tratamento;
6. No momento do transplante avaliar ainda as variáveis: altura da planta (colo até meristema apical), comprimento da raiz, peso seco da parte aérea e da raiz, número de folhas e área foliar;
7. Submeter os dados à análise estatística de agrupamento para escolher os melhores tratamentos dando continuidade ao estudo, agora já observando as plantas até estágios mais avançados de crescimento, se possível, até a frutificação.

#### • Bacterização do substrato

1. Preparar suspensão das bactérias a testar ( $0,52 A$  ou  $10^8$  ufc/ml) a partir de cultura pura com 24-48 h em meio adequado. Se as bactérias produzirem sideróforos utilizar meio pobre em ferro (KMB);
2. Adicionar as suspensões bacterianas ao substrato próprio contido em bandejas de poliestireno, 5 mL por célula da bandeja, etiquetando os diversos tratamentos. Não precisa utilizar espalhante adesivo. Ao utilizar a mesma bandeja para tratamentos (bactérias) diferentes, ter cuidado no manuseio da suspensão e deixar no mínimo duas fileiras de células vazias entre tratamentos. As bandejas devem ter sido previamente desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (0,7%). Colocar as bandejas em casa de vegetação. Tratar a testemunha com ADE;
3. Plantar as sementes (no mínimo 100 sementes por tratamento) no substrato bacterizado imediatamente ou 3 dias após a bacterização;
4. Observar a velocidade de emergência e porcentagem de germinação para cada tratamento;

- 5.No momento do transplante avaliar ainda as variáveis: altura da planta (colo até meristema apical), comprimento da raiz, peso seco da parte aérea e da raiz, número de folhas e área foliar;
- 6.Submeter os dados à análise estatística de agrupamento para escolher os melhores tratamentos dando continuidade ao estudo, agora já observando as plantas até estágios mais avançados de crescimento, se possível, até a frutificação.

## **BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS POR BIOCONTROLE**

Controle biológico pode ser definido como a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem (Cook & Baker, 1983). Este é um conceito amplo que abrange muito mais que a utilização de antagonistas, na realidade inclui qualquer controle obtido através de uma sistema vivo, exceto o homem. No entanto, o controle biológico é utilizado principalmente com o significado de controle de um organismo por outro organismo. Ambos os conceitos envolvem a redução da densidade populacional do patógeno, a proteção biológica da superfície de plantas e o controle dentro da planta. Embora o foco do controle biológico seja o patógeno, o objetivo do controle biológico de patógenos é a supressão dos prejuízos econômicos que eles causam, ou seja da doença.

Microrganismos são considerados como ideais para uso no controle biológico quando possuem uma ou mais das seguintes características (Bettiol, 1991):

- Boa capacidade de colonização (exceto para aqueles que induzem resistência sistêmica) e competitividade no ambiente do patógeno;
- Requerimentos nutricionais semelhantes aos patógenos-alvo;
- Adaptação ao meio ambiente do patógeno;
- Resistência a fatores ambientais como temperatura, dessecação, radiação, químicos;
- Fácil cultivo ou multiplicação, aplicação e formulação;
- Não ser patogênico ao homem ou animais;
- Não ser fitopatogênico virulento;
- Capacidade de atuar em diferentes plantas hospedeiras e amplo espectro de ação, contra diferentes patógenos;
- Compatibilidade com agrotóxicos para uso em controle integrado e com outros antagonistas para uso em misturas;

- Boa sobrevivência, persistência e capacidade de redistribuição e;
- Baixa frequência de mutações.

Diversos gêneros e espécies compõem o grupo de PGPR que atuam por biocontrole, tendo destaque os isolados de *Pseudomonas* do grupo fluorescente, *Bacillus* e *Streptomyces*. A capacidade destas rizobactérias de colonizarem o sistema radicular é de fundamental importância para o seu uso efetivo como agentes de biocontrole.

Bactérias endofíticas utilizadas no biocontrole de doenças apresentam como principais vantagens, possuírem nicho ecológico similar ao do patógeno e estarem protegidas das diversas influências abióticas. O tratamento de sementes é o método mais comum de aplicação destes antagonistas (Hallmann *et al.*, 1997).

Os fitopatógenos são controlados pela ação de medidas que atuam destruindo os propágulos, prevenindo a formação do inóculo ou destruindo o inóculo presente em resíduos infestados, reduzindo o vigor e a virulência do patógeno,

assim como promovendo o desenvolvimento das plantas.

As estratégias de biocontrole de doenças de plantas fazem parte de um manejo integrado constituído por medidas que visam a diminuição da densidade populacional do patógeno, não apenas através do uso de microrganismos antagonísticos, mas também pelo uso de métodos culturais que forneçam ambiente favorável ao desenvolvimento dos antagonistas.

## **Mecanismos de biocontrole**

Os mecanismos de biocontrole são as interações antagonísticas através das quais os antagonistas ativamente expressam oposição aos patógenos e reduzem a ocorrência das doenças. Na maioria dos casos, os antagonistas são empregados com sucesso, como agentes de biocontrole sem, no entanto, haver o conhecimento dos mecanismos de ação envolvidos, os quais são de fundamental importância, quando se deseja empregar métodos racionais de melhoramento genético e aumentar a vantagem competitiva no ambiente (Melo, 1996). Os principais mecanismos que podem atuar no controle biológico de doenças são classificados em: produção de ácido cianídrico (HCN), antibióticos, bacteriocinas, competição por substrato, parasitismo, indução de resistência e proteção cruzada.

### **Ácido Cianídrico (HCN)**

A produção do metabólito volátil HCN por PGPR além de ser um mecanismo de ação direta de promoção de crescimento de plantas, é considerado principalmente um mecanismo de biocontrole. Défago *et al.* (1990) apresentaram evidências de que o HCN é benéfico para o controle microbiológico. Eles estudaram o sistema *P. fluorescens* x *Thielaviopsis* em fumo causando supressão da podridão preta das raízes. Nehl *et al* (1996) verificaram que um isolado com alta produção de HCN, mutante construído a partir de *P. putida* BK8661, resultou num pequeno, mais significativo, aumento na supressão dos sintomas causados por *Septoria tritici* e *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* em trigo sob condições axênicas.

### **Antibiose**

É a interação entre organismos, na qual um ou mais metabólitos produzidos por um organismo têm um efeito danoso sobre o outro, inibindo a germinação e crescimento ou inativando a célula por toxicidade química. Os antibióticos são compostos orgânicos de baixo peso molecular que, em baixas concentrações, são deletérios ao crescimento ou a outras atividades metabólicas de outros organismos (Fravel, 1988). São conhecidas produtoras de antibióticos espécies de bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* fluorescentes e *Streptomyces*, entre outros (Melo, 1998). Por exemplo, *Bacillus subtilis* pode produzir os antibióticos bulbiformina, micosubtilina, bacilomicina, bacilizina, funginicina; *Pseudomonas cepacia*, os antibióticos pirolnitrina, altericidina e; *P. fluorescens*, os antibióticos pirolnitrina, pioluteorina, oomicina A, 2,4-diacetilfloroglucinol, fenazina-1-carboxilato.

*Streptomyces* é o gênero de actinomicetos mais estudado e produz cerca de 60% dos 5.000 antibióticos conhecidos. Em função do habitat de crescimento desses microrganismos, sua habilidade para colonizar superfície de raízes de plantas, e seu vasto potencial antibiótico, eles funcionam como potenciais agentes de controle biológico contra muitos patógenos de plantas economicamente importantes tais como *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Aphanomyces euteichos*, *Gaeumannomyces graminis*, *Pythium ultimum*, *Sclerotium cepivorum*, *Pyrenochaeta terrestris*, *Macrophomina phaseolina*, *Heterobasidium annosum*, *Streptomyces scabies*, *Ralstonia solanacearum* e *Pythum aphanidermatum* . Devido aos múltiplos metabólitos produzidos pelos actinomicetos e variados mecanismos de controle, esses microrganismos podem inibir ou matar patógenos resistentes a fungicidas, e ainda limitar a habilidade dos patógenos desenvolverem resistência (Roberts, 2000)

O uso de agentes de biocontrole que produzem biosurfactantes (ramnolipídeos) altamente eficientes contra zoósporos de patógenos de plantas está sendo estudado em aplicações práticas nos sistemas hidropônicos recirculantes. Controle biológico dos patógenos radiculares *P.*

*aphanidermatum*, *Phytophthora capsici* e *Plasmopara lactucae-radici* neste sistema foi alcançado, embora os resultados não tenham sido consistentes, utilizando as bactérias do grupo das *Pseudomonas* spp. fluorescentes (Stanghellini & Miller, 1997).

### **Bacteriocinas**

São substâncias contendo proteínas como principal constituinte (embora algumas sejam um nucleotídeo adenosina modificado, como por exemplo a Agrocina 84) que inibem ou são ativas contra outros isolados da mesma espécie ou espécies estreitamente relacionadas. A capacidade de produzir bacteriocinas é chamada bacteriocinogenia. A bactéria *Agrobacterium radiobacter* (estirpes K84 e K1026) produz as bacteriocinas Agrocina 84 e Agrocina 434, que são produzidas por plasmídios e são eficientes contra *Agrobacterium tumefaciens*, agente causal da galha em coroa de diversas culturas (Kerr, 1980).

### **Competição por substrato**

Envolve a interação entre dois ou mais organismos na disputa por nutrientes e por espaço, tanto na espermosfera quanto na rizosfera e filosfera. A competição por espaço se dá, principalmente, pela ocupação dos sítios de colonização e a competição por nutrientes, pelos três elementos essenciais para a maioria dos patógenos: carbono, nitrogênio e ferro (Paulitz, 1990). A competição por carbono e por nitrogênio, aparentemente, pode ocorrer com todos os grupos de PGPR. Entretanto, as bactérias do gênero *Pseudomonas* fluorescentes são os principais microrganismos que apresentam a competição pelo  $Fe^{+3}$ , realizada por sideróforos, como mecanismo de biocontrole de diversas doenças (Buysens *et al.*, 1996), tais como murcha vascular em cravo (*Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*), tombamento de plântulas em algodão (*Pythium ultimum*) e murcha do pepino (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*) (Melo, 1998). Essas bactérias produzem sideróforos, como a pioverdina, cujo nome comum é pseudobactina, que apresenta alta afinidade por  $Fe^{+3}$  e transporta esse elemento para o interior das células. Dessa maneira, os microrganismos fixam o  $Fe^{+3}$ , tornando-o menos disponível ao patógeno que é incapaz de produzir agentes similares de transporte de ferro (Alabouvet *et al.*, 1998). Sideróforos são substâncias de baixo peso molecular produzidas por alguns microrganismos em condições limitantes de ferro, com grande afinidade por íons  $Fe^{+3}$ .

### **Parasitismo**

É a interação entre dois organismos, onde um parasita o outro. O parasitismo baseia-se em enzimas líticas produzidas pela espécie parasita, que degradam a parede celular dos fungos fitopatogênicos (Luz, 1996). O parasitismo pode ocorrer sobre estruturas vegetativas, reprodutivas e de sobrevivência, reduzindo a infecção e o inóculo do patógeno.

Em fungos é chamado micoparasitismo, que pode ser necrotrófico ou biotrófico. Um micoparasita necrotrófico mata seu hospedeiro, algumas vezes sem infectá-lo, atuando através de substâncias tóxicas, enzimas que degradam a parede celular ou outros efeitos e então utiliza os nutrientes liberados pela hifa morta. Um micoparasita biotrófico obtém seus nutrientes diretamente das células vivas do fungo hospedeiro, tanto pelo crescimento em contato íntimo com esse hospedeiro quanto pela penetração e crescimento dentro deste hospedeiro. Portanto, os biotróficos afetam pouco o hospedeiro, pelo menos nos estágios iniciais de parasitismo. Isto explica porque a maioria dos exemplos de biocontrole envolvem o micoparasitismo necrotrófico. As fases do micoparasitismo envolvem localização, reconhecimento, contato, penetração e aquisição de nutrientes. A penetração pode ocorrer por pressão mecânica e/ou produção de enzimas líticas degradadoras de parede celular. *Enterobacter cloacae*, por exemplo, degrada o micélio de *Pythium* e enzimas quitinolíticas de *Serratia marcescens* podem também desempenhar um papel importante na bioproteção (Luz, 1996).

### **Indução de resistência**

É a ativação de mecanismos de defesa no hospedeiro após exposição a um microrganismo como agente indutor. Os principais mecanismos de defesa exibidos pela planta após o contato com a PGPR e a indução da resistência sistêmica são aumento da produção de PR proteínas (proteínas relacionadas a patogênese) (Zdor & Anderson, 1992), acúmulo de fitoalexinas (Hoffland & Bik, 1993; van Peer *et al.*, 1991), lignificação (Hoffland & Bik, 1993) e estímulo da atividade da peroxidase (Wei *et al.*, 1992). Os sinais podem ser etileno, ácido jasmínico, jasminatos e seus derivados, ácido salicílico, salicilatos e análogos. Esta ativação ocorre não apenas no sítio de indução mas à distância, de forma mais ou menos generalizada. Certas bactérias promovem uma resistência sistêmica generalizada, ou seja, proteção múltipla contra vários patógenos (Romeiro, 1999), como *Pseudomonas putida* 89B-27 e *Serratia marcescens* 90-166 x *Colletotrichum orbiculare*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* e *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* em pepino.

### **Proteção cruzada**

É a infecção de uma célula por um patógeno, reduzindo a possibilidade da infecção por outro patógeno relacionado ou seja, o patógeno não infecta o hospedeiro porque os sítios de infecção estão ocupados pelo isolado protetor. Inicialmente criada para as infecções virais, a proteção cruzada ou premunização pode ser utilizada para fungos e outros patógenos. Exemplo deste mecanismo é o controle da *A. tumefaciens*, agente causal da galha em coroa em diversos hospedeiros, através da *A. radiobacter*, que se liga aos sítios receptores na célula do hospedeiro tornando-os indisponíveis ao patógeno (Cook & Baker, 1983). Apesar de ocorrer a proteção cruzada, o principal mecanismo de controle da *A. radiobacter* é tido como a produção da bacteriocina.

Um biocontrolador pode exercer mais de uma forma de antagonismo, sendo esta característica desejável no controle biológico. Isolados de *Pseudomonas* fluorescentes competem por nutrientes, pelo ferro através de sideróforos, e ainda produzem antibióticos. Da mesma forma, uma única substância pode ter diversas funções como os sideróforos, que competem pelo ferro férrico ( $Fe^{+3}$ ) na rizosfera, inibindo o crescimento do patógeno e podem ainda ser considerados antibióticos, quando são tóxicos a outros organismos. Misturas de isolados também já são utilizadas visando o aumento da supressividade de doenças. Pierson & Weller (1994), dentre tantos outros pesquisadores, mostraram que combinações de várias microrganismos têm um potencial para uma maior atividade de biocontrole, quando comparado a alguns isolados aplicados individualmente, devido a interação positiva dos mecanismos de ação.

Deve-se levar em consideração também que a capacidade das PGPR de colonizarem o sistema radicular é de fundamental importância para o seu efetivo uso como agentes de biocontrole. No entanto, tem sido sugerido que uma colonização variável seja, provavelmente, uma razão para que o controle seja inconsistente (Weller, 1988). A colonização compreende uma série de passos: migração em direção às raízes, ataque, distribuição ao longo das raízes, crescimento e estabelecimento da população. Após o contato inicial, vem a fase crucial que é a manutenção ou persistência, onde a bactéria utiliza exsudatos das raízes para se multiplicar e sobreviver.

### **Seleção de bactérias para biocontrole de doenças de plantas**

O sucesso de todo programa de controle biológico está no isolamento e seleção de microrganismos antagonistas, que visam obter isolados com potencial de biocontrole em curto espaço de tempo e com baixo custo.

Na seleção de microrganismos antagonísticos podem ser utilizados isolados obtidos de coleções de culturas ou através de isolamento, sendo esta baseada

nas relações entre antagonista e patógeno em contato com o hospedeiro, inicialmente em condições controladas e, posteriormente, nas condições normais de ocorrência da doença. Estes testes *in vivo*, podem ser realizados em condições controladas em laboratório (discos de folhas, folhas destacadas, plantas micropropagadas) e casa de vegetação ou em campo, sendo o campo considerado uma etapa fundamental e definitiva para seleção. As bactérias antagonistas podem ser aplicadas através da pulverização da suspensão do antagonista, bacterização de sementes, raízes ou substrato, e aplicação mista. Uma seleção realizada inicialmente em condições de laboratório, na ausência do hospedeiro, pode, na maioria das vezes, resultar em insucesso no campo pela diferença das condições entre os dois ambientes. Na avaliação de biocontrole podem ser analisadas a incidência (porcentagem de plantas doentes, ou de suas partes, em relação a amostra ou população) e severidade da doença (porcentagem da área ou do volume do tecido coberto por sintomas da doença, em relação a área ou volume total).

A seleção depende de diversos fatores tais como: tipo de patógeno a controlar, hospedeiro no qual serão aplicados, condições ambientais, modos e períodos de aplicação do antagonista, concentração do antagonista e do patógeno, agressividade e virulência do patógeno, entre outros (Mariano *et al.*, 2000a). Dentre os diversos métodos que podem ser empregados para seleção de PGPR biocontroladoras, podem ser utilizados os descritos por Mariano *et al.* (2000a).

#### • Bacterização da semente

1. Preparar suspensão das bactérias a testar ( $0,52 A$  ou  $10^8$  ufc/ml) a partir de cultura pura com 24-48 h em meio adequado. Se as bactérias produzirem sideróforos utilizar meio pobre em ferro (KMB);
2. Imergir as sementes (no mínimo 100 sementes por tratamento) na suspensão bacteriana adicionada de um espalhante adesivo (Tween 80 a 0,05% ou  $MgSO_4$  a 0,1 M) durante 30 min. Tratar a testemunha com ADE;
3. Retirar as sementes e espalhar para secagem sobre papel toalha “overnight” (12 h);
4. Plantar em substrato adequado contido em bandejas de poliestireno, etiquetando os diversos tratamentos e colocar em casa-de-vegetação;
5. Transplantar as plântulas para vasos contendo solo natural que: i) já deverá ter sido infestado com o patógeno 3 dias antes (10 mL da suspensão  $10^8$  ufc/ml por cova de plantio); ii) será inoculado no momento do transplante colocando-se 10 mL de suspensão sobre o substrato, 2 h antes do transplante, ou; iii) colocando-se 5 mL de suspensão sobre a plântula dentro da cova de plantio, no momento do transplante;



6. Observar diariamente o surgimento dos sintomas, avaliando incidência e severidade da doença;
7. Submeter os dados à análise estatística de agrupamento para escolher os melhores tratamentos dando continuidade ao estudo, em condições de campo.

#### • Bacterização do substrato

1. Preparar suspensão das bactérias a testar ( $0,52 \times 10^8$  ufc/ml) a partir de cultura pura com 24-48 h em meio adequado. Se as bactérias produzirem sideróforos utilizar meio pobre em ferro (KMB);
2. Adicionar as suspensões bacterianas ao substrato para sementeira contido em bandejas de poliestireno, 5 mL por célula da bandeja, etiquetando os diversos tratamentos. Não precisa utilizar espalhante adesivo. Ao utilizar a mesma bandeja para tratamentos (bactérias) diferentes, ter cuidado no manuseio da suspensão e deixar no mínimo duas fileiras de células vazias entre tratamentos. As bandejas devem ter sido previamente desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (0,7%). Colocar as bandejas em casa de vegetação. Tratar a testemunha com ADE;
3. Plantar as sementes no substrato bacterizado imediatamente ou 3 dias após a bacterização;
4. Transplantar as plântulas para vasos contendo solo natural que: i) já deverá ter sido infestado com o patógeno 3 dias antes (10 mL da suspensão  $10^8$  ufc/ml por cova de plantio); ii) será inoculado no momento do transplante colocando-se 10 mL de suspensão sobre o substrato, 2 h antes do transplante, ou; iii) colocando-se 5 mL de suspensão sobre a plântula dentro da cova de plantio, no momento do transplante;
5. Observar diariamente o surgimento dos sintomas, avaliando incidência e severidade da doença;
6. Submeter os dados à análise estatística de agrupamento para escolher os melhores tratamentos dando continuidade ao estudo, agora já observando as plantas até estágios mais avançados de crescimento, se possível, até a frutificação.

Observação: os procedimentos acima poderão ser adaptados dependendo do tipo mais adequado de inoculação do patógeno e manejo do hospedeiro. Os dois métodos são utilizados, principalmente para patógenos que causam doenças radiculares.

#### • Pulverização do antagonista

1. Preparar suspensão das bactérias a testar ( $0,52 A$  ou  $10^8$  ufc/ml) a partir de cultura pura com 24-48 h em meio adequado. Se as bactérias produzirem sideróforos utilizar meio pobre em ferro (KMB);
2. Pulverizar esta suspensão na parte aérea das plantas em estudo que serão posteriormente inoculadas, também por pulverização com o patógeno. O período que antecede a inoculação é de geralmente 3 dias para que o antagonista possa se estabelecer e iniciar a colonização. No entanto, podem ser testados vários períodos para escolha do mais adequado;
3. Observar diariamente o surgimento dos sintomas, avaliando incidência e severidade da doença;
4. Os dados obtidos pela comparação com a testemunha não tratada porém inoculada (testemunha relativa) servirão de escolha dos melhores antagonistas.

Observação: este método é utilizado para testar antagonistas contra patógenos que causam doenças em parte aérea de plantas.

Uma vez selecionados os antagonistas, cujo biocontrole deverá ser confirmado pela repetibilidade dos resultados dos testes, os seus mecanismos de ação devem ser analisados através de testes em laboratório, seguindo-se os estudos de formulação para a comercialização. A vantagem seletiva competitiva de um agente de biocontrole pode ser aumentada através da manipulação do ambiente ou do próprio agente, incluindo modificação genética através de mutação e seleção e/ou engenharia genética, principalmente, quando se conhece o tipo de antagonismo (Melo, 1996). Além disso, misturas de antagonistas compatíveis podem aumentar a diversidade genética de sistemas de biocontrole, resultando em tratamentos mais persistentes na rizosfera, compreendendo diferentes mecanismos de controle, efetivos sob uma ampla gama de condições ambientais (Pierson & Weller, 1994).

Deve-se ter em mente que para o sucesso do controle biológico de doenças da parte aérea e de doenças radiculares, é importante o conhecimento da sinecologia desses habitats. O ambiente da folhagem é constituído pelo filoplano e filosfera. Podemos definir filoplano como a verdadeira superfície das folhas e filosfera como o ambiente sob a influência das mesmas. As dificuldades do biocontrole de patógenos na parte aérea podem ser explicadas pela diversidade de eventos desse habitat resultantes da interação dos seguintes fatores: complexidade estrutural das folhas; exposição da superfície foliar a um ambiente dinâmico; natureza endógena e exógena dos nutrientes; quantidade desses nutrientes; origem dos microrganismos residentes; sucessão de colonização e; a quebra do equilíbrio da comunidade microbiana pela interferência humana (Andrews,

1992; Bettioli, 1997). Assim como o ambiente da folhagem é formado pelo filoplano e filosfera, o ambiente das raízes é constituído pelo rizoplano e rizosfera. Podemos definir rizoplano como a verdadeira superfície das raízes e rizosfera como o ambiente sob a influência das mesmas. O microclima existente nas raízes é tamponado pelo solo ao seu redor e conseqüentemente torna-se mais estável do que o ambiente da folhagem, o que determina uma maior eficiência dos métodos de biocontrole neste habitat. A rizosfera é um ambiente mais facilmente manipulável através da destruição do inóculo do patógeno, evitando a recolonização pelo patógeno e protegendo o rizoplano (Andrews, 1992).

## PRODUÇÃO, FORMULAÇÃO E APLICAÇÃO DE AGENTES MICROBIANOS

Trabalhos com promoção de crescimento e biocontrole estão sendo bastante desenvolvidos, embora sejam poucos os produtos microbianos que chegam à escala comercial. Isso vem ocorrendo pela dificuldade de desenvolver o agente microbiano em quantidade suficiente para aplicação em grandes áreas cultivadas, nas concentrações adequadas, principalmente no biocontrole.

Pesquisas sobre aplicações práticas de PGPR têm tido sucesso na medida em que já existem produtos comerciais à base dessas bactérias nos Estados Unidos, na China, na Austrália, País de Gales e Nova Zelândia (Luz, 1996), embora no Brasil, até o momento, não existem produtos desta natureza registrado no Ministério da Agricultura. Na Tabela 3.1 são mostrados produtos comerciais à base de PGPR, onde destaca-se a grande utilização no controle de doenças radiculares. Com relação as PGPR que atuam através da fixação simbiótica do nitrogênio (*Rhizobium* e *Bradyrhizobium*), existem diversos produtos comerciais no mercado, tais como Biomax, Gold e Soil Implant, bem como inoculantes produzidos e comercializados por empresas públicas e privadas, como a Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA.

Tabela 3.1 – Bioprodutos comerciais à base de bactérias promotoras de crescimento de plantas.

Produto	Organismo biocontrolador	Alvo	Modo de aplicação
BioYield™	<i>Paenobacillus maceran</i> + <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Promoção de crescimento em pimentão e tomate	Substrato
BlighaBan A506	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> spp. ativas para	Pulverização de flores e

	<i>fluorescens</i> , A560	nucleação de gelo-INA <sup>+</sup>	frutos
Cedomon	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	<i>Fusarium</i> sp.; patógenos foliares	Tratamento de sementes
Companion	<i>Bacillus subtilis</i> GBO3	<i>Rhizoctonia</i> ; <i>Pythium</i> ; <i>Fusarium</i> ; <i>Phytophthora</i>	Molhamento no plantio e transplantio ou pulverização
Conquer	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas tolaassii</i>	Pulverização
Deny (ex BlueCircle, Percept)	<i>Burkholderia cepacia</i> tipo Wisconsin	<i>Rhizoctonia</i> spp., <i>Pythium</i> spp. e <i>Fusarium</i> spp. (tombamento) Nematóides: <i>Pratylenchus</i> ; <i>Belonolaimus</i> ; <i>Rotylenchus</i> ; <i>Helicotylenchus</i> ; <i>Hoplolaimus</i>	Tratamento de sementes
Galltrol A	<i>Agrobacterium radiobacter</i> isolado 84	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Tratamento de sementes, plântulas, estacas, raízes, caules; molhamento do solo
Histicknit	<i>B. subtilis</i>	<i>Fusarium</i> ; <i>Rhizoctonia</i> ; <i>Aspergillus</i>	Tratamento de sementes
Intercept	<i>B. cepacia</i>	<i>R. solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> spp.	-
Kodiak; Kodiak HB; Kodiak AT	<i>B. subtilis</i>	<i>R. solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp. e <i>Aspergillus</i> spp. que atacam raízes	Tratamento de sementes; tratamento de caixas de colheita

Tabela 3.1 – Continuação ....

Produto	Organismo biocontrolador	Alvo	Modo de aplicação
Mycostop	<i>Streptomyces griseovirides</i> K61	<i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria brassicicola</i> , <i>Phomopsis</i> spp., <i>Botrytis</i> spp., <i>Pythium</i> spp., <i>Phytophthora</i> spp. causando podridões de sementes, raízes e caules; murchas	Molhamento, pulverizações ou através da irrigação
Nogall; Diegall	<i>A. radiobacter</i>	<i>A.tumefaciens</i>	Tratamento de raízes
Norbac 84C	<i>A. radiobacter</i>	<i>A.tumefaciens</i>	Tratamento de raízes, caules, estacas ou pulverizações
Rhizo-Plus; Rhizo-Plus Konz	<i>B. subtilis</i> FZB24	<i>R. solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp., <i>Sclerotinia</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Streptomyces scabies</i>	Tratamento de sementes, molhamento do solo e adição a soluções nutritivas
Serenade	<i>B. subtilis</i>	Míldio, oídio, mancha de <i>Cercospora</i> e outros	Pulverização
Spot-Less	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> Tx-1	Antracnose; <i>Pythium aphanidermatum</i>	Pulverização
System 3	<i>B.subtilis</i> GB03 + agroquímicos	Patógenos de plântulas	Tratamento de sementes
Subtilex (Epic)	<i>B. subtilis</i>	<i>R. solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp. e <i>Aspergillus</i> spp. que atacam raízes	Tratamento de sementes
YIB (BARs)*	<i>B. cereus</i> + <i>B. brevis</i> + <i>B. firmus</i> + <i>Bacillus</i> spp.	Promoção de crescimento em diversas culturas	Tratamento de sementes e mudas

\*YID = "yield increase bacteria"; BARs = bactérias aumentadoras de rendimento [adaptado de Fravel (2001), Melo (1998) e TICorp (1999)].

Na produção massal de microrganismos, em todos os casos, deseja-se obter um grande número de células com características uniformes, que devem crescer sob condições definidas e controladas. Os processos fermentativos, em sua forma mais simples, podem ser apenas a mistura de microrganismos com um meio de cultura nutritivo. Os processos em larga escala, mais sofisticados, exigem controle total do ambiente para que a fermentação se processe eficientemente e possa ser repetida exatamente com as mesmas quantidades de matéria-prima, meio de cultura e inóculo, produzindo exatamente a mesma quantidade de produto final quer sejam enzimas, antibióticos, células ou esporos. Os processos, desde a escala piloto, são executados em bio-reatores, os quais têm a função principal de minimizar o custo de produção enquanto se tenta ampliar a velocidade de produção e melhorar a qualidade do produto.

A formulação de produtos biológicos é a arte industrial de transformar um microrganismo biocontrolador em um produto comercial para uso em campo. Essas formulações devem possuir um alto padrão de durabilidade, viabilidade e estabilidade, mesmo na ausência de refrigeração (-5°C a 30°C), durante o período de prateleira, visando facilitar a utilização e distribuição. Uma formulação contendo uma ou mais bactérias benéficas em um carreador de fácil uso, econômico, orgânico, inorgânico ou sintético é denominado de inoculante. Os inoculantes mistos são combinações de microrganismos que interagem sinergisticamente aumentando o crescimento e produção de plantas pelo melhor balanço de nutrientes (Fravel, 1999). O carreador é o veículo de transporte da bactéria desde o local de produção até a planta viva no campo e deve apresentar capacidade de liberar o número certo de células viáveis, em bom estado fisiológico, no tempo adequado. Os carreadores são divididos em quatro categorias: a) solos - turfa, carvão, argila, solo inorgânico; b) resíduos de plantas - compostos, esterco, farinha de soja, óleos de soja e amendoim, farinha de trigo; c) materiais inertes - vermiculita, perlita, sulfato de cálcio, gel de poliácridamida, contas de alginato e; d) culturas liofilizadas ou em óleo. O material inerte do diluente é o carbonato de cálcio. As formulações encontradas nos produtos comerciais utilizados para controle biológico de doenças são: grânulos, pó molhável, pelets, biomassa seca em turfa, suspensão aquosa, pó seco, esporos, microgrânulos, placa de Petri com cultura em ágar e suspensão de culturas (Fravel, 1999). A formulação em pó, é utilizada para tratamento de sementes, sendo o tipo de inoculante mais comum, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento; em calda, é aplicada diretamente no tratamento de sementes antes do plantio ou no sulco; em grânulos, é aplicado diretamente no sulco junto as sementes e; em líquido, utiliza principalmente água, mas também óleo mineral ou orgânico, para imersão de sementes (Bashan, 1998). Os métodos de aplicação utilizados para controle de doenças são: tratamento de sementes, plântulas, estacas, gramados, raízes e caules; tratamento do solo por molhamento, incorporação, pulverização; mistura com substrato e; tratamento da parte aérea da planta por pulverização e deposição.

Para comercializar um produto deve se levar em consideração: eficiência dos isolados, otimização das formulações, baixo custo, inócuo ao ambiente, aplicação prática e eficiente, fácil armazenamento, ser compatível com os produtos químicos e ser de fácil manuseio. Os produtos biológicos desenvolvidos para o controle de doenças e promoção de crescimento de plantas, devem ser bem avaliados, não apenas com relação aos benefícios que oferecem, mas sobretudo quanto à segurança, ou seja, o potencial de risco envolvido em seu emprego. Os testes envolvem análise de toxicidade aguda e crônica, alergenicidade e patogenicidade.

O uso prático de agentes de biocontrole requer métodos de aplicação e dosagens adequadas dos produtos formulados, a fim de garantir proteção da

planta ao ataque dos fitopatógenos. Não se pode esquecer que a resistência devido a mutações, transferência de genes ou imunização representa um desafio para uso do biocontrole no campo.

## BIBLIOGRAFIA

- Alabouvette, C.; Schippers, B.; Lemanceau, P.; Bakker, P.A.H.M. Biological control of fusarium wilts. In: Boland, G.; Kuykendall, L.D. (Eds.) Plant-microbe interactions and biological control. New York: Marcell Dekker, 1998. p.15-36.
- Andrews, J.H. Biological control in the phyllosphere. Annual Review of Phytopathology 30: 603-635, 1992.
- Agarwal, S.; Shende, S.T. Tetrazolium reducing microorganisms inside the roots of *Brassica* species. Current Science 56: 187-188, 1987.
- Bashan, Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. Biotechnology Advances 16: 729-770, 1998.
- Bashan, Y.; Holguin, G. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (Plant growth-promoting bacteria) and PGPB. Soil Biology and Biochemistry 30: 1225-1228, 1998.
- Benson, D.R.; Silvester, W.B. Biology of *Frankia* strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants. Microbiological Reviews 57:293-319, 1993.
- Bettiol, W. Biocontrole na filosfera: problemas e perspectivas. Revisão Anual de Patologia de Plantas 5: 59-97, 1997.
- Bettiol, W. (Org.) Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388p.
- Bochner, B. Sleuthing out bacterial identities. Nature 339: 137-158, 1989.
- Boroni, A.M.; Kochetkov, V.V.; Dubeikovsky, A.N.; Mordukhova, E.A. Biological control of soilborne plant pathogens. In: International Congress Of Plant Pathology, 6, Montreal – Canada, 1993. Proceedings... p.276.
- Brown, M.E. Seed and root bacterization. Annual Review of Phytopathology 12: 181-197, 1974.
- Buysens, S.; Heugens, K.; Popper, J.; Hofte, M. Involvement of pyochelin and pyoverdine in suppression of *Pythium*-induced damping-off of tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2. Applied and Environmental Microbiology 62: 865-871, 1996.

- Cattelan, A.J. Métodos qualitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal. Londrina: EMBRAPA-CNPS, 1999. 36p.
- Cook, R.J.; Baker, K.F. Nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1983. 534p.
- Défago, G.; Berling, I.H.; Burger, U.; Haas, D.; Kahr, G.; Keel, C.; Voisard, C.; Wirthner, P.H.; Wüthrich, B. Supression of black root rot of tobacco by *Pseudomonas* strain: potential application and mechanisms. In: Hornby, D.; Cook, R.J.; Heins, Y. (Eds.) Biological control of soil-borne plant pathogens. Wallingford: CAB International, 1990. p.93-108.
- Dong, Z.; Canny, M.J.; Mccully, M.E.; Roboredo, M.R.; Cabadilla, C.F.; Ortega, E.; Rodés, R. Nitrogen-fixing endophyte of sugarcane stems. *Plant Physiology* 105: 1139-1147, 1994.
- Esashi, Y. Ethylene and seed germination. In: Matoo, A.K.; Suttle, J.C. (Eds.) The plant hormone ethylene. New York: Boca Raton, 1991. p.133-157.
- Fokkema, N.J. Agrochemicals and the beneficial role of phyllosphere yeasts in disease control. *Ecological Bulletins* 39: 91-93, 1988.
- Fischer, P.J.; Petrini, O.; Scott, H.M.L. The distribution of some fungal and bacteria endophytes in maize (*Zea mays* L.). *New Phytologist* 122: 299-305, 1992.
- Fravel, D. Commercial biocontrol products for use against soilborne crop diseases. [on line]. Beltsville: Institute of Plant Science - USDA, 2001. Disponível em: <http://www.bar.usda.gov/psi/bpdl/bioprod.html>>. Acesso em : 25 mar. 2001.
- Fravel, D. Role of antibiotics in the biocontrol of plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 26: 75-91, 1988.
- Glick, B.R. Protecting plants from the effects of ethylene using ACC deaminase - containing plant growth-promoting bacteria. In: International Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, 5., Cordoba – Argentina, 2000,. Proceedings... Auburn: OECD, 2000. p.42.
- Glick, R.B.; Karaturovic, D.M.; Newell, P.C. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 533-536, 1995.
- Hallmann, J.; Quadt- Hallmann, A.; Mahafee, W.F.; Kloepper, J.W. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal Microbiology* 43: 895-914, 1997.



- Hoffland, E.; Bik, L. *Pseudomonas* - induced resistance against Fusarium wilt. In: International Congress of Plant Pathology, 6., Montreal, 1993. Proceedings.... Canada, 1993. p.216.
- Jackson, M.B.; Ethylene in root growth and development. In: Matoo, A.K.; Suttle, J.C. (Eds.) The plant hormone ethylene. New York: Boca Raton, 1991. p.159-181.
- Jiang, H-Y; Sato, K. Interrelationships between bacterial populations on the root surface of wheat and growth of plant. Soil Science and Plant Nutrition 40: 683-689, 1994.
- Kerr, A. Biological control of crown gall through production of agrocin 84. Plant Disease 64: 25-30, 1980.
- Lamb, T.G.; Tonkyn, D.W.; Kluepfel, D.A. Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the rhizosphere to aerial plant tissue. Canadian Journal of Microbiology 42: 1112-1120, 1996.
- Luz, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. Revisão Anual de Patologia de Plantas 4: 1-49, 1996.
- Mahafee, W.F.; Kloepper, J.W.; Van Vuuede, J.W.L.; Van Der Wolf, J.M.; Van Der Brink, M. Endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* by *Pseudomonas fluorescens* strain 89B-27 and *Enterobacter asburiae* strain JM22. In: Ryder, M.H.; Stephens, P.M.; Bowen, G.D. (Eds.) Improving plant productivity with rhizosphere bacteria. Adelaide: CSIRO Press, 1994. p.180.
- Mariano, R.L.R. (Coord.) Manual de práticas em fitobacteriologia. Recife: Editora Universitária - UFPE, 2000. 171p.
- Mariano, R.L.R.; Michereff, S.J.; Assis, S.M.P.; Silveira, E.B.; Gomes, A.M.A. Antagonismo de bactérias a fitopatógenos. In: Mariano, R.L.R. (Coord.) Manual de práticas em fitobacteriologia. Recife. Editora Universitária - UFPE. 2000a. p.123-131.
- Mariano, R.L.R.; Michereff, S.J.; Silveira, E.B.; Assis, S.M.P.; Gomes, A.M.A. Isolamento de bactérias para teste de antagonismo. In: Mariano, R.L.R. (Coord.) Manual de práticas em fitobacteriologia. Recife. Editora Universitária- UFPE. 2000b. p.115-121.
- Mariano, R.L.R.; Silveira, E.B.; Assis, S.M.P.; Gomes, A.M.A. Promoção de crescimento por bactérias. In: Mariano, R.L.R. (Coord.) Manual de práticas em fitobacteriologia. Recife. Editora Universitária- UFPE. 2000c. p.133- 137.
- McInroy, J.A.; Kloepper, J.W. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. Plant and Soil 173: 337-342, 1994.

- Melo, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: Melo, I.S.; Azevedo, J.L. (Eds.) Controle biológico. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998. v.1, p.17-67.
- Melo, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas 4: 261-295, 1996.
- Musson, G.; Mainroy, J.A.; Kloepper, J.W. Development of delivery systems for introducing endophytic bacteria into cotton. Biocontrol Science Technology 5: 407-416, 1995.
- Nehl, D.B.; Allen, S.J.; Brown, J.F. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. Applied Soil Ecology 5: 1-20, 1996.
- Paulitz, T.C. Biochemical and ecological aspects of competition in biological control. In: Baker, R.R. (Ed.). New directions in biological control: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases. New York: Liss, 1990. p.713-724.
- Pierson, E.A.; Weller, D.M. Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress take-all and improve the growth of wheat. Phytopathology 84: 940-947, 1994.
- Pillay, V.K.; Nowak, J. Inoculum density, temperature, and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. Canadian Journal of Microbiology 43: 354-361, 1997.
- Quadt-Hallmann, A.; Hallmann, J.; Kloepper, J.W. Bacterial endophytes in cotton: location and interaction with other plant-associated bacteria. Canadian Journal of Microbiology 43: 254-259, 1997.
- Quadt-Hallmann, A.; Kloepper, J.W. Immunological detection and localization of the cotton endophyte *Enterocater asburiae* JM22 in different plant species. Canadian Journal of Microbiology 42: 1144-1154, 1996.
- Roberts, M.A. Actinomycete biocontrol question and answer. [ on line]. Research Microbiologist - USDA, 2000. Disponível em: <http://www.default.htmldefault.html>. Acesso em: 09 jun 2000.
- Romeiro, R.S. Indução de resistência em plantas a patógenos. Viçosa: Editora UFV. 1999. 45p. (Cadernos Didáticos, 56).
- Sasser, M. Identification of bacterial through fatty acid analysis. In: Klement, Z.; Rudolph, K.; Sands, D. Methods in phytobacteriology. Budapest: Akademiai Kiado, 1990. p.199-204.
- Siqueira, J.O.; Franco, A.A. Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas. Brasília: ABEAS, 1988. 236p.

- Sriskandarajah, S.; Kennedy, I.R.; Yu, D.; Tchan, Y.T. Effects of plant growth regulators on acetylene-reducing associations between *Azospirillum brasiliense* and wheat. *Plant and Soil* 153: 165-177, 1993.
- Stanghellini, M. E.; Miller, R.M. The identity and potential in the biological control of zoosporic plant pathogens. *Plant Disease* 81: 4-12, 1997.
- Sturz, A.V. The role of endophytic bacteria during seed piece decay and potato tuberization. *Plant and Soil* 175: 257-263, 1995.
- TICorp – Technological Innovation Corporation Pty Ltd. [on line]. Sydney: Macquarie University – Australia, 1999. Disponível em: <http://www.ticrop.com.au>. Acesso em: 31 out. 1999.
- Valdebenito-Sanhueza, R.M. Efeito de pesticidas sobre a microflora da parte aérea de plantas. In: Melo, I.S.; Azevedo, J.L. (Eds.) *Microbiologia ambiental*. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1977. 440p.
- Van Peer, R.; Niemann, G.J.; Schippers, B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS4175r. *Phytopathology* 81: 728-734, 1991.
- Wei, G.; Tuzum, S.; Kloepper, J.W. Comparison of biochemical responses in cucumber systemically protected against *Colletotrichum orbiculare* by selected strains of plant-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 82: 1109, 1992.
- Weller, D.M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 26: 379-407, 1988.
- Wenhua, T.; Hetong, Y. Research and application of biocontrol of plant diseases and PGPR in China. In: *International Bacterial Wilt Symposium, 2., Guadeloupe, 1997. Proceedings...* Guadeloupe: INRA-CIRAD-ORSTOM, 1997. p.56.
- Zhang, S.A.; Xu, W.M.; Yan, Z.N.; Mei, R.H. Research and commercialization of yield-increasing bacteria (YIB) in China. In: Wenhua, T.; Cook, R.J.; Rovira, A. (Eds.) *Advances in biological control of plant diseases*. Beijing: China Agricultural University Press, 1996. p.47-53.
- Zdor, R.E.; Anderson, A.J. Influence of root colonizing bacteria on defense responses of bean. *Plant and Soil* 140: 99-107, 1992.

# UTILIZAÇÃO DE MICORRIZAS NO MANEJO DE DOENÇAS DE PLANTAS

DELSON LARANJEIRA

## INTRODUÇÃO

O termo micorriza foi inicialmente proposto pelo botânico alemão Albert Bernard Frank, em 1885 (Siqueira & Franco, 1988), para descrever a íntima associação de fungos com raízes de árvores (Bruehl, 1987). Atualmente micorriza é definida como simbiose mutualista entre certos grupos de fungos do solo e raízes de plantas (Agrios, 1997; Sieverding, 1991; Siqueira & Franco, 1988). Tradicionalmente, as micorrizas têm sido agrupadas, com base na anatomia das raízes colonizadas, em três grupos principais: ectomicorrizas, ectendomicorrizas e endomicorrizas. As endomicorrizas podem ser de três tipos: orquidóides, ericóides e arbusculares (Colozzi-Filho & Balota, 1994). Entre os diferentes tipos de micorrizas, as endomicorrizas arbusculares (MA) são as de melhor distribuição e ocorrência nos trópicos, além da capacidade de colonizar várias espécies de plantas de importância econômica. Portanto, neste capítulo, trataremos especificamente das MA.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) têm ocorrência generalizada, estando presentes em regiões tropicais, temperadas e árticas, incluindo densas florestas, áreas cultivadas, dunas e desertos (Abe & Katuya, 1995; Abe *et al.*, 1994; Al-Agely & Reeves, 1995; Cabello *et al.*, 1994; Jasper *et al.*, 1989; Lopes *et al.*, 1983), apresentam a capacidade de colonizar as raízes da maioria das plantas, desde Briófitas e Pteridófitas até Gimnospermas e Angiospermas com exceção de algumas monocotiledôneas como Commelinaceae e Juncaceae, bem como dicotiledôneas das famílias Brassicaceae, Fumariaceae e Urticaceae (Silveira, 1992). A atuação dos fungos micorrízicos é ampla e, em muitos casos, vantajosa para os hospedeiros, possibilitando inclusive a sua sobrevivência em ambientes submetidos a estresses de ordem abiótica ou biótica, entre os quais se incluem os produzidos por organismos fitopatogênicos (Maia *et al.*, 2001).

Os benefícios da simbiose para o hospedeiro resultam de melhorias no estado nutricional da planta, melhor utilização e conservação de nutrientes no sistema, redução de perdas por estresses de natureza biótica (pragas e

doenças) ou abióticas (desbalanço nutricional, déficit hídrico, e modificações fisiológicas e bioquímicas como maior taxa fotossintética e produção de raízes (Colozzi-Filho & Balota, 1994). Estudos em condições edáficas e espécies vegetais diversas, em várias partes do mundo, mostram que plantas micorrizadas geralmente absorvem maiores quantidades de macro e micronutrientes, destacando-se o fósforo como o nutriente de maior afinidade.

O fósforo é o elemento que mais frequentemente limita a produção agrícola nas regiões tropicais e subtropicais, apesar das plantas exigirem quantidades relativamente pequenas. Esta observação justifica o fato das micorrizas arbusculares serem consideradas com maior potencial de utilização na agricultura da região tropical do que na de clima temperado (Colozzi-Filho & Balota, 1994), onde o fósforo é encontrado em maior disponibilidade.

Os FMA têm sido indicados como candidatos à utilização no controle de doenças de plantas, pois apresentam ampla distribuição e estabelecem relacionamentos de longa duração com as raízes da maior parte das plantas (Traquair, 1995). Nesse sentido, um número crescente de pesquisas tem sido realizadas visando a utilização desses organismos em plantas de interesse agrícola (Klironomos & Kendrick, 1993).

## **TAXONOMIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

Os FMA pertencem à classe dos Zygomycetes, ordem Glomales, com seis gêneros conhecidos: *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis* e *Scutellospora*, que englobam em torno de 150 espécies (Morton & Benny, 1990).

A diferenciação entre os gêneros dos FMA é feita com base nas características externas dos esporos e sua formação (Tabela 4.1), enquanto que a classificação das diferentes espécies se baseia em características morfológicas como: forma, cor e diâmetro do esporo, ornamentação, número, espessura, arranjo e elasticidade das paredes e reações ao reagente de Melzer, dos esporos coletados no solo (Siqueira & Franco, 1988).

Tabela 4.1 – Principais diferenças entre gêneros de fungos micorrízicos arbusculares (Silveira, 1992).

Características	Glomus	Sclerocystis	Acaulospor a	Entrophospora	Gigaspora	Sclerospora
Clamidosporos	+	+	-	-	-	-
Azigosporos	-	-	+	+	+	+
Esporos ectocárpicos	+	-	+	+	+	+
Esporos em esporocarpos	+	+	-	-	-	-
Hifa de sustentação persistente	+	-	-	-	+	+
Presença de bulbo	-	-	-	-	+	+
Formação através de vesícula mãe	-	-	+	+	-	-
Células auxiliares	-	-	-	-	+	+

+ presente; - ausente.

## INTERAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES COM FITOPATÓGENOS

A redução da severidade de doenças de plantas pode ser fortemente influenciada por fungos micorrízicos arbusculares, através de um ou mais mecanismos incluindo: a) aumento no fornecimento de nutrientes; b) competição por fotossintatos do hospedeiro e sítios de infecção; c) modificações morfológicas em raízes e nos tecidos radiculares; d) modificações nos componentes químicos dos tecidos da planta; e) redução do estresse abiótico; f) modificações microbianas na micorrizosfera (Linderman, 1994). Em geral, ao se instalar, o fungo micorrízico é capaz de produzir modificações as quais induzem maior resistência ao estabelecimento de doenças na raiz, determinando à planta uma posição privilegiada frente ao patógeno que, desse modo, tem o seu efeito reduzido ou anulado (Maia *et al.*, 2001).

### Interação de fungos micorrízicos arbusculares com fungos fitopatogênicos

Os estudos sobre a atuação dos FMA na redução de doenças radiculares produzidas por fungos têm focado principalmente as podridões causadas por espécies de *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Pyrenochaeta*, *Gaeumannomyces*, *Sclerotium* e *Rhizoctonia* (Linderman, 1994). Davis *et al.* (1979) estudaram a influência de *Glomus fasciculatum* na murcha de *Verticillium* do algodoeiro (*Gossypium* spp.) e concluíram que a

severidade da doença foi maior em plantas micorrizadas e fertilizadas com 20 µg de P, do que naquelas não micorrizadas. Davis (1980) observou que a inoculação com *G. fasciculatum* em mudas de laranja doce, não foi capaz de reduzir a podridão radicular causada por *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Br.) Ferr. No entanto, Davis & Menge (1980) observaram que mudas de laranja doce inoculadas com *G. fasciculatum* apresentaram redução na severidade da podridão de raiz induzida por *Phytophthora parasitica* Dastur, quando adubadas com 600 µg P/g de solo. Nas pesquisas conduzidas por Caron *et al.* (1986), foi constatado que *Glomus intraradices* Schenck & Smith foi efetivo no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis & Shoemaker, responsável pela podridão de raiz em tomateiro. As pesquisas conduzidas por Cordier *et al.* (1996) e Trotta *et al.* (1996) mostraram que plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) micorrizadas com *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe apresentaram menor incidência da podridão de raiz causada por *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* Dastur. Plantas de morangueiro micorrizadas com *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann e inoculadas com *Phytophthora fragariae* Hickman, apresentaram redução de até 60% da doença (Norman *et al.*, 1996). Morangueiros selvagens (*Fragaria vesca* L.) micorrizados com *Glomus fistulosum* Skou & Jakobsen também apresentaram resistência a *P. fragariae* (Mark & Cassells, 1996). No entanto, a utilização de FMA como agentes protetores de raízes contra os patógenos causadores de podridões radiculares e de murchas, tem apresentado resultados contraditórios (Laranjeira, 2001).

### **Interação de fungos micorrízicos arbusculares com nematóides fitopatogênicos**

Nematóides parasitas de plantas e FMA podem estar simultaneamente associados às raízes, motivo pelo qual deve ser considerado o efeito combinado dos dois grupos de organismos sobre o desenvolvimento da planta (McGlohon, 1982). Nos estudos de interação entre estes organismos, destacam-se em importância a densidade de inóculo do nematóide, a espécie do FMA simbiote, o tempo da micorrização em relação à inoculação do nematóide, a resistência natural da planta ao patógeno e a cultivar da planta testada (Maia, 2001). São conhecidas três tipos de interações: a) *neutra* – quando nenhuma alteração no FMA, hospedeiro ou nematóide é evidente; b) *positiva* – quando o FMA compensa os danos causados à planta pelo patógeno e o desenvolvimento e reprodução dos nematóides são suprimidos; c) *negativa* – quando a esporulação do FMA, o desenvolvimento e/ou a produção da planta são suprimidos e a reprodução do nematóide é aumentada (Hussey & Roncadori, 1982). A maioria destas interações envolvem nematóides endoparasitas sedentários, provavelmente devido a

importância mundial que estes apresentam como fitopatógenos e por serem facilmente propagados. Vários autores comprovaram que a associação micorrízica leva à redução dos danos produzidos por nematóides fitopatogênicos em diversas culturas de interesse econômico, entre as quais: algodão (Smith *et al.*, 1986), caupi (Santhi & Sundarababu, 1995), citros (Smith & Kaplan, 1988), feijão (Oliveira & Zambolim, 1986), tomate (Sundarababu *et al.*, 1995) e soja (Price *et al.*, 1995). No entanto, em experimentos com videiras, Atilano *et al.* (1981) registraram aumento dos danos causados por nematóides em plantas micorrizadas.

Os efeitos da micorrização sobre a reprodução de nematóides fitopatogênicos em diversas plantas hospedeiras, encontram-se na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Efeitos da micorrização sobre a reprodução de nematóides fitopatogênicos (Maia *et al.*, 2001).

Nematóide	Hospedeiro	Fungo micorrízico
<b>Redução da Reprodução</b>		
<i>Heterodera cajani</i>	Caupi	<i>Glomus fasciculatum</i>
<i>Heterodera solanacearum</i>	Fumo	<i>Gigaspora gigantea</i>
<i>Meloidogyne hapla</i>	Cenoura	<i>Glomus mosseae</i>
<i>Meloidogyne incognita</i>	Algodão, aveia, banana, caupi, feijão, fumo, pêssego, soja, tomate	<i>Glomus etunicatum</i> , <i>G. mosseae</i> , <i>G. fasciculatum</i> , <i>Glomus macrocarpum</i> , <i>Gigaspora margarita</i>
<i>Meloidogyne javanica</i>	soja, tomate	<i>G. etunicatum</i> , <i>G. macrocarpum</i>
<i>Pratylenchus brachyurus</i>	Abacaxi, algodão	<i>Glomus sp.</i> , <i>G. margarita</i>
<i>Pratylenchus vulnus</i>	maçã, pera, pêssego	<i>Glomus intraradices</i> , <i>G. mosseae</i>
<i>Radopholus citrophylus</i>	Citros	<i>G. intraradices</i>
<i>Radopholus similis</i>	Banana	<i>G. intraradices</i>
<i>Rotylenchulus reniformis</i>	Caupi	<i>G. fasciculatum</i>
<b>Aumento da Reprodução</b>		
<i>Heterodera glycinis</i>	Soja	<i>G. etunicatum</i>
<i>Meloidogyne arenaria</i>	Amendoim, uva	<i>G. margarita</i> , <i>G. etunicatum</i> , <i>G. fasciculatum</i>
<i>Meloidogyne incognita</i>	Algodão, soja	<i>G. margarita</i> , <i>G. macrocarpum</i> , <i>Scutellospora calospora</i> , <i>S. heterogama</i>
<i>Pratylenchus coffeae</i>	Café	<i>Acaulospora mellea</i> , <i>Glomus clarum</i>
<b>Efeito Nulo</b>		
<i>Heterodera cajani</i>	Caupi	<i>Glomus epigaeus</i>
<i>Meloidogyne incognita</i>	Algodão, caupi, pêssego, soja, tomate	<i>G. margarita</i> , <i>G. etunicatum</i> , <i>G. epigaeus</i> , <i>G. mosseae</i>
<i>Pratylenchus vulnus</i>	cereja, marmelo	<i>G. intraradices</i>
<i>Radopholus similis</i>	Citros	<i>G. etunicatum</i>
<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	Citros	<i>G. fasciculatum</i> , <i>G. mosseae</i>



## **Interação de fungos micorrízicos arbusculares com bactérias fitopatogênicas**

O efeito de FMA em relação às bactérias fitopatogênicas não tem sido explorado em grande extensão, quando comparado a outros patógenos que ocorrem no sistema radicular (Linderman, 1994). Entretanto, alguns trabalhos relatam a influência benéfica dessa simbiose na cultura do tomateiro (Silveira & Maia, 1996). Avaliando o efeito de espécies nativas de fungos micorrízicos em relação a *Ralstonia solanacearum* em plantas de tomateiro, Halos & Zorilla (1979) observaram que plantas micorrizadas apresentaram menor incidência da murcha bacteriana. Por outro lado, Garcia-Garrido *et al.* (1992) verificaram que plantas de tomateiro micorrizadas e inoculadas com *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, apresentaram maior crescimento do que plantas não micorrizadas.

Avaliando os efeitos da interação entre FMA e bactérias não patogênicas da rizosfera, principalmente bactérias fixadoras de nitrogênio, solubilizadoras de fosfato e promotoras de crescimento de plantas, diversos autores constataram a existência de interação aditiva ou sinérgica entre esses organismos, possibilitando um incremento da microbiota da rizosfera (Alten *et al.*, 1991; Bagyaraj & Menge, 1978; Dar *et al.*, 1997; Yuri *et al.*, 1994). Esses resultados revestem-se de grande importância, visto que os organismos da rizosfera exercem efeito significativo sobre a sanidade da planta (Maia *et al.*, 2001).

## **FATORES QUE AFETAM O DESENVOLVIMENTO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

As micorrizas são influenciadas por fatores inerentes à planta, ao fungo e ao ambiente (solo e clima), que atuam sobre os propágulos ou sobre as diferentes fases da simbiose, exercendo grande influência sobre a formação, o funcionamento e as relações ecológicas dessas associações (Siqueira & Franco, 1988).

### **Interação com outros organismos**

Interações entre fungos micorrízicos e outros organismos do solo ocorrem na raiz, na rizosfera e no próprio solo, produzindo efeitos inibidores ou estimuladores; alguns são claramente competitivos, outros podem ser mutualísticos (Fitter & Garbaye, 1994). Determinados componentes da microbiota do solo tais como fungos, bactérias e actinomicetos, podem atuar como parasitas, antagonistas e comensalistas, em relação aos fungos

micorrízicos (Siqueira & Franco, 1988). A participação destes componentes pode influenciar o funcionamento da simbiose atuando na translocação de nutrientes pelo micélio externo, ou através da competição por nutrientes, inclusive os fosfatos (Hayman, 1982).

Diversos micoparasitas como *Trichoderma harzianum*, *T. pseudokoningii* Rifai, *Wardomyces inflatus* (Marchal) Hennebert, *Paecilomyces farinosus* (Dick. & Fr.) Brown & Sm., *Gliocladium roseum* (Link.) Bainier, *Anguillospora pseudolongissima* Ranzoni, *Humicola fuscoatra* Traaen e *Phlyctochytrium knieppii* Gaerthner são encontrados parasitando esporos, tubo germinativo e micélio, inviabilizando propágulos de FMA no solo (Fracchia *et al.*, 1998; Rousseau *et al.*, 1996; Siqueira & Franco, 1988; Wyss *et al.*, 1992).

## **Fatores químicos**

Estudos em condições edáficas e espécies vegetais diversas, em várias partes do mundo, mostram que plantas micorrizadas geralmente absorvem maiores quantidades de macro e micronutrientes, como também de outros elementos como bromo, iodo, cloro, sódio, alumínio, silício e metais pesados (Siqueira & Franco, 1988).

## **Macronutrientes**

Alguns micronutrientes tais como manganês e zinco inibiram a germinação de esporos dos FMA (Hepper, 1979). Em Plantas de trevo (*Trifolium repens* L.), cebola (*Allium cepa* L.), milho (*Zea mays* L.), soja e grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), a colonização micorrízica foi inibida por zinco e cobre (Gildon & Tinker, 1983). A presença de outros metais, quando em excesso, pode afetar negativamente o crescimento de plantas e de fungos micorrízicos (Nogueira, 1996). O aumento da biodisponibilidade do alumínio afeta a germinação de esporos, o crescimento do tubo germinativo e o crescimento micelial de FMA (Siqueira *et al.*, 1984). Os estudos relativos ao efeito tóxico de alumínio e manganês sobre os FMA têm sido restritos ao impacto do excesso de metais sobre as estruturas desses organismos (esporos, micélio, arbúsculos) e à colonização e funcionalidade na simbiose (Siqueira, 1996).

### **Micronutrientes**

A disponibilidade de nutrientes no solo, principalmente a de fósforo, exerce efeitos sobre a micorrização. De acordo com Siqueira & Franco (1988), a elevação do fósforo disponível no solo além de reduzir a colonização das raízes, pode diminuir a esporulação e a diversidade dos fungos micorrízicos. Mecanismos como exploração de maior volume de solo, movimento rápido de fósforo dentro da hifa micorrízica e solubilização de fósforo do solo, têm sido sugeridos para explicar o aumento na absorção deste nutriente pelas plantas micorrizadas (Bolan, 1991). Por outro lado, elevadas concentrações de fósforo são capazes de causar efeitos prejudiciais aos FMA podendo: reduzir ou impedir a colonização; diminuir o crescimento do tubo germinativo; suprimir a ligação da hifa com a raiz e a formação de apressórios; reduzir o número de clamidoporos; influenciar a taxa de disseminação do fungo e o crescimento do micélio extra radicular (Smith & Read, 1997; Suriyapperuma & Koske, 1995). A expressividade destes efeitos é influenciada pela espécie vegetal e pelos fatores ambientais (Smith & Read, 1997).

### **pH do solo**

O potencial hidrogeniônico (pH) exerce influência qualitativa e quantitativa sobre os FMA, interferindo no índice de ocorrência das espécies, na proporção de diferentes fungos micorrízicos nas raízes e na germinação dos esporos (Siqueira & Franco, 1988). O pH ótimo para germinação de esporos varia de acordo com a espécie de FMA envolvida e o ambiente onde esta se encontra (Powell & Bagyaraj, 1984). Espécies de *Glomus*, com poucas exceções, preferem solos com pH próximo do neutro a alcalino, enquanto que a maioria das espécies de *Acaulospora*, *Gigaspora* e *Entrophospora*, têm preferência por pH na faixa ácida (Siqueira & Franco, 1988).

### **Matéria orgânica**

A quantidade de matéria orgânica influencia a estrutura do solo, pH, composição de nutrientes e a capacidade do solo armazenar água, o que pode influenciar direta ou indiretamente o desenvolvimento e a eficiência dos FMA (Bagyaraj, 1991). Para Sheikh *et al.* (1975), no Paquistão as populações de esporos de FMA parecem estar relacionadas ao nível de matéria orgânica contida no solo. No entanto, nenhuma correlação foi observada em solos temperados contendo níveis elevados (2–13%) de matéria orgânica (Bagyaraj, 1991). Rives *et al.* (1980) sugeriram que em

áreas onde a precipitação anual é baixa, o contato entre restos de raízes colonizadas e raízes de plantas não infectadas pode se constituir numa forma eficiente de disseminação de micorrizas. Por outro lado, Sáinz *et al.* (1998) constataram que a colonização micorrízica em raízes de pepino (*Cucumis sativus* L.) e trevo (*Trifolium repens* L.) foi reduzida quando se fez a adição de resíduos de composto urbano no solo.

### **Biocidas**

Os efeitos dos agroquímicos sobre FMA são pouco conhecidos, e a aplicação destes produtos pode gerar resultados inesperados ou não reconhecidos (Kurle & Pflieger, 1994). Nas pesquisas sobre a atuação desses compostos sobre os FMA têm sido avaliados: fumigantes do solo, fungicidas, herbicidas, inseticidas e nematicidas.

A fumigação do solo com biocidas tais como brometo de metila, cloropicrina, formaldeído, Vapam e Vorlex efetivamente matam os endófitos na zona de tratamento (Trappe *et al.*, 1984), causando atrofia em várias culturas (Kurle & Pflieger, 1994). Esta redução no desenvolvimento das plantas é causada pela baixa incidência de FMA, o que resulta num pobre fornecimento de nutrientes (Hetrick *et al.*, 1988). A fumigação do solo com brometo de metila, foi capaz de reduzir a colonização dos FMA nativos (Bendavid-Val *et al.*, 1997). Para An *et al.* (1993), a fumigação destruiu a maioria dos propágulos de FMA que se encontravam a uma profundidade de até 15cm no solo, porém após o cultivo da área com soja, a população da maioria das espécies de *Glomus* recuperou as densidades anteriores à fumigação, enquanto que as populações de *G. margarita* e *G. gigantea* não apresentaram esta capacidade. Menge *et al.* (1978) verificaram que *G. fasciculatum* e *Glomus constrictum* Trappe apresentaram maior sensibilidade ao brometo de metila do que a maioria dos patógenos do solo.

Os fungicidas incluem uma enorme variedade de compostos que diferem em seus efeitos sobre a fisiologia dos hospedeiro, modo de ação, método de aplicação e formulação (Kurle & Pflieger, 1994). Geralmente são menos danosos aos fungos micorrízicos do que outros biocidas, podendo ser tóxicos, produzir pouco ou nenhum dano e até aumentar a colonização micorrízica (Menge, 1982).

Quanto aos fungicidas sistêmicos, são de particular interesse devido à persistência sobre os organismos que competem com os FMA por sítios de infecção, ou pelos efeitos diretos sobre os fungos micorrízicos. Dicarboximida (captan) é um fungicida utilizado na pulverização foliar e no tratamento de sementes e do solo, sendo capaz de produzir vários efeitos sobre os FMA dependendo da espécie envolvida e da planta hospedeira (Kurle & Pflieger, 1994). Quando utilizados no tratamento de sementes de

feijão, os fungicidas benomyl e captan não reduziram a colonização de *Glomus macrocarpum* (Gonçalves *et al.*, 1991). Plantas de cedro tratadas com benomyl apresentaram redução na colonização micorrízica (Cade-Menun & Berch, 1997). Os fungicidas etilenobisditiocarbamatos zineb, mancozeb e maneb, e o ditiocarbamato thiram em geral reduzem a esporulação e a colonização micorrízica (Kurle & Pflieger, 1994).

Os herbicidas são utilizados para impedir o crescimento de plantas superiores. No entanto, é possível que estes possam afetar diretamente a eficiência e a densidade dos FMA através da interferência nos processos fisiológicos da micorriza, ou indiretamente por modificações na população ou na fisiologia da planta hospedeira (Kurle & Pflieger, 1994). Estudos realizados por Sieverding & Liehner (1984), em casa de vegetação e no campo, indicaram a existência de efeitos diretos e indiretos de herbicidas sobre a população de FMA que estavam colonizando plantas de mandioca.

Os inseticidas carbaril e diazinon não apresentaram efeitos adversos sobre a colonização de raízes do amendoimzeiro por *Glomus mosseae* (Parvathi *et al.*, 1985), enquanto que carbofuran e aldicarb aumentaram a ocorrência de FMA em diversas culturas (Sieverding, 1991; Sreenivasa & Bagyaraj, 1989).

## **Fatores físicos**

### **Temperatura do solo**

A temperatura exerce influência significativa sobre a colonização e a esporulação dos FMA no campo (Bagyaraj, 1991) e sob condições de casa-de-vegetação (Bagyaraj, 1991; Haugen & Smith, 1992). Em algumas regiões tropicais, a temperatura pode atingir de 40-45<sup>o</sup>C durante o dia, o que poderia causar redução no desenvolvimento dos FMA. No entanto, a profundidades superiores a 5cm no solo, estas altas temperaturas não são usualmente encontradas e, portanto, não afetam as micorrizas ali existentes (Sieverding, 1991). Temperaturas entre 25-35<sup>o</sup>C foram relatadas como sendo ótimas para o crescimento de raízes e para a colonização micorrízica (Schenck & Schroeder, 1974). Por outro lado, temperaturas abaixo de 17-18<sup>o</sup>C, comuns nas montanhas tropicais, são capazes de reduzir a eficiência dos fungos micorrízicos (Sieverding, 1991).

## **Luz**

O desenvolvimento dos FMA pode ser fortemente afetado pela luz (Bagyaraj, 1991). Para Redhead (1975), os efeitos da luz sobre os FMA dependem da fotossensibilidade das espécies de plantas hospedeiras. Furlan & Fortin (1977) demonstraram que a luz exerce efeito estimulatório no desenvolvimento dos FMA. A intensidade luminosa (Furlan & Fortin, 1977) e os dias longos (Johnson *et al.*, 1982) são capazes de aumentar a porcentagem da colonização micorrízica. Por outro lado, o sombreamento é capaz de reduzir a colonização da raiz, a produção de esporos e a resposta da planta aos FMA (Gerdemann, 1968).

## **Umidade do solo e estresse hídrico**

Solos com elevado teor de umidade ou sujeitos à inundação, portanto com aeração deficiente, são geralmente desprovidos de micorrizas, porque os fungos micorrízicos são aeróbios obrigatórios (Siqueira & Franco, 1988). A umidade do solo considerada ótima para o desenvolvimento e eficiência dos FMA encontra-se entre 40 e 80% (Sieverding, 1991). A alternância entre ciclos de umedecimento e secagem parece estimular a esporulação dos FMA, enquanto que os níveis elevados de umidade no solo favorecem o desenvolvimento de hiperparasitas dos seus esporos reduzindo sua viabilidade como propágulo (Siqueira & Franco, 1988).

## **AValiação DE PROPÁGULOS E RECUPERAÇÃO DE ESPOROS DO SOLO**

Os propágulos de FMA podem consistir de hifas e esporos (clamidosporos e azigosporos), além de vesículas ou raízes infectadas (Colozzi-Filho & Balota, 1994). Os esporos são considerados estruturas estratégicas de sobrevivência para suportar períodos de adversidades (Gerdemann, 1968; Hetrick, 1985)

Vários métodos são usados para a avaliação e recuperação de propágulos de FMA. Esses métodos incluem: decantação e peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963); centrifugação e flutuação em sacarose (Jenkins, 1964); centrifugação e flutuação em gradiente de sacarose (Ohms, 1957); flutuação e adesão (Sutton & Barron, 1972); centrifugação diferencial água/sacarose (Allen *et al.*, 1979); sedimentação diferencial em coluna de gelatina (Mosse & Jones, 1968) e separação seca de microrganismos (Tommerup & Carter, 1982). Após a recuperação dos esporos do solo, a

quantificação pode ser feita em microscópio estereoscópico. Todos esses métodos, porém, variam quanto à sensibilidade de avaliação e recuperação dos esporos em cada condição específica (Colozzi-Filho & Balota, 1994).

Apesar da importância de cada um dos métodos citados anteriormente, descreveremos a seguir aqueles que são, rotineiramente, utilizados.

### **Método da decantação e peneiramento úmido**

(Gerdemann & Nicolson, 1963)

A amostra de solo (50 mL a 250 mL) é suspensa em 1 L ou 2 L de água, em um béquer e agitada vigorosamente, seguida de decantação, por alguns segundos, para que ocorra sedimentação das partículas maiores e/ou mais densas que os esporos. O sobrenadante é passado através de um conjunto de peneiras de aberturas 710  $\mu\text{m}$  a 45  $\mu\text{m}$ , sobrepostas em um béquer, na sequência da menor abertura de malha para a maior. Nas peneiras ficam retidos os esporos e algum solo e material orgânico. Os Sedimentos recolhidos no fundo do béquer podem ser ressuspensos diversas vezes, para aumentar a chance de maior número de esporos.

Esse método é relativamente fácil e rápido, mas a purificação adicional do material retido nas peneiras é necessária, se o número de esporos no solo for baixo. A associação de métodos é importante quando se trabalha com solos que possuem grande quantidade de matéria orgânica e alto teor de argila, que condicionam a obtenção de peneirados com grande quantidade de fragmentos orgânicos e partículas de solo, dificultando a contagem dos esporos. Normalmente, o método da decantação e peneiramento úmido é associado com o método da centrifugação em sacarose (Jenkins, 1964). O material retido nas peneiras é recolhido em béquer e, posteriormente, feita a contagem dos esporos em placa com anéis concêntricos.

### **Método da centrifugação e flutuação em sacarose**

(Jenkins, 1964)

Esta metodologia é utilizada como complemento ao peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963), eliminando restos de solo e material orgânico da amostra. O material retido nas peneiras é transferido para tubos de centrífuga com capacidade para 50 mL, adicionando-se água. Os tubos são balanceados e centrifugados por 4 a 5 min a 1750 rpm ( $\pm 1000$  g). Depois da centrifugação o sobrenadante é cuidadosamente descartado, adicionando-se solução de sacarose a 50%. Para o preparo da solução de sacarose pode-se utilizar açúcar comum. O material (solo+esporos) sedimentado é ressuspensionado com o auxílio de uma espátula e centrifugado

novamente por 1 min. O sobrenadante, contendo os esporos, é vertido em peneiras, lavado abundantemente com água corrente e recolhido em béquer para avaliação.

A associação destes dois métodos (peneiramento úmido e centrifugação em sacarose) tem sido muito utilizada, pela sua simplicidade e pelos resultados que apresenta.

## **AValiação DA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA**

A avaliação da colonização micorrízica é baseada na observação da presença de estruturas fúngicas dentro das raízes. Para isso é necessária a preparação das raízes, o que consiste basicamente no clareamento e coloração (Colozzi-Filho & Balota, 1994).

### **Clareamento e colonização de raízes**

O método, seguramente, mais utilizado pelos pesquisadores de todo mundo, para a preparação das raízes para avaliação da colonização micorrízica, é aquele descrito por Phillips & Hayman (1970), no qual, basicamente, faz-se o clareamento das raízes pelo aquecimento em solução de KOH a 10%, a acidificação com HCl diluído e a coloração com azul de tripano a 0,05%. O clareamento das raízes com KOH tem como objetivo remover o citoplasma e o núcleo das células hospedeiras, deixando-as claras e transparentes, com o cilindro central visível.

Recentemente, tem sido muito utilizado o corante em glicerol ou lactoglicerol (Kormanik *et al.*, 1980), em substituição ao lactofenol, que é extremamente perigoso porque libera gás tóxico. O corante (0,05 g de azul tripano) é colocado em 100 mL de uma mistura de ácido láctico, glicerina e água (1:1:1). O corante em lactofenol, glicerol ou lactoglicerol pode ser reutilizado.

### **Determinação da colonização micorrízica**

A determinação da colonização micorrízica é feita basicamente pela observação da presença de estruturas fúngicas dentro das raízes na região do córtex, onde ocorre o desenvolvimento inter e intracelular de hifas, podendo estender-se pela rizosfera; de arbúsculos, originários de ramificações dicotômicas de hifas internamente às células; e de vesículas, glóbulos mais ou menos esféricos que ocorrem intra e extracelularmente.



As vesículas são estruturas morfológicas facilmente distinguidas. Os arbúsculos são estruturas delicadas que apresentam ramificações dicotômicas visíveis apenas em aumento maiores. Estes arbúsculos possuem vida curta, sendo prontamente disponíveis à absorção.

Para observação da colonização micorrízica podem ser preparadas lâminas temporárias com lactofenol ou lactoglicerol, ou permanentes com PVA (resina de álcool polivinil) em lactofenol ou lactoglicerol.

Na avaliação da colonização micorrízica, podem ser usados procedimentos não sistemáticos como o método visual, onde a avaliação é feita com base em escala de notas recomendada pelo Institute for the Mycorrhizal Research and Development, USDA Forest Service, Athens, Georgia, onde: 1 = 0 a 5%; 2 = 6 a 25%; 3 = 26 a 50%; 4 = 51 a 75% e 5 = 76 a 100%, ou procedimentos sistemáticos, como os métodos da lâmina ou da placa quadriculada. Apesar do método da placa quadriculada ser o mais exato dos disponíveis atualmente, a avaliação em lâmina é um método muito utilizado.

### **Método da lâmina**

Neste método, seguimentos de raízes de aproximadamente 1 cm de uma amostra corada são selecionados ao acaso e montados paralelamente em uma lâmina de microscópio em grupos de 10. São sugeridos de 30 a 100 segmentos de raízes para avaliação por este método. A extensão da colonização radicular é avaliada (aumento: 100 a 250) medindo o comprimento em mm para cada segmento e expressado como porcentagem do comprimento de raízes colonizadas.

O método pode ser simplificado avaliando-se apenas a presença e ausência de colonização em cada segmento, e o resultado é expresso em porcentagem de raízes colonizadas.

### **BIBLIOGRAFIA**

- Abe, J.P.; Masuhara, G.; Katsuya, K. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi coastal dune plant communities. I. Spore formation of *Glomus* spp. predominates under a patch of *Elymus mollis*. *Mycoscience* 35: 233-238, 1994.
- Abe, J.P.; Katsuya, K. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coastal dune plant communities. II. Spore formation of *Glomus* spp. predominates under geographically separated patches of *Elymus mollis*. *Mycoscience* 36: 113-116, 1995.

- Agrios, G.N. Plant pathology. 4<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, 1997. 635p.
- Al-Agely, A.K.; Reeves, F.B. Inland sand dune mycorrhizae: Effects of soil depth, moisture, and pH on colonization of *Oryzopsis hymenoides*. *Mycologia* 87: 54-60, 1995.
- Allen, E.B.; Oore Jr, T.S.; Christensen, M. Growth vesicular-arbuscular mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis* in a defined medium, *Mycologia* 71: 666-669, 1979.
- Alten, H. von; Lindemann, A.; Schönbeck, F. Increasing VA-mycorrhization with application of rhizosphere bacteria. In: Keister, D.L.; Cregan, P.B. (Eds.) *The Rhizosphere and plant growth*. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p.381.
- An, Z.Q.; Hendrix, J.W.; Hershman, D.E.; Ferris, R.S.; Henson, G.T. The influence of crop rotation and soil fumigation on a mycorrhizal fungal community associated with soybean. *Mycorrhiza* 3: 171-182, 1993.
- Atilano, R.A.; Menge, J.A.; van Gundy, S.D. Interaction between *Meloidogyne arenaria* and *Glomus fasciculatus* in grape. *Journal of Nematology* 13:52-59. 1981.
- Bagyaraj, D.J. Ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: Arora, D.K.; Rai, B.; Mukerji, K.G.; Knudsen, G.R. (Eds.) *Handbook of applied micology: soil and plant*. New York: Marcel Dekker, 1991. v.1, p.4-34.
- Bagyaraj, D.J.; Menge, J.A. Interaction between a VA mycorrhiza and *Azotobacter* and their effects on rhizosphere microflora and plant growth. *New Phytologist* 80: 567-573. 1978.
- Bendavid-Val, R.; Rabinowitch, H.D.; Katan, J.; Kapulnik, Y. Viability of VA-mycorrhizal fungi following soil solarization and fumigation. *Plant and Soil* 195: 185-193, 1997.
- Bolan, N.S. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 134: 189-207, 1991.
- Bruehl, G.W. *Soilborne plant pathogens*. New York: Macmillan Publishing Company, 1987. 368 p.
- Cabello, M.; Gaspar, L.; Pollero, R. *Glomus antarticum* sp. nov., a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus from Antarctica. *Mycotaxon* 51: 123-128, 1994.
- Cade-Menun, B.J.; Berch, S.M. Response of mycorrhizal western red cedar to organic phosphorus sources and benomyl. *Canadian Journal of Botany* 75: 1226-1235, 1997.

- Caron, M.; Fortin, J.A.; Richard, C. Effect of *Glomus intraradices* on infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomatoes over a 12-week period. *Canadian Journal of Botany* 64: 552-556, 1986.
- Colozzi-Filho, A.; Balota, E.L. Micorrizas arbusculares. In: Hungria, M.; Araújo, R.S. (Eds.) *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Brasília: EMBRAPA, 1994. p.383-413.
- Cordier, C.; Gianinazzi, S.; Gianinazzi-Pearson, V. Colonisation patterns of root tissues by *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* related to reduced disease in mycorrhizal tomato. *Plant and Soil* 185: 223-22, 1996.
- Dar, G.H.; Zargar, M.Y.; Beigh, G.M. Biocontrol of *Fusarium* root rot in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by using symbiotic *Glomus mosseae* and *Rhizobium leguminosarum*. *Microbial Ecology* 34: 74-80, 1997.
- Davis, R.M. Influence of *Glomus fasciculatus* on *Thielaviopsis basicola* root rot of citrus. *Plant Disease* 64: 839-840, 1980.
- Davis, R.M., Menge, J.A., Erwin, D.C. Influence of *Glomus fasciculatus* and soil phosphorus on *Verticillium* wilt of cotton. *Phytopathology*, 69: 453-46, 1979.
- Davis, R.M.; Menge, J.A. *Phytophthora parasitica* inoculation and intensity of vesicular-arbuscular mycorrhizae en citrus. *New Phytologist* 87: 705-715, 1980.
- Fitter, A.H.; Garbaye, J. Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms. *Plant and Soil* 159: 123-132, 1994.
- Fracchia, S.; Mujica, M.T.; García-Romera, I.; García-Garrido, J.M.; Martín, J.; Ocampo, J.A.; Godeas, A. Interactions between *Glomus mosseae* and arbuscular mycorrhizal sporocarp-associated saprophytic fungi. *Plant and Soil* 200: 131-137, 1998.
- Furlan, V.; Fortin, J.A. Effects of light intensity on the formation of vesicular-arbuscular endomycorrhizas on *Allium cepa* by *Gigaspora calospora*. *New Phytologist* 79: 335, 1977.
- García-Garrido, J.M.; García-Romera, I.; Ocampo, J.A. Cellulase production by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe. *New Phytologist* 121: 221-226, 1992.
- Gerdemann, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Annual Review of Phytopathology* 6: 397-418, 1968.
- Gerdemann, J.W.; Nicolson, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244, 1963.

- Gildon, A.; Tinker, P.B. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhiza infection and heavy metals in plants. I. The effect of heavy metals on development of vesicular arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist* 95: 247-261, 1983.
- Gonçalves, E.J.; Muchovej, J.J.; Muchovej, R.M.C. Effect of kind and method of fungicidal treatment of bean seed on infections by the VA-mycorrhizal fungus *Glomus macrocarpum* and by the pathogenic fungus *Fusarium solani*. *Plant and Soil* 132: 41-46, 1991.
- Halos, P.M.; Zorilla, R.A. Vesicular-arbuscular mycorrhizae increase growth and yield of tomato and reduce infection by *Pseudomonas solanacearum*. *Philippine Agriculturist* 62: 309-315, 1979.
- Haugen, L.M.; Smith, S.E. The effect of high temperature and fallow period on infection of mung bean and cashew roots by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Plant and Soil* 145: 71-80, 1992.
- Hayman, D.S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature. *New Phytologist* 73: 71, 1974.
- Hayman, D.S. Influence of soils and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72: 1119-1125, 1982.
- Hepper, C.M. Germination and growth of *Glomus caledonius* spores: the effects of inhibitors and nutrients. *Soil Biology and Biochemistry* 11: 269-277, 1979.
- Hetrick, B.A.D. Ecology of VA mycorrhizal fungi. In: Powell, C.L.I.; Bagyaraj, D.J. (Eds.) *VA mycorrhiza*. Boca Raton: CRC Press, 1985. p.35-55.
- Hetrick, B.A.D.; Wilson, G.W.T.; Kit, D.G.; Schwab, A.P. Effects of soil microorganisms on mycorrhizal contribution to growth of big bluestem grass in non-fertile soil. *Soil Biology and Biochemistry* 20: 501-507, 1988.
- Hussey, R.S.; Roncadori, R.W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. *Plant Disease* 56: 9-14, 1982.
- Jasper, D.A.; Abbott, L.K.; Robson, A.D. Acacias respond to additions of phosphorus and to inoculation with VA mycorrhizal fungi in soils stockpiled during mineral sand mining. *Plant and Soil* 115: 99-108, 1989.
- Jenkins, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48:692, 1964.

- Johnson, C.R.; Menge, J.A.; Schwab, S.; Ting, I.P. Interaction of photoperiod and vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth and metabolism of sweet orange. *New Phytologist* 90: 665, 1982.
- Klironomos, J.N.; Kendrick, W.B. Research on mycorrhizas: trends in the past 40 years as expressed in the 'Mycolit' database. *New Phytologist* 125: 595-600, 1993.
- Kormanik, P.P.; Bryan, W.C.; Schultz, R.C. Procedures and equipment for staining larger number of plant roots endomycorrhizal assay. *Canadian Journal of Microbiology* 26: 536-538, 1980.
- Kurle, J.E.; Pflieger, F.L. The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi. In: Pflieger, F.L.; Linderman, R.G. (Eds.) *Mycorrhizae and plant health*. St. Paul: APS Press, 1994. p.101-151.
- Laranjeira, D. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares e de espécies de *Trichoderma* no desenvolvimento da mandioca (*Manihot esculenta*) e no controle da podridão radicular causada por *Fusarium solani*. (Tese de Doutorado). Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2000. 86p.
- Linderman, R.G. Role of VAM fungi in biocontrol. Pflieger, F.L.; Linderman, R.G. (Eds.) *Mycorrhizae and plant health*. St. Paul: APS Press, 1994. p.1-25.
- Lopes, E.S.; Oliveira, E.; Dias, R.; Schenck, N.C. Occurrence and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coffee (*Coffea arabica* L.) plantations in central São Paulo State, Brasil. *Turrialba* 33: 417-422, 1983.
- Maia, L.C.; Silveira, N.S.S.; Cavalcante, U.M.T. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e patógenos radiculares. In: Michereff, S.J.; Andrade, D.E.G.T.; Menezes, M. (Eds.) *Patógenos radiculares em solos tropicais*. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001. (no prelo)
- Mark, G.L.; Cassells, A.C. Genotype-dependence in interation between *Glomus fistulosum*, *Phytophthora fragariae* and the wild strawberry (*Fragaria vesca*). *Plant and Soil* 185: 233-239, 1996.
- McGlohon, N.E. Management practices that are controlling peach diseases, *Plant Disease* 66: 9-14, 1982.
- Menge, J.A. Effect of soil fumigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology* 72: 1125-1182, 1982.
- Menge, J.A.; Munnecke, D.E.; Johnson, E.L.V.; Carnes, D.W. Dosage response of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus fasciculatus* and *Glomus constrictus* to methyl bromite. *Phytopathology* 68: 1368-1372, 1978.

- Morton, J.B.; Benny, G.L. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471-491, 1990.
- Mosse, B.; Jones, G.W. Separation of *Endogone* spores from organic soil debris by differential sedimentation on gelatin columns. *Transaction of the British Mycological Society* 51: 604-608, 1968.
- Nogueira, A.V. As micorrizas e o excesso de metais. In: Siqueira, J.O. (Ed.) *Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas*. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1996. p135-174.
- Norman, J.R.; Atkinson, D.; Hooker, J.E. Arbuscular mycorrhizal fungal-induced alteration to root architecture in strawberry and induced resistance to the root pathogen *Phytophthora fragariae*. *Plant and Soil* 185: 191-198, 1996.
- Ohms, R.E. A flotation method for collecting spores of a phycomycetous mycorrhizal parasite from soil, *Phytopathology* 47: 751-752, 1957.
- Oliveira, A.A.R.; Zambolim, L. Interação entre o fungo endomicorrízico *Glomus etunicatum* e o nematóide das galhas *Meloidogyne javanica* sob diferentes níveis de fósforo em feijão (*Phaseolus vulgaris*). *Fitopatologia Brasileira* 11: 217-226. 1986.
- Parvathi, K.; Venkateswarlu, K.; Rao, A.S. Toxicity of soil-applied fungicides to the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* in groundnut. *Canadian Journal of Botany* 63: 1673-1675, 1985.
- Phillips, J.M.; Hayman, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment on infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161, 1970.
- Powell, C.L.; Bagyaraj, D.J. VA mycorrhiza. Boca Raton: CRC Press, 1984. 234p.
- Price, N.S.; Roncadori, R.W.; Hussey, R.S. The growth of nematode 'tolerant' and 'intolerant' soybeans as affected by phosphorus, *Glomus intraradices* and light. *Plant Pathology* 44: 597-603. 1995.
- Redhead, J.F. Endotrophic mycorrhizas in Nigeria: some aspects of the ecology of the endotrophic mycorrhizal association of *Khaya grandifolia* In: Sanders, F.E.; Mosse, B.; Tinker, P.B. (Eds.) *Endomycorrhizas*. London: Academic Press, 1975. p.447-459.
- Rives, C.S.; Bajwa, M.I.; Liberta, A.E. Effects of topsoil storage during surface minig on the viability of VA mycorrhiza. *Soil Science* 129: 253-257, 1980.

- Rousseau, A.; Benhamou, N.; Chet, I.; Piché, Y. Mycoparasitism of the extramatrical phase of *Glomus intraradices* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 86: 434-443, 1996.
- Sáinz, M.J.; Taboada-Castro, M.T.; Vilarino, A. Growth, mineral nutrition and mycorrhizal colonization of red clover and cucumber plants grown in a soil amended with composted urban wastes. *Plant and Soil* 71: 85-92, 1998.
- Santhi, A.; Sundarababu, R. Effect of phosphorus on the interaction of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi with *Meloidogyne incognita* on cowpea. *Nematologica Mediterranea* 23: 263-265, 1995.
- Schenck, N.C.; Schroeder, V.N. Temperature response of *Endogone* mycorrhiza on soybean roots. *Mycologia* 66: 600-605, 1974.
- Sheikh, N.A.; Saif, S.R.; Khan, H.G. Ecology of *Endogone*. II. Relationship of *Endogone* spore population with chemical soil factors. *Islamabad Journal Science* 2: 6-9, 1975.
- Sieverding, E. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. Eschborn: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, 1991. 371p.
- Sieverding, E.; Leihner, D.E. Effect of herbicides on population dynamics of VA-mycorrhiza with cassava. *Angewandte Botanik* 58: 283-294, 1984.
- Silveira, A.P.D. Micorrizas. In: Cardoso, E.J.B.N.; Tsai, S.M.; Neves, M.C.P. (Eds.) *Microbiologia do solo*. Campinas: SBCS, 1992. p.258-282.
- Silveira, N.S.S.; Maia, L.C. Fungos micorrízicos arbusculares em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Agrotrópica* 8: 53-60. 1996.
- Siqueira, J. O.; Franco, A.A. Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas. Brasília: FAEPE/ABEAS/MEC/ESAL, 1988. 236p.
- Siqueira, J.O. Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1996. 290p.
- Siqueira, J.O.; Hubbell, D.H.; Mahmud, A.W. Effect of liming on spore germination, germ tube growth and root colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 76: 115-124, 1984.
- Smith, G.S.; Kaplan, D.T. Influence of mycorrhizal fungi, phosphorus and burrowing nematode interactions on growth of rough lemon citrus seedlings. *Journal of Nematology*, 20: 539-544. 1988.
- Smith, S.E.; Read, D.J. *Mycorrhizal symbiosis*. 2<sup>nd</sup> ed. San Diego: Academic Press, 1997. 605p.
- Smith, G.S.; Roncadori, R.W.; Hussey, R.S. Interaction of endomycorrhizal fungi, superphosphate and *Meloidogyne incognita* on cotton in microplot and field studies. *Journal of Nematology* 18: 208-216. 1986.

- Sreenivasa, M.N.; Bagyaraj, D.J. Use of pesticides for mass production of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculum. *Plant and Soil* 119:127-132, 1989.
- Sundarababu, R.; Sankaranarayanan, C.; Santhi, A. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizas and *Meloidogyne javanica* on tomato as influenced by time of inoculation. *Indian Journal of Nematology* 23: 125-126. 1995.
- Suriyapperuma, S.P.; Koske, R.E. Attraction of tubes and germination of spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora gigantea* in the presence of roots of maize exposed to different concentrations of phosphorus. *Mycologia* 87: 772-778, 1995.
- Sutton, J.C.; Barron, G.L. Population dynamics of *Endogone* spores in soil. *Canadian Journal of Botany* 50: 1909-1914, 1972.
- Tommerup, I.C.; Carter, D.J. Dry separation of microorganisms from soil, *Soil Biology and Biochemistry* 14: 69-71, 1982.
- Trappe, J.M.; Molina, R.; Castellano, M. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhiza formation to pesticides. *Annual Review of Phytopathology* 22: 331-359, 1984.
- Traquair, J.A. Fungal biocontrol of root diseases: endomycorrhizal suppression of cylindrocarpon root rot. *Canadian Journal of Botany* 73: 89-95. 1995.
- Trotta, A.; Varese, G.C.; Gnani, E.; Fusconi, A.; Sampo, S.; Berta, G. Interactions between the soilborne root pathogen *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* in tomato plants. *Plant and Soil* 185: 199-209, 1996.
- Tzean, S.S.; Chu, C.L.; Su, H.J. Spiroplasmalike organisms in a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and its mycoparasite. *Phytopathology* 73: 989-991, 1983.
- Wyss, P.; Boller, T.H.; Wiemken, A. Testing the effect of biological control agents on the formation of vesicular arbuscular mycorrhiza. *Plant and Soil* 147: 159-162, 1992.
- Yuri, M.M.; Machado, J.O.; Churata-Masca, M.G.C.; Andrioli, J.L. Respostas do tomateiro a inóculo de solo rizosférico de *Paspalum notatum*, fungus MVA e *Azotobacter paspali*. *Científica* 22: 53-56. 1994.



# MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA O CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS

WAGNER BETTIOL

## INTRODUÇÃO

O A sociedade exige, cada vez mais, a produção de alimentos sem resíduos de pesticidas e com menor contaminação do ambiente. Essas exigências são devidas ao maior conhecimento pelo homem das conseqüências advindas do uso dos pesticidas, causando, em muitos casos, graves impactos ambientais e intoxicações. A preocupação da sociedade com a contaminação do ambiente por pesticidas se expressa através de segmentos do mercado ávidos por produtos agrícolas diferenciados, tanto aqueles produzidos sem uso de pesticidas, como por aqueles portadores de selos de que os pesticidas foram utilizados adequadamente. Dessa forma, vem se buscando alternativas aos pesticidas, entre eles os fungicidas, que são usados para o controle de doenças de plantas. Dentre as alternativas, o controle biológico é o que vem sentindo os maiores avanços e, possivelmente, o mais estudado. Entretanto, diversas outras alternativas vem sendo estudadas e utilizadas. Nesse trabalho serão apresentados e discutidos o controle biológico; o uso de leite de vaca cru e do resíduo da fermentação glutâmica do melão no controle de oídio da abobrinha; a solarização do solo; a biofumigação; o uso de coletor solar para desinfestação de substratos; o uso de extratos aquosos de matéria orgânica e biofertilizantes; o uso de extratos de plantas e de fungos e sais no controle de oídios, e o uso de conservadores alimentares para o controle de doenças em pós-colheita.

Apesar da apresentação dessas alternativas para o controle de doenças de plantas, um dos aspectos importantes para evitar problemas com doenças é aumentar a biodiversidade da propriedade. Além disso, há necessidade de se produzir tomando todos os cuidados para que a planta não fique doente. Portanto, devemos trabalhar com a saúde da planta. E, a saúde da planta é conseguida com técnicas que evitem qualquer tipo de estresse.

## CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico é definido por Cook & Baker (1983) como a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença, provocada por um patógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem. Nas atividades determinantes de doenças estão envolvidos o crescimento, a infectividade, a virulência e outras qualidades do patógeno, ou processos que determinam a infecção, o desenvolvimento de sintomas e a reprodução. Nos organismos são incluídos os indivíduos ou as populações avirulentas ou hipovirulentas, dentro das espécies patogênicas; a planta hospedeira manipulada geneticamente ou por práticas culturais, ou microrganismos, para maior ou mais efetiva resistência contra o patógeno; e os antagonistas dos patógenos, definidos como os microrganismos que interferem na sobrevivência ou nas atividades determinantes de doenças causadas por fitopatógenos. Assim, segundo esses autores, o controle biológico pode ser acompanhado por: práticas culturais para criar um ambiente favorável aos antagonistas e à resistência da planta hospedeira ou ambas; melhoramento da planta para aumentar a resistência ao patógeno ou adequar o hospedeiro para as atividades dos antagonistas; introdução em massa de antagonistas e linhagens não patogênicas ou outros organismos ou agentes benéficos.

A definição de Cook & Baker (1983) é a mais aceita pela comunidade científica. Entretanto, a introdução massal de antagonistas é a forma mais praticada e estudada de controle biológico. Assim, muitos definem controle biológico como o controle de um microrganismo por meio de outro microrganismo. Comercialmente essa é a definição utilizada, estando disponíveis no mercado, os seguintes produtos comerciais e seus respectivos agentes: AQ10 (*Ampelomyces quisqualis*), Aspire (*Candida oleophila*), Binab T (*Trichoderma harzianum* e *T. polysporum*), Biofox C (*Fusarium oxysporum*-não patogênico), Bio-Fungus (*Trichoderma*), Bio-Save 100, Bio-Save 110 e Bio-Save 1000 (*Pseudomonas syringae*), BlightBan A506 (*Pseudomonas fluorescens*), Blue Circle (*Burkholderia cepacea*), Conquer (*Pseudomonas fluorescens*), Contans (*Coniothyrium minitans*), Deny (*Burkholderia cepacea*), Epic (*Bacillus subtilis*), Fusaclean (*Fusarium oxysporum*), Galltrol-A (*Agrobacterium radiobacter*), Intercept (*Pseudomonas cepacia*), Kodiak, Kodiak HB e Kodiak AT (*Bacillus subtilis*), Koni (*Coniothyrium minitans*), Mycostop (*Streptomyces griseovirides*), Nogall, Diegall (*Agrobacterium radiobacter*), Norbac 84C (*Agrobacterium radiobacter*), Phagus (bacteriofagos), Polygandron (*Pythium oligandrum*), Promote (*Trichoderma harzianum* e *T. viride*), PSSOL (*Pseudomonas solanacearum*-não patogênica), Rhizo-Plus e Rhizo-Plus Konz. (*Bacillus subtilis*), RootShield T-22G (*Trichoderma harzianum*),

Rotstop, P.g. (*Phlebia gigantea*), Serenade (*Bacillus subtilis*), SoilGard (*Gliocladium virens*), Supresivit (*Trichoderma harzianum*), System 3 (*Bacillus subtilis* GB03), T-22G, T-22 Planter Box (*Trichoderma harzianum*), Trichodex (*Trichoderma harzianum*), Trichopel, Trichobject, Trichodowels e Trichoseal (*Trichoderma harzianum*), Trichoderma 2000 (*Trichoderma* sp. e Victus (*Pseudomonas fluorescens*) (Fravel, 1998).

No Brasil, nenhum desses produtos está disponível no mercado. Entretanto, muitos desses e outros agentes são utilizados em escala comercial, sendo normalmente multiplicados pelos próprios usuários. Com uso em larga escala no Brasil, podem ser citados diversos exemplos discutidos por Bettiol (1996):

- **Controle da tristeza dos citros por premunização com estirpes fracas do vírus da tristeza.** Mudanças de laranja 'Pêra' previamente inoculadas com estirpes fracas do vírus (premunizadas) se desenvolvem normalmente, sem apresentar sintomas da doença e com produção normal. O custo das mudas premunizadas é o mesmo das não premunizadas. Perto de 100 milhões de plantas de laranja 'Pera' premunizadas estão sendo cultivadas no estado de São Paulo;
- **Controle do mosaico da abobrinha por premunização com estirpe fraca do vírus.** São distribuídas folhas de abobrinha infectadas com o vírus fraco e após maceração são inoculadas mudas de abobrinha antes de serem transplantadas no campo. Para premunizar cerca de 500 mudas bastam, em média, quatro folhas novas. Rezende & Müller (1995) afirmam que a maioria das plantas de abobrinha tipo moita, premunizada no estádio de folha cotiledonar e expostas no campo, não apresenta sintomas severos da doença durante um período de 60 a 70 dias após a inoculação de premunização, contra 25 a 30 dias das não premunizadas; a produção das plantas premunizadas foi bem superior às não premunizadas;
- **Controle da lixa do coqueiro com *Acremonium*.** Uma aplicação do antagonista no período do florescimento é efetiva para controlar a doença, sendo que em muitos casos não há necessidade de reaplicação do *Acremonium*, pois ele se instala na área. O custo de uma aplicação do antagonista é aproximadamente cinco vezes menor que a de fungicidas;
- **Controle do mofo cinzento do morango com *Gliocladium roseum*.** Esse antagonista é recomendado para ser pulverizado uma vez por semana em morango, sob cultivo protegido, durante o período do florescimento, sendo o controle tão efetivo quanto os fungicidas;
- ***Trichoderma* para o controle da podridão do colo da macieira.** O *Trichoderma* é utilizado para colonização do substrato das covas de replantio da macieira, que foi previamente desinfestado com formaldeído;

- ***Trichoderma* para controle de tombamento em fumo.** O antagonista é incorporado nos substratos para a produção de mudas de fumo, com controle efetivo dos agentes causais do tombamento.
- ***Trichoderma* para o controle de tombamento de plântulas em geral.** Vem sendo comercializado um produto à base de *Trichoderma* multiplicado em grãos de arroz para a incorporação em substratos e solos utilizados na produção de mudas.

Os diferentes bioagentes de controle agem basicamente por meio dos seguintes mecanismos: antibiose, competição, parasitismo, predação e indução da defesa do hospedeiro. Apesar da divisão, um antagonista pode agir por um ou mais mecanismos de interações antagonísticas. Inclusive quando age por mais do que um mecanismo, as chances de sucesso são aumentadas. Antibiose é uma interação entre organismos na qual um ou mais metabólitos (antibióticos) produzidos por um organismo têm efeito prejudicial sobre o outro. Competição é a luta entre duas ou mais populações de nichos semelhantes por um fator limitante, como alimento e espaço; onde as duas populações são prejudicadas, embora freqüentemente a mais apta acabe predominando. Parasitismo é usado em referência ao fenômeno de um microrganismo parasitar o outro, isto é viver às custas de outro organismo; é uma interação morfológica e fisiológica íntima entre duas populações, onde o parasita é beneficiado e o hospedeiro prejudicado. Predação é o ato de um organismo caçar outro organismo, onde o predador é beneficiado e a presa prejudicada. Enquanto para esses mecanismos as ações estão direcionadas para o patógeno, na indução de defesa do hospedeiro, a ação dos organismos ou seus metabólitos é direcionada ao hospedeiro. Nesse caso ocorrem alterações bioquímicas de resposta de resistência da planta.

## CONTROLE DE OÍDIO DA ABOBRINHA COM LEITE

A eficiência do leite de vaca no controle do oídio da abobrinha foi demonstrada por Bettioli *et al.* (1999). Nos ensaios com leite cru, pulverizado duas vezes por semana, nas concentrações de 5, 10, 20, 30, 40 e 50%, o controle da doença foi de 62, 82, 90, 91, 94 e 93, respectivamente, enquanto o fungicida apresentou controle de 85%, 29 dias do início das pulverizações (Tabela 5.1). Os ensaios foram repetidos três vezes com resultados semelhantes aos anteriores. Quando da realização da análise de regressão não linear, dos resultados obtidos nas avaliações aos 22 dias após o início das pulverizações, foi verificado, para os três ensaios, que as tendências foram semelhantes; sendo a severidade da doença negativamente correlacionada com a concentração de leite pulverizada (Figura 6.1). Esses mesmos autores

verificaram que o leite, pulverizado uma vez por semana, apresentou as mesmas tendências de controle que a aplicação duas vezes por semana, sendo que a aplicação de leite em concentrações superiores a 20% apresentou o mesmo controle que o fungicida. Aos 38 dias, após o início das pulverizações, as porcentagens de controle da doença nos tratamentos com leite a 5; 10; 20; 30; 40 e 50%, e fungicida foram de 38; 66; 81; 82; 83; 84 e 80%, em relação a testemunha, respectivamente. A análise de regressão não linear, realizada com os resultados obtidos após 24 dias do início das pulverizações, conforme descrito anteriormente, mostrou que a severidade da doença foi negativamente correlacionada com a concentração de leite pulverizada (Figura 6.1).

Tabela 5.1 – Efeito do leite de vaca cru, pulverizado duas vezes por semana, sobre a porcentagem de área foliar lesionada por folha lesionada de abobrinha por *Sphaerotheca fuliginea* [adaptado de Bettiol *et al.* (1999)].

Tratamento	1º Ensaio		2º Ensaio		3º Ensaio	
	Dias após o início das pulverizações		Dias após o início das pulverizações		Dias após o início das pulverizações	
	22 dias	29 dias	15 dias	22 dias	15 dias	22 dias
Testemunha	50,7 a	56,9 a	32,5 a	53,3 a	40,0 a	64,2 a
Leite 5%	21,7 b (57)	17,5 b (62)	11,0 b (66)	10,5 b (80)	6,3 b (84)	7,1 bc (79)
Leite 10%	11,5 cd (77)	10,0 c (82)	8,0 bc (75)	7,1 bc (87)	3,0 c (93)	1,9 c (97)
Leite 20%	7,5 d (85)	5,4 c (90)	2,8 c (91)	2,8 cd (95)	1,3 c (97)	1,3 c (98)
Leite 30%	6,6 d (87)	5,1 c (91)	1,2 c (96)	1,8 cd (97)	1,2 c (97)	1,3 c (98)
Leite 40%	4,6 d (91)	3,5 c (94)	0,9 c (97)	0,8 d (98)	0,5 c (99)	0,8 c (99)
Leite 50%	4,2 d (92)	3,8 c (93)	0,5 c (98)	0,5 d (99)	0,6 c (98)	1,0 c (98)
Fungicida	15,7 bc (69)	8,8 c (85)	1,0 c (91)	7,5 bc (86)	15,1 b (62)	15,6 b (75)

Cada valor representa a média de 5 repetições. Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si (Tukey 5%). Os números entre parênteses referem-se à porcentagem de controle dos tratamentos em relação à testemunha. No primeiro e no terceiro ensaios o fungicida utilizado foi o fenarimol (0,1 ml/l), enquanto que no segundo ensaio foi o benomyl (0,1 g/l). O tratamento fungicida foi pulverizado uma vez por semana.

Nos cinco ensaios realizados, tanto com uma como, com duas pulverizações por semana, todos os tratamentos com leite diferiram da testemunha. Entretanto, foi em concentrações acima de 10% que o leite controlou a doença semelhantemente aos fungicidas (Tabelas 5.1, Figura 5.1).

Nas condições de cultivo os produtores de pepino, abobrinha e pimentão estão utilizando o leite a 5 e 10% para o controle do oídio dessas culturas, com resultados superiores aos fungicidas padrões.

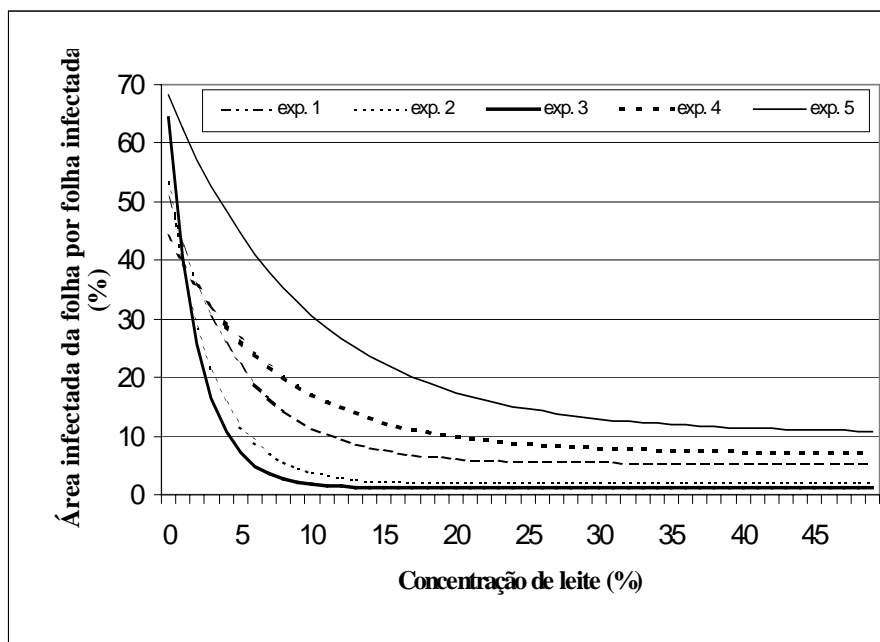


Figura 5.1 – Relação entre a severidade de oídio (*Sphaerotheca fuliginea*) em folhas de abobrinha com a concentração de leite pulverizado duas vezes na semana após 22 dias da primeira pulverização ( $R^2=0.94$ ; 0.96 e 0.94, para o primeiro, segundo e terceiro experimento, respectivamente), e uma vez na semana após 24 dias da primeira pulverização ( $R^2=0.89$  e 0.96, para o quarto e quinto experimentos, respectivamente) (Bettiol *et al.*, 1999).

## RESÍDUO DA FERMENTAÇÃO GLUTÂMICA DO MELAÇO

O resíduo da fermentação glutâmica do melaço (RFGM) contém em sua composição nitrogênio (5%), fósforo (0,18% de  $P_2O_5$ ), potássio (1,57% de  $K_2O$ ), enxofre (4,0%), cálcio e sódio (0,3%), magnésio (0,5%), ferro, manganês, molibidênio, zinco e aminoácidos (prolina, asparagina, treonina, serina, ácido glutâmico, glicina, alanina, valina, metionina, isoleucina, leucina, triptofano, fenilalanina, lisina, histidina e arginina), sendo comercializado pela Ajinomoto Interamericana Industria e Comércio Ltda., como fertilizante foliar ou ração animal. Como o produto possui diversos sais, reconhecidamente efetivos no controle do oídio, Bettiol & Astiarraga (1998) testaram esse resíduo, fermentado ou não com *Bacillus subtilis*, para

o controle do oídio (*S. fuliginea*) da abobrinha. O produto foi eficiente no controle da doença quando pulverizado a 1,5 e a 2,5%, fermentado ou não com *B. subtilis* (Tabela 5.2). Os autores também demonstraram que os sais presentes no resíduo são mais eficientes do que os aminoácidos, quando pulverizados individualmente. Os tratamentos com resíduo fermentado por *B. subtilis*, apesar de serem mais eficientes, não diferiram do produto sem a fermentação. Nos tratamentos onde o RFGM foi fermentado por *B. subtilis*, a concentração final do produto foi semelhante aos tratamentos sem fermentação. Para tanto, o meio de cultura a ser fermentado pelo *Bacillus*, continha 5% do RFGM. Uma das vantagens desse produto, apontada por Bettiol & Astiarraga (1998), é o seu baixo custo.

Tabela 5.2 – Efeito do resíduo da fermentação glutâmica do melão (RFGM) sobre a porcentagem de área foliar lesionada por folha lesionada de abobrinha por *Sphaerotheca fuliginea* [adaptado de Bettiol & Astiarraga (1998)].

Tratamento	Porcentagem de área foliar lesionada/folha lesionada		
	1º Experimento	2º Experimento	3º Experimento
Testemunha (água)	51,0 a	59,2 a	67,9 a
Fungicida (fenarimol-0,1 ml/l)	0,3 b (99)	-	-
Suspensão de sais 2,5%*	-	16,5 c (72)	13,3 c (81)
Suspensão de aminoácidos 2,5%**	-	50,4 b (15)	40,8 b (40)
RFGM 1,5%	4,4 b (91)	-	-
RFGM 2,5%	1,0 b (98)	8,9 c (85)	13,8 c (80)
RFGM Esterilizado 1,5%	5,6 b (89)	-	-
RFGM Esterilizado. 2,5%	2,7 b (95)	-	-
RFGM fermentado por <i>Bacillus subtilis</i> 30%	1,0 b (98)	-	-
RFGM fermentado por <i>B. subtilis</i> 50%	0,5 b (99)	-	-

Os valores são dados das avaliações realizadas aos 27, 31 e 29 dias após o início das pulverizações, para o 1º, 2º e 3º experimentos, respectivamente. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%). Os números entre parênteses referem-se a porcentagem de controle obtida em relação à testemunha.

\*Sais 2,5% é uma suspensão de: (NH<sub>4</sub> NO<sub>3</sub> -37,1g/l; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> - 139,6 g/l; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 10,1 g/l; KNO<sub>3</sub> - 26 g/l; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> . 4H<sub>2</sub>O - 17,7 g/l; MgSO<sub>4</sub> .7H<sub>2</sub>O - 50,7 g/l; NaNO<sub>3</sub> - 1,1 g/l; FeSO<sub>4</sub> .7H<sub>2</sub>O - 0,5 g/l; MnCl<sub>2</sub> .4H<sub>2</sub>O -0,072 g/l; ZnSO<sub>4</sub> .7H<sub>2</sub>O - 0,044 g/l; Na<sub>2</sub> MoO<sub>4</sub> . 2H<sub>2</sub>O - 0,0025 g/l).

\*\*Aminoácidos 2,5% é uma suspensão de: (asparagina-5,99 g/l; ácido glutâmico - 42,0 g/l; glicina - 1,65 g/l; alanina - 1,0 g/l; metionina - 0,45 g/l; isoleucina - 1,84 g/l; triptofano - 0,69 g/l; fenilalanina - 1,33 g/l; lisina - 1,17 g/l; arginina - 1,11 g/l; prolina - 3,65 g/l e tirosina - 2,0 g/l).

(-) Tratamentos não efetuados.

## SOLARIZAÇÃO DO SOLO

A técnica consiste na utilização da energia solar para a desinfestação do solo, por meio da cobertura com um filme plástico transparente, antes do plantio. A solarização pode ser utilizada, tanto em condições de campo, em extensas áreas, como em cultivo protegido e deve ser realizada preferencialmente durante o período de maior incidência de radiação solar (Ghini & Bettiol, 1995; Katan & Devay, 1991; Souza, 1994). A solarização se mostra eficiente no controle de diversos fitopatógenos habitantes do solo, como: *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, *Pseudomonas* e *Meloidogyne* entre outros. Após a cobertura, as camadas superficiais do solo apresentam temperaturas superiores às do solo descoberto, sendo que o aquecimento é menor quanto maior for a profundidade. O filme plástico deve ser mantido por um período de tempo suficiente para que haja a inativação das estruturas dos patógenos localizadas nas camadas mais profundas do solo.

Parte da população de patógenos é morta pela exposição às maiores temperaturas, que geralmente ocorrem nas camadas superficiais do solo solarizado. A sensibilidade ao calor apresentada por diversos patógenos de plantas pode indicar a possibilidade de controle através da solarização. Porém, apesar da exposição do patógeno ao calor ser um importante fator, não é o único mecanismo envolvido no controle. Os processos microbianos induzidos pela solarização contribuem para o controle da doença, já que o aquecimento do solo também atua sobre organismos não-alvo. Esses processos podem ter especial importância quando os efeitos acumulativos do calor são insuficientes para o controle do patógeno como, por exemplo, nas camadas mais profundas do solo ou em climas menos favoráveis à solarização. Os propágulos dos patógenos, enfraquecidos pelas temperaturas sub-letais, dão condições e estimulam a atuação de antagonistas.

Devido ao fato das temperaturas atingidas pelo solo durante a solarização serem relativamente baixas quando comparadas com o aquecimento artificial (vapor), os seus efeitos nos componentes bióticos são menos drásticos, evitando a formação de “vácuos biológicos”. Durante a solarização, as temperaturas atingidas permitem a sobrevivência de alguns grupos de microrganismos. De modo geral, os microrganismos parasitas de plantas são eliminados por temperaturas inferiores àsquelas necessárias para controlar os saprófitas, dentre eles muitos antagonistas, como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*, actinomicetos e fungos termotolerantes. Como consequência, há uma alteração na composição microbiana, em favor de antagonistas, estimulando a supressividade do solo a patógenos e não é criado, portanto, o chamado “vácuo biológico”. A atividade microbiana que ocorre durante a solarização promove um controle biológico, em adição ao efeito térmico. Por



esse motivo, a reinfestação de um solo solarizado é mais difícil do que um solo que sofreu um tratamento esterilizante, como no caso do vapor ou um biocida químico, como por exemplo, a fumigação com brometo de metila. Assim, a solarização dura períodos maiores do que os demais tratamentos.

A principal característica do filme plástico utilizado é a transparência, que permite a passagem dos raios solares e promove de forma eficiente o efeito estufa e, assim, o maior aquecimento do solo. Os filmes pretos e de outras cores não são recomendados por não serem tão eficientes na elevação da temperatura do solo. A espessura do plástico tem influência sobre sua durabilidade e custo. Por esse motivo, plásticos com 25 a 50 µm têm sido recomendados. A instalação do filme plástico em grandes áreas pode ser feita por máquinas especialmente desenvolvidas para tal finalidade ou manualmente, em áreas menores ou estufas. O terreno deve ser preparado de forma usual, isto é, por meio de aração e gradagem, eliminando-se galhos e outros materiais pontiagudos, que possam perfurar o plástico. A fixação do filme plástico é feita enterrando-se as suas bordas em sulcos no solo, de forma que permaneça sobre o terreno sem a formação de bolsas de ar, cobrindo toda a área a ser tratada. A emenda de dois filmes deve ser feita enterrando-se as bordas de ambos num único sulco.

Além de controlar eficientemente fitopatógenos habitantes do solo, a solarização do solo é eficiente no controle de plantas invasoras, sendo que diversos agricultores utilizam a técnica com essa finalidade para substituir o uso de herbicidas (Ghini & Bettiol, 1995).

## **BIOFUMIGAÇÃO DO SOLO**

Biofumigação é o termo utilizado para indicar a supressão de fitopatógenos veiculados pelo solo por compostos biocidas liberados no solo quando glicosinolatos de brássicas utilizadas como adubo verde ou rotação de culturas são hidrolizados (Kirkegaard & Sarwar, 1998). Esses compostos possuem a capacidade de inativar diversos fungos fitopatogênicos habitantes do solo. É interessante combinar a solarização do solo com a incorporação de brássicas, pois o plástico retém por um período maior os gases liberados na decomposição. A biofumigação tem sido eficiente no controle de *Fusarium*. Além de brássicas, diversos autores vem realizando a biofumigação com outras fontes de matéria orgânica, como Schoenmaker & Ghini (dados não publicados) que obtiveram sucesso no controle de *Pythium* do pepino.

## COLETOR SOLAR PARA A DESINFESTAÇÃO DE SUBSTRATO

O coletor solar consiste, basicamente, de uma caixa de madeira que contém tubos de ferro galvanizado e uma cobertura de plástico transparente, que permite a entrada dos raios solares. O solo é colocado nos tubos pela abertura superior e, após o tratamento, retirado pela inferior, por meio da força da gravidade. Os coletores devem ser instalados com exposição na face norte (no hemisfério sul) e um ângulo de inclinação semelhante à latitude local acrescida de 10°, para garantir a maior incidência de radiação solar durante o ano todo. A colocação de isolantes térmicos (isopor, lã de vidro) no fundo do coletor (entre a chapa de alumínio e a madeira) pode auxiliar a retenção do calor no interior da caixa. Alguns patógenos habitantes do solo, como fungos, bactérias e nematóides, podem ser inativados no coletor em algumas horas de tratamento, devido às altas temperaturas atingidas, porém recomenda-se o tratamento por um ou dois dias. Ghini (1993) verificou que um dia de tratamento foi suficiente para o controle de *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* e *Pythium aphanidermatum*. Em outros testes com o coletor solar, Ghini *et al.* (1998) verificaram o controle de *Meloidogyne arenaria* em substratos para a produção de mudas de tomateiro.

Em um trabalho de avaliação econômica da substituição do brometo de metila pelos coletores em um viveiro comercial, Ghini *et al.* (1998) estudaram os custos referentes à substituição no Núcleo de Produção de Mudas da CATI, situado em São Bento do Sapucaí/SP. O volume de substrato tratado é de 400 m<sup>3</sup>/ano, demandando 200 latas de brometo (300 mL) ou 20 coletores solares (0,1 m<sup>3</sup> de substrato/coletor/dia; 200 dias ao ano). A diferença para os custos anualizados de tratamento a favor do brometo de metila varia de R\$0,42 a R\$0,52/m<sup>3</sup> de substrato, dependendo da taxa de juros usada. Porém, o trabalho não contempla as externalidades decorrentes de ambos os métodos, quanto à saúde do aplicador, qualidade ambiental e problemas de resíduos. Quanto ao controle de fitopatógenos, foi verificado que um dia de tratamento nos coletores foi suficiente para erradicar a população de *Fusarium* spp., *Phytophthora* sp., *Meloidogyne* sp., *Helicotylenchus* sp. e nematóides não parasitos.

O equipamento apresenta diversas vantagens: não consome energia, é de fácil manutenção e construção, não apresenta riscos para o operador e tem baixo custo. Além disso, o uso do coletor permite a sobrevivência de microrganismos termotolerantes benéficos que impedem a reinfestação pelo patógeno, o que não ocorre nos tratamentos com brometo de metila e autoclaves que esterilizam o solo, criando um “vácuo biológico”.

## EXTRATOS AQUOSOS DE MATÉRIA ORGÂNICA E BIOFERTILIZANTE

Uma opção econômica e de baixo impacto é o uso de extratos aquosos de matéria orgânica e biofertilizantes para o controle de doenças de plantas do filoplano. Essa nova abordagem do controle biológico passou a ser considerada viável após observações de uso prático por agricultores orgânicos. As principais vantagens desta técnica, quando comprovadamente eficaz, são o custo e a disponibilidade do produto. O custo é basicamente o relacionado ao preparo do material pelo próprio agricultor. Como existem relatos da eficiência de extratos aquosos de diferentes fontes de matéria orgânica, o agricultor não depende da compra deste material mas sim apenas do aproveitamento de material disponível na propriedade. Esses extratos e os biofertilizantes possuem uma complexa e elevada comunidade microbiana, com presença de bactérias, fungos leveduriformes e filamentosos e actinomicetos. Além da comunidade microbiana original, esses extratos podem ser bioativados com reconhecidos agentes de biocontrole. Weltzien & Ketterer (1986) induziram o aumento da resistência de folhas de videira contra míldio (*Plasmopara viticola*), quando essas foram mergulhadas ou pulverizadas com extratos aquosos de uma mistura de composto de esterco de cavalo, palha de trigo e solo. Esses autores prepararam o extrato usando 250 g da mistura em 750 ml de água e temperatura entre 18 a 22°C. O extrato não apresentou fitotoxicidade e ação fungicida direta sobre o patógeno. Weltzien (1989) obteve controle de *P. viticola*, *Uncinula necator* e *Pseudopeziza tracheiphila* em videira; *Phytophthora infestans* em batata e tomate; *Erysiphe graminis* em cevada; *Erysiphe betae* em beterraba açucareiro; *Sphaerotheca fuliginea* em pepino e *B. cinerea* em morango e feijão com aplicações de extratos aquosos da mistura contendo esterco de cavalo, palha e solo compostados por 8-12 meses. A indução de resistência foi um dos mecanismos envolvidos, porém o autor observou inibição direta dos fungos pelo extrato. McQuilken *et al.* (1994), utilizando extratos aquosos obtidos da mistura de esterco e palha compostada, obtiveram supressão do desenvolvimento de lesões de *B. cinerea* em folhas de feijão. Os extratos inibiram a germinação dos conídios e reduziram o crescimento micelial do fungo. Também trabalhando com *B. cinerea*, Elad & Shtienberg (1994) obtiveram o seu controle em tomate, pimentão e uva, pulverizando-os com extratos aquosos de compostos produzidos a partir da mistura de esterco de vaca e de galinha, e a partir de bagaço de uva. Esses extratos controlaram parcialmente o Oídio (*Leveillula taurica*) de folhas de tomate.

O biofertilizante, produzido pela digestão anaeróbia de esterco bovino, vem sendo recomendado para o controle de diversas doenças (Santos, 1992). Castro *et al.* (1991) verificaram inibição de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Thielaviopsis paradoxa*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium* e *Cladosporium*

pelo biofertilizante. Tratch & Bettiol (1997) observaram inibição do crescimento micelial de *Alternaria solani*, *Stemphylium solani*, *Septoria lycopersici* e *B. cinerea* e inibição da germinação de esporos de *B. cinerea*, *A. solani*, *Hemileia vastatrix* e *Coleosporium plumierae*.

Zhang *et al.* (1996) induziram o controle de antracnose (*Colletotrichum orbiculare*) em folhas de pepino com substrato supressivo a *Pythium*. Entretanto, o mecanismo de aquisição de resistência sistêmica é desconhecido. O uso de substrato capaz de induzir a resistência sistêmica tem como vantagens a facilidade de aplicação e a não necessidade de preparo do extrato.

Esses produtos apresentam como característica principal uma complexa comunidade microbiana, sendo essa, a possível responsável pelo controle dos patógenos. Pela complexidade da comunidade microbiana, são relatados a ação de todos os mecanismos de ação dos agentes de controle biológico conhecidos agindo no controle, quando de sua incorporação no filoplano. Além do controle de patógenos existe referência sobre seu efeito nutricional na planta (McQuilken *et al.*, 1994; Santos, 1992). Contudo, como se trata de uma técnica que vem sendo expandida, há necessidade de realização de estudos para a determinação dos impactos no ambiente e na saúde pública. Para minimizar os possíveis problemas sugere-se o uso de matéria orgânica livre de metais pesados e de agentes nocivos à saúde pública. No caso dos extratos aquosos, a indicação é de uso de matéria orgânica compostada.

## EXTRATOS DE PLANTAS E DE FUNGOS

O uso de extrato de plantas no controle de doenças de plantas vem sendo amplamente estudado, mas ainda continua sendo pouco utilizado na prática, exceção feita aos agricultores que praticam a agricultura orgânica e que utilizam normalmente esses extratos. Um dos motivos de seu baixo uso é a dificuldade em se obter os tecidos vegetais a serem processados e também o preparo propriamente dito do extrato, pois existe a cultura de se adquirir o produto pronto. Entretanto, sucesso, inclusive comercial, vem sendo obtido.

Um dos melhores exemplos de uso comercial de extratos de plantas é o produto comercial Milsana<sup>®</sup>, obtido de folhas de *Reynoutria sachalinensis*. Daayf *et al.* (1995) observaram que Milsana controlou o oídio de pepino, causado por *S. fuliginea*, de forma semelhante ao fungicida benomyl. Os autores verificaram que aplicações semanais do extrato induziram as folhas a se tornarem mais verdes e brilhantes, porém mais quebradiças. O efeito do extrato no controle da doença está relacionado com o aumento de compostos fenólicos nas folhas. Assim, Milsana deve estar relacionada com a indução de resistência em pepino. Os autores sugerem a possibilidade de utilizar esse

produto em programas de manejo da doença. Em uma coletânea de receitas sobre práticas alternativas para controle de doenças, Abreu Junior (1998) recomenda a mistura de 2 kg de folhas e hastes secas e moídas de *Reynoutria sachalinensis* em 98 litros de água, e aplicar o extrato coado em intervalos de 7 a 10 dias para o controle de oídio das cucurbitáceas. No controle do oídio da roseira, Passini *et al.* (1997) verificaram que Milsana foi parcialmente efetivo.

Outra planta que vem despertando muita atenção é o Nim (*Azadirachta indica*), principalmente para controle de pragas. Entretanto, diversos trabalhos vem mostrando a sua efetividade no controle de oídio. Passini *et al.* (1997) verificaram que extrato de nim apresentou um controle satisfatório do oídio da roseira. Jayme *et al.* (1999) estudaram a eficiência de alguns produtos naturais no controle do oídio do feijoeiro (*Erysiphe polygoni*) e verificaram que Nimkol-L, OleoNim e Ace-Nim-EC (produtos obtidos de Nim), pulverizados duas vezes em plantas altamente infestadas com a doença, apresentaram controle do oídio, determinado pela porcentagem de folha lesionada, em 81, 98 e 86%, respectivamente. Os dados sobre o potencial dessa planta são contrastantes. Volf & Steinhauer (1997) observaram que *S. fuliginea* não foi controlado por extratos de folhas de nim, mas sim estimulou o crescimento do mesmo. Diversas outras plantas são reconhecidamente efetivas e utilizadas.

Stadnik & Bettiol (2001) avaliaram a eficiência de extratos de basidiocarpos de *Ganoderma* sp., originados de árvores urbanas de alecrim (*Holocalyx glaziovii*), flamboyant, sibipiruna e ipê-rosa, para o controle do Oídio (*Sphaerotheca fuliginea*) do pepino (*Cucumis sativus*). A eficiência dos extratos em controlar o oídio foi variável. A maior frequência de extratos ativos foi obtida com basidiocarpos crescidos em flamboyant e alecrim, enquanto que os de sibipiruna e ipê-rosa mostraram pouco ou nenhum efeito sistêmico.

A utilização de extratos de plantas e de fungos depende principalmente da disponibilização desses produtos no mercado, seguindo a tendência do Milsana. Caso isso não ocorra, a sua utilização ficará restrita aos produtores orgânicos ou alternativos.

É importante salientar que esses extratos podem tanto ser produzidos diretamente pelos agricultores, portanto considerados como produtos alternativos, como serem utilizados para a síntese de um fungicida.

## **SAIS**

O estudo com sais está principalmente restrito ao grupo de patógenos causadores dos oídios. Homma *et al.* (1981) demonstraram que o bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) foi efetivo no controle do oídio do pepino,

pois inibiu de 80 a 100% a germinação de conídios, reduziu o número de conídios formados nos conidióforos, causou ruptura da parede celular dos conídios e anomalias morfológicas nos conídios, inibiu a formação de conidióforos, bem como controlou a elongação das hifas de *Sphaerotheca fuliginea*. Além desse, o bicarbonato de sódio e de potássio são efetivos no controle de oídio de diversas culturas: *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* em roseira (Horst et al., 1992), *Erisiphe* sp. do tomateiro cultivado em estufa (Garibaldi et al., 1994), como exemplos. Outros sais, como o monofosfato de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), polifosfato de sódio, fosfato dibásico de potássio (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), fosfato tribásico de potássio (K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), cloreto de potássio e outros também apresentam potencial para o controle de diversos tipos de oídios.

Muitos sais estudados para o controle de oídio, como o bicarbonato de sódio, são utilizados na alimentação humana, portanto sem problemas toxicológicos. Além disso, o custo desses sais é baixo, podendo também ser utilizados em adubação foliar.

## **INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A DOENÇAS DE PLANTAS**

Os produtos que induzem a planta a se tornar resistente às doenças estão sendo os mais procurados na natureza, pois de modo geral são inócuos aos seres vivos e podem ser de originários de microrganismos, de vegetais e de animais. Esse tema vem sendo amplamente discutido em diversos congressos e publicações.

## **USO DE CONSERVADORES ALIMENTARES PARA O CONTROLE DE DOENÇAS EM PÓS-COLHEITA DE FRUTOS**

Como o uso de fungicidas em pós colheita está sendo amplamente questionado, busca-se a obtenção de novos produtos para proteger principalmente os frutos após a colheita. Uma tendência é estudar o uso de conservadores alimentares, aminoácidos, extratos de plantas e óleos de plantas para o controle dessas doenças. Assim, Franco & Bettioli (2000) elaboraram um trabalho com o objetivo de selecionar produtos alternativos aos fungicidas para o controle do bolor verde (*Penicillium digitatum*) em pós colheita de citros, tendo sido testados mais de 100 produtos em frutos de laranja 'Pera'. Os resultados mostraram que bicarbonato de sódio a 1, 2 e 3% (p/v), carbonato de sódio a 1% (p/v), ácido bórico a 1 e 2% (p/v), sorbato de potássio a 1% (p/v), metabissulfito de sódio a 1% (p/v), alanina a 1% (p/v), glutamato monossódico a 1% (p/v) e *Gliocladium roseum* (8,6 x 10<sup>6</sup> conídios.mL<sup>-1</sup>) foram os produtos que apresentaram melhor desempenho

para o controle de *P. digitatum* em laranja 'Pêra', com níveis de controle semelhantes aos fungicidas thiabendazole, prochloraz e imazalil, utilizados como padrões.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento e a seleção de produtos alternativos é fundamental para a redução da contaminação causada pelos pesticidas. Assim, os produtos ou "fungicidas biocompatíveis", de baixo impacto ambiental e toxicidade aos organismos colaborarão para o caminho da sustentabilidade dos agroecossistemas.

Uma das maiores dificuldades para ampliar o uso de métodos alternativos é que normalmente esses produtos não são disponíveis no mercado, exigindo que o produtor prepare o seu próprio material a ser pulverizado. Essa apesar de ser uma dificuldade, é uma vantagem para o agricultor, pois diminui a necessidade de insumos externos.

## BIBLIOGRAFIA

- Abreu Júnior, H. Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura: coletânea de receitas. Campinas: EMOPI, 112p. 1998.
- Bettiol, W. Biological control of plant pathogens in Brasil: application and current research. World Journal of Microbiology & Biotechnology 12: 505-510, 1996.
- Bettiol, W; Astiarraga, B.D. Controle de *Sphaerotheca fuliginea* em abobrinha com resíduo da fermentação glutâmica do melão e produto lácteo fermentado. Fitopatologia Brasileira 23: 431-435, 1998.
- Bettiol, W.; Astiarraga, B. D.; Luiz, A.J.B. Effectiveness of cow's milk against zucchini squash powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in greenhouse conditions. Crop Protection 18: 489-492, 1999.
- Castro, C.M.; Santos, A.C.V.; Akiba, F.. Comprovação *in vitro* da ação inibidora do biofertilizante "Vairo" produzido a partir da fermentação anaeróbica do esterco bovino, sobre a germinação de conídios de diversos gêneros de fungos fitopatogênicos. In: Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas, 4., Campinas – SP, 1991. Anais.... Jaguariúna, EMBRAPA-CNPDA, 1991. p.18.
- Cook, R.J.; Baker, K.F.. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St Paul: APS, 539p, 1983.

- Daayf, F.; Schmitt, A.; Bélanger, R.R. The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. *Plant Disease* 79: 577-580, 1995.
- Elad, Y.; Shtinberg, D. Effect of compost water extracts on grey mould (*Botrytis cinerea*). *Crop Protection* 13: 109-114, 1994.
- Franco, D.A.S.; Bettiol, W. Controle do bolor verde em pós-colheita de citros com produtos alternativos. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. (EMBRAPA Meio Ambiente. Pesquisa em Andamento)
- Franco, D.A.S.; Bettiol, W. Controle de *Penicillium digitatum* em pós-colheita de citros com produtos alternativos. *Fitopatologia Brasileira* 25: 602-606, 2000.
- Garibaldi, A.; Aloï, C.; Minuto, A.. Osservazioni sull'attività di prodotti fosforici nei riguardi di *Erysiphe* sp. su pomodoro in coltura protetta. *Atti Giornate Fitopatologiche* 3: 245-250, 1994
- Ghini, R. A solar collector for soil disinfection. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 99: 45-50, 1993.
- Ghini, R.; Bettiol, W. Controle físico. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds.) *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.786-803.
- Ghini, R.; Bettiol, W. Coletor solar para desinfestação de substratos. *Summa Phytopathologica* 17: 281-286, 1991.
- Ghini, R.; Inomoto, M.M.; Saito, E.S. Coletor solar no controle de *Meloidogyne arenaria* em substratos para produção de mudas. *Fitopatologia Brasileira* 23: 65-67, 1998.
- Ghini, R.; Marques, J.F.; Todunaga, T.; Bueno, S.C.S.; Inomoto, M.M. Avaliação econômica e biológica do uso do coletor solar para desinfestação de substrato em um viveiro comercial. *Summa Phytopathologica* 24: 70, 1998 (resumo).
- Homma, Y.; Arimoto, Y.; Misato, T. Effect of sodium bicarbonate on each growth stage cucumber powdery mildew fungus (*Sphaerotheca fuliginea*) in its life cycle. *Journal Pesticide Science* 6: 201-209, 1981.
- Horst, R.K.; Kawamoto, S.O.; Porter, L.L.. Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. *Plant Disease* 76: 247-251, 1992.
- Jayme, B.O.; Castro, C.S.; Rios, G.P.; Neves, B.P. Eficiência de produtos de origem natural no controle de oídio (*Erysiphe polygoni*) do feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira* 24: 293. 1999 (suplemento).
- Katan, J.; Devay, J.E. *Soil solarization*. Boca Raton: CRC Press, 1991. 267p.



- Kirkegaard, J.A.; Sarwar, M. Biofumigation potential of brassicas. I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil* 201: 71-89, 1998.
- McQuilken, M.P.; Whipps, J.M., Lynch, J.M. Effects of water extracts of a composted manure-straw mixture on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. *World Journal of. Microbiology & Biotechnology* 10: 20-26, 1994.
- Pasini, C.; D'Aquila, F.; Curir, P.; Gullino M.L.. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses. *Crop Protection* 16: 251-256, 1997.
- Rezende, J.A.M., Muller, G.W. Mecanismos de proteção entre vírus e controle de viroses de vegetais por premunização. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 3, p. 185-226, 1995.
- Santos, L.A.C.V. Biofertilizante líquido, o defensivo da natureza. Niterói: EMATER, 1992. 16p. (Agropecuária Fluminense, 8).
- Souza, N.L. Solarização do solo. *Summa Phytopathologica* 20: 3-15, 1994.
- Tratch, R.; Bettioli, W. Efeito de biofertilizante sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de alguns fungos fitopatogênicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 32: 1131-1139, 1997.
- Volf, O; Steinhauer, B. Fungicidal activity of neemleaf extracts. *Faculteit-Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen-Gent* 62: 1027-1033, 1997.
- Weltzien, H.C. Some effects of composted organic materials on plant health. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 27: 439-446, 1989.
- Weltzien, H.C.; Ketterer, N. Control of downy mildew, *Plasmopara viticola* (de Bary) Berlese et de Toni, on grapevine leaves through water extracts from composted organic wastes. *Journal of. Phytopathology* 116: 186-188, 1986.

# DIAGNOSE E MANEJO DE FITOBACTERIOSES DE IMPORTÂNCIA NO NORDESTE BRASILEIRO

ROSA DE LIMA RAMOS MARIANO  
ELINEIDE BARBOSA DA SILVEIRA  
SAYONARA MARIA PAULINO DE ASSIS  
ANDRÉA MARIA ANDRÉ GOMES  
IDJANE SANTANA OLIVEIRA  
ANA ROSA PEIXOTO NASCIMENTO

## INTRODUÇÃO

As doenças bacterianas em plantas têm importância relevante pelos grandes prejuízos que causam em todas as áreas agricultáveis do mundo. As bactérias fitopatogênicas são facilmente disseminadas, têm grande capacidade de sobrevivência e alta variabilidade genética, o que dificulta a utilização de medidas eficientes de controle. No Nordeste, diversas fitobacterioses são responsáveis por elevadas perdas na produção, produtividade e qualidade do produto. Dentre elas destacam-se a podridão negra das crucíferas, a podridão mole de hortaliças, a murcha bacteriana em solanáceas, musáceas e heliconiáceas, a sarna comum e ácida da batata, a mancha-aquosa do melão e o cancro da videira. Estas doenças serão discutidas com relação à importância, distribuição geográfica, etiologia, ciclo das relações patógeno-hospedeiro, sintomatologia e controle, com ênfase ao diagnóstico e manejo.

## PODRIDÃO NEGRA DAS CRUCÍFERAS

O repolho é a espécie mais importante da família Brassicácea possuindo elevado valor nutricional. Esta cultura pode ser severamente comprometida devido à ocorrência de doenças, dentre as quais se destaca a podridão negra, causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson, considerada a principal doença em crucíferas no mundo e que ocorre em todos os continentes (Williams, 1980). No Brasil, a podridão negra foi registrada pela primeira vez em repolho, em 1935, em São Paulo

(Silveira, 1949), sendo a doença mais comum em repolho e outras brássicas, principalmente em cultivos de verão (Lopes & Quesado-Soares, 1997). Em Pernambuco, esta fitobacteriose ocorre em todos os municípios produtores de couve, couve-chinesa, couve-flor, rabanete e repolho (Mariano & Michereff, 1994).

Os sintomas da podridão negra manifestam-se em qualquer idade da planta. Nas sementeiras, observam-se murcha e queima de uma ou de ambas as folhas cotiledonares, geralmente iniciando-se nas margens, progredindo para o interior das mesmas, que se tornam secas e caem. Nas folhas, a lesão apresenta-se em forma de "V", inicialmente amarelada com nervuras enegrecidas, tendo o vértice voltado para o centro do limbo. Com o progresso da doença, a lesão avança para a nervura principal e torna-se marrom-clara, podendo apresentar halo amarelo e secamento da folha. A cabeça do repolho pode apresentar-se coberta por lesões necróticas. O patógeno torna-se sistêmico invadindo as nervuras secundárias e principal da folha, que enegrecem progressivamente, enquanto a bactéria atinge a raiz, o caule e, posteriormente, as sementes (Maringoni, 1997; Tokeshi & Salgado, 1980). Infecção latente pode ocorrer em plântulas, facilitando a disseminação pelo plantio de mudas supostamente sadias no campo. A infecção latente em folhas pode ser detectada pela técnica da imersão em solução a 0,1% do corante Eosina Y (Assis *et al.*, 1996).

A bactéria *X. campestris* pv. *campestris* apresenta-se como bastonetes retos medindo de 0,4-0,7 x 0,7-1,8  $\mu\text{m}$ , Gram negativos e móveis por um flagelo polar (Tabela 6.1). Tem bom crescimento em meios de cultura de rotina como Agar nutritivo e Agar nutritivo-extrato de levedura-dextrose, formando colônias de coloração amarela com 1 a 2 mm de diâmetro em 48 h. A coloração amarela é devido à produção do pigmento xantomonadina. São aeróbicas obrigadas e não usam asparagina como fonte de carbono e nitrogênio. Têm o crescimento inibido por 0,1% de cloreto de trifeniltetrazólio e 2-5% de NaCl. Hidroliza fortemente o amido e liquefaz moderadamente a gelatina.

Sementes contaminadas, perfilhos infectados, restos culturais, solo infestado e ervas daninhas constituem as principais fontes de inóculo de *X. campestris* pv. *campestris* (Alvarez & Cho, 1978; Dzhililov & Tiwari, 1995; Schaad & Dianese, 1981) (Figura 6.1). A disseminação do inóculo ocorre principalmente por sementes contaminadas externamente ou internamente na região do folículo, sendo que essa contaminação varia de 6 a 8% nas sementes comerciais. Por ocasião da germinação, a bactéria é facilmente disseminada para as plântulas vizinhas provocando a queda dos cotilédones. No campo, a água da superfície, respingos de chuva, tratos culturais, roupas dos operários, insetos, animais e outros agentes disseminam a bactéria dentro da área de cultivo. A disseminação a longa distância é feita principalmente

por sementes e mudas contaminadas (Sugimori, 1987; Yokoyama & Silva Júnior, 1987). A bactéria penetra através de aberturas naturais da folha, principalmente pelos hidatódios, e por ferimentos, multiplica-se intensamente nos espaços intercelulares e atinge o sistema vascular, sendo levada a todos os órgãos da planta (Tokeshi & Salgado, 1980).

Tabela 6.1 – Algumas características morfológicas e culturais das bactérias que causam fitobacterioses importantes no Nordeste brasileiro.

Bactéria	Forma e motilidade	Cor, brilho e tamanho da colônia em meio NYDA	Gram	Oxidase	Oxidação/Fermentação
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	Bastonete reto monotriquia	Creme, translúcida com 1-2 mm após 48 h	-	+	Oxidativa
<i>Erwinia carotovora</i>	Bastonete reto peritriquia	Creme, opaca com 2-3 mm após 48 h	-	-	Fermentativa
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Bastonete reto lofotriquia	Branco-leitoso, opaca com 3-4 mm após 48 h	-	+	Oxidativa
<i>Streptomyces scabiei</i>	Micelial imóvel	Micélio cenocítico, bem desenvolvido, ramificado, de cor cinza com cadeias de esporos em espiral	+	n.d. <sup>1</sup>	Oxidativa
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	Bastonete reto monotriquia	Amarela, brilhante com 2-3 mm após 48 h	-	-	Oxidativa
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i>	Bastonete reto monotriquia	Creme, opaca com 1-2 mm após 48 h	-	-	Oxidativa

<sup>1</sup>n.d. = não determinado.

No Brasil, *X. campestris* pv. *campestris* adapta-se a diversas condições ambientais, durante todos os períodos agrícolas (Tokeshi & Salgado, 1980). As epidemias podem ser favorecidas por solos úmidos e temperaturas elevadas, acima de 20°C, com um ótimo de 30°C (Conceição *et al.*, 1975; Yokoyama & Silva Júnior, 1987).

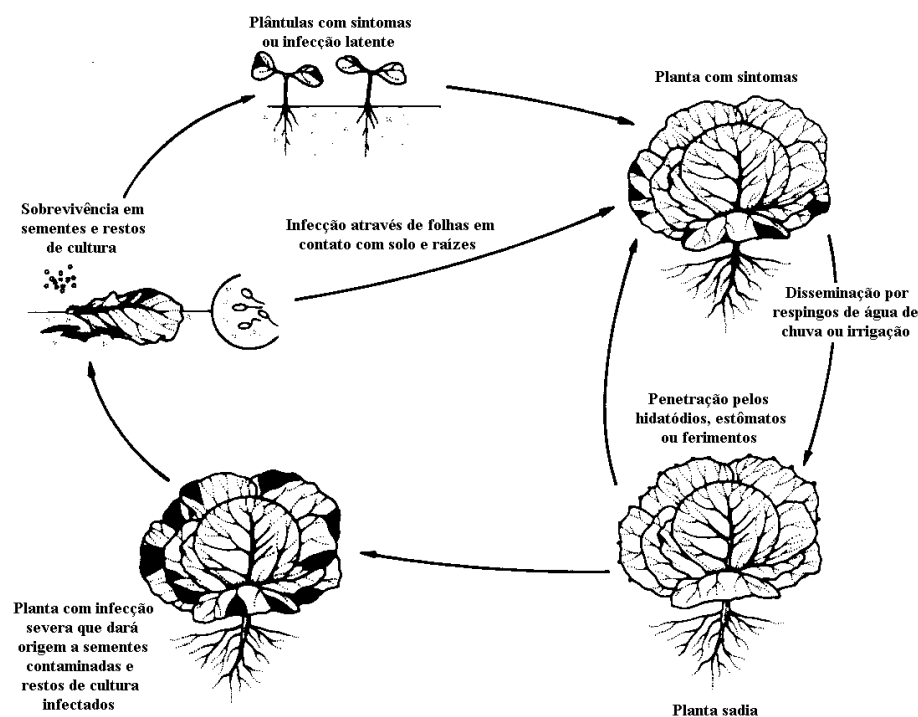


Figura 6.1 – Ciclo da podridão negra causada pela *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em crucíferas.

As principais medidas preconizadas para o controle da podridão negra das crucíferas são: uso de sementes saudáveis ou certificadas; tratamento de sementes com antibióticos ou tratamento térmico a 50°C, por 25 a 15 minutos, respectivamente para repolho e outras crucíferas, seguido por proteção com os fungicidas captan ou thiran; uso de cultivares resistentes (Tabela 6.2); eliminação de plantas suscetíveis; destruição de restos de culturas; rotação de cultura por 2 a 3 anos com leguminosas, solanáceas ou gramíneas; desinfestação da sementeira com cloropicrina ou solução de formol a 40%, controle de insetos e pulverização com produtos a base de cobre e antibióticos (Tabela 6.3).

Tabela 6.2 – Cultivares comercializadas no Brasil resistentes à podridão negra das crucíferas, causada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

Hospedeira	Cultivares
Brócolis	Condor, Precoce Piracicaba Verão, Ramoso Santana, Flórida, Baron
Couve-flor	Verona AG-184, Verona AG-284, Ikuta, Jaraguá, Miyai, Shiromaru II, Shiromaru III, Silver Streak
Repolho	Fuyutoyo SK, Louco, Máster AG-325, ESALQ-84, Mogiano, Saiko, Caribe, Astrus, Saturno, XPH5909, Louco de Verão, União de Verão, União

Tabela 6.3 – Fungicidas, bactericidas e antibióticos indicados para o controle das principais fitobacterioses que ocorrem no Nordeste brasileiro<sup>1</sup>.

Hospedeira	Fitobacteriose	Patógeno <sup>2</sup>	Nome técnico
Repolho	Podridão mole	<i>Ec</i>	Oxicloreto de cobre
	Podridão negra	<i>Xcc</i>	Oxicloreto de cobre
Tomate	Talo oco, podridão mole	<i>Ec</i>	Hidróxido de cobre Oxicloreto de cobre Óxido cuproso
Batata	Canela preta	<i>Ec</i>	Oxitetraciclina + Sulfato de estreptomicina Cloro de kasugamicina Oxitetraciclina
Cenoura	Podridão mole	<i>Ec</i>	Cloro de kasugamicina
Melão	Mancha-aquosa	<i>Aac</i>	Oxicloreto de cobre <sup>3</sup>
Videira	Cancro bacteriano	<i>Xcv</i>	Oxicloreto de cobre <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Adaptado do Agrofite (1998) e do Guia de fungicidas (Kimati *et al.*, 1997)

<sup>2</sup>*Ec* = *Erwinia carotovora*, *Xcc* = *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Ss* = *Streptomyces scabiei*, *Aac* = *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Xcv* = *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*

<sup>3</sup>Recomendado para mancha angular em melão causada por *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* e para doenças fúngicas em videira.

## PODRIDÃO MOLE

A podridão mole causada por *Erwinia carotovora* (Jones) Bergey *et al.* em diversas culturas, já foi assinalada praticamente em todo mundo, podendo ocorrer durante o crescimento das plantas no campo, na colheita, no armazenamento, no transporte e na comercialização. Essa espécie apresenta cinco subespécies (*E. carotovora* subsp. *atroseptica* (van Hall) Dye, *E. carotovora* subsp. *betavasculorum* Thomson *et al.*, *E. carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Bergey *et al.*, *E. carotovora* subsp. *odorifera* Gallois *et al.*, *E. carotovora* subsp. *wasabiae* Goto & Matsumoto), sendo que no Brasil só ocorrem *E. carotovora* subsp. *carotovora* e *E. carotovora* subsp. *atroseptica*. A importância econômica das perdas causadas por essa bactéria pode ser muito grande, dependendo do valor da cultura, da severidade do ataque, subespécie envolvida, condições ambientais, potencial de inóculo, manejo da cultura, transporte e comercialização dos produtos (Jabuonski *et al.*, 1986).

*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* é patogênica à acelga, batata, beterraba, cenoura, couve, pimentão, rabanete, repolho e tomate, dentre outros hospedeiros. Entretanto, a gama de hospedeiros de *E. carotovora* subsp. *atroseptica* é restrita geralmente a batata, embora isolados idênticos ou relacionados possam ser encontrados, ocasionalmente, em outras culturas (Dickey, 1979).

Uma mesma espécie do grupo Carotovora pode incitar, isolada ou concomitantemente, dependendo das condições, sintomas como podridão mole, canela preta, talo oco e tombamento de plântulas. O sintoma inicial de podridão mole é o aparecimento de pequenas lesões encharcadas, que aumentam rapidamente e causam extensiva maceração (Goto, 1992) e apodrecimento do tecido parenquimatoso do órgão afetado. No entanto, sintomas iniciais podem ser completamente diferentes, especialmente dependendo do crescimento da planta (Stanghellini & Meneley, 1975). Em batata, bem como em outras culturas, folhas podem murchar e se tornarem amarelas em estágios adiantados do ataque, quando a água é abundante. Observa-se deterioração da batata-semente antes da emergência ou infecção e morte dos brotos após emergência. O sintoma comum de podridão na base do caule é conhecido como canela preta (Stanghellini & Meneley, 1975). Talo oco e canela preta ocorrem, freqüentemente, ao mesmo tempo em batata e tomate como consequência de infecção por *E. carotovora*. No caso do talo oco, o caule fica literalmente vazio, com aspecto tubular, uma vez que a bactéria encontra mais facilidade de exercer sua atividade pectolítica na região central não lenhosa. O sintoma da canela preta é consequência da colonização da casca com produção e acúmulo de melanina e de outros pigmentos escuros (Romeiro, 1995).

Os isolados de *Erwinia* do grupo Carotovora são anaeróbios facultativos, Gram negativos, bastonetiformes e altamente móveis (Tabela 6.1). Em meio de cultura Nutriente-dextrose-ágar a 28-30°C, formam colônias pigmentadas de coloração creme, opacas, circulares ou amebóides, com bordos irregulares e de aproximadamente 1,5 a 3,0 mm de diâmetro (Jabuonski *et al.*, 1986). Para distinguir *E. carotovora* subsp. *carotovora* de *E. carotovora* subsp. *atroseptica*, a formação ou não de ácido a partir de  $\alpha$ -metil-glucosídeo e de substâncias redutoras a partir de sacarose são consideradas as propriedades bioquímicas mais específicas e importantes (Pérombelon & Kelman, 1980). Essas subespécies são sorologicamente relacionadas e classificadas em cerca de 50 sorogrupos, com base em teste de imunodifusão (De Boer *et al.*, 1987).

As fontes de inóculo primário de *E. carotovora* são bactérias que sobrevivem como epifíticas na filosfera de plantas hospedeiras, como saprófitas no solo, em resíduos de plantas doentes, ou em material de plantio (Goto, 1992) (Figura 6.2). A bactéria pode também sobreviver em associação com ervas daninhas ou na rizosfera de outras plantas cultivadas (Pérombelon & Kelman, 1980). A disseminação ocorre facilmente pela água, raízes e tubérculos infectados, insetos, tratos culturais, homem e implementos agrícolas (Tokeshi & Carvalho, 1980). Uma vez que essa bactéria penetra na planta por ferimentos, a incidência da doença aumenta marcadamente quando as hospedeiras são feridas em função de práticas culturais, ventos fortes, contato de plantas ou por insetos (Goto, 1992). Após a penetração, a bactéria coloniza o órgão vegetal produzindo pectinases que degradam a lamela média das células vegetais, fazendo com que o tecido perca sua rigidez, ocasionando os sintomas de podridão mole (Goodman *et al.*, 1986). Subsequentes fermentações e concomitante invasão do tecido em colapso por saprófitas, ocasionam o desprendimento de gases com odor desagradável (Romeiro, 1995). Estas bactérias dependem em grande parte de fatores ecológicos como temperatura e concentração de oxigênio, para iniciar a infecção, bem como para a produção e severidade dos sintomas (Hayward & Mariano, 1997). Além das enzimas pectolíticas, celulasas e proteases podem também estar envolvidas na patogenicidade.



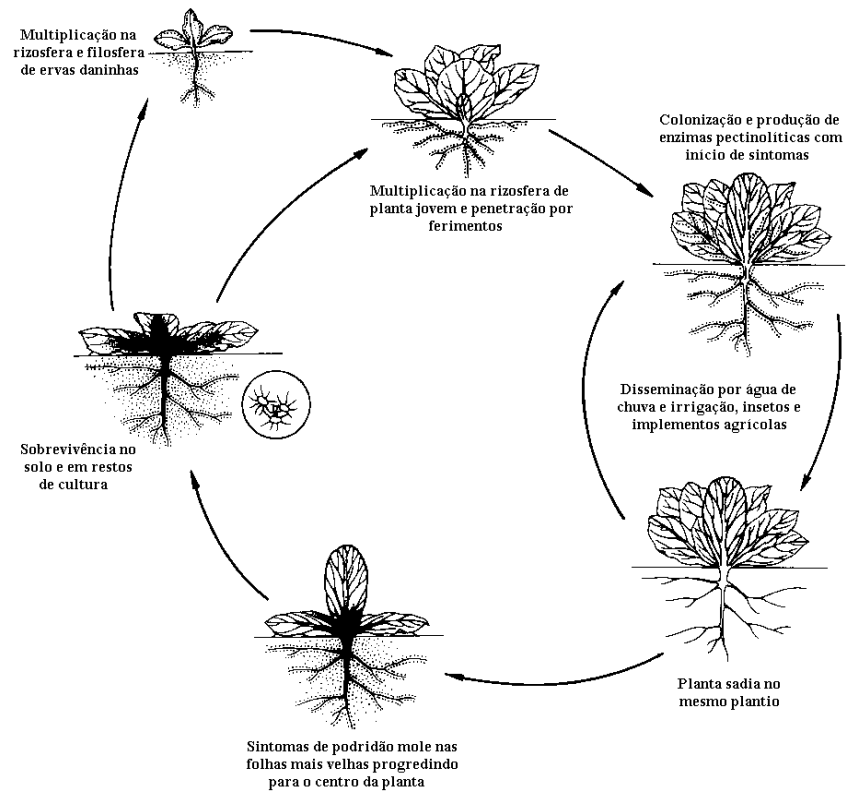


Figura 6.2 – Ciclo da podridão mole causada por *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* em couve chinesa.

Temperaturas entre 25 e 35 °C, umidade relativa próxima a 100%, alta precipitação pluviométrica e pouca aeração são condições extremamente favoráveis ao desenvolvimento de infecção por *E. carotovora* subsp. *carotovora*. Já a incidência de *E. carotovora* subsp. *atroseptica* é favorecida por tempo frio, nublado, com elevada pluviosidade, seguindo-se elevação de temperatura.

As principais medidas preconizadas para o controle de *Erwinia carotovora* incluem: evitar plantio em solos de baixada mal drenados; plantar apenas tubérculos sementes certificados; rejeitar tubérculos sementes deteriorados; erradicar plantas doentes; destruir restos culturais; fazer rotação de culturas por 3 a 4 anos utilizando milho; desinfestar tubérculos sementes (Tabela 6.3); não armazenar produto doente e sadio conjuntamente; armazenar produto em local bem ventilado, seco e frio; desinfestar facas e utensílios usados no corte de tubérculos; evitar ferimentos durante o plantio

e tratos culturais; controlar insetos mastigadores; desinfestar depósitos e armazéns com sulfato de cobre; empregar água de irrigação livre de contaminação; evitar o excesso de umidade com o maior espaçamento possível entre plantas; efetuar adubação equilibrada e rica em cálcio; utilizar cloro na água de lavagem.

Erwinias causadoras de podridão mole em batata podem ser controladas biologicamente pela aplicação de espécies antagonistas de *Pseudomonas* (Xu & Gross, 1986) e também através da infiltração a vácuo com  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (0,1; 0,6 e 1,2 %) (McGuire & Kelman, 1984).

## **MURCHA BACTERIANA EM SOLANÁCEAS, MUSÁCEAS E HELICONIÁCEAS**

A murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*, é uma das mais importantes doenças de plantas no mundo. Esta bactéria ocasiona elevadas perdas em várias culturas a nível mundial e nacional, possuindo hospedeiros em cerca de 53 famílias botânicas.

No Brasil, *R. solanacearum* é nativa na maioria dos solos. Em tomate, tem sido assinalada em todo o país, causando grandes prejuízos em condições de alta temperatura e umidade. Em batata, a murcha bacteriana constitui uma das mais importantes doenças, observando-se perdas de até 50% na produção quando não se utiliza batata-semente certificada. Em pimentão, *R. solanacearum* é de importância limitada na região Centro-Sul, embora constitua fator limitante para o cultivo na região amazônica e em áreas de baixa altitude na região Nordeste. Em banana, *R. solanacearum* está amplamente disseminada pelas principais áreas de produção na Região Norte, nos Estados do Amapá, Amazonas, Pará e Rondônia (Silva, 1997). No Nordeste foram detectados focos da doença nos Estados da Paraíba, Ceará, Sergipe, Pernambuco e Bahia (Silveira *et al.*, 1996). Recentemente, foi relatada a presença desta bactéria, no Estado de Pernambuco infectando helicônias (Assis *et al.*, 2000).

De modo geral, o primeiro sintoma em solanáceas é a murcha das folhas mais novas, nas horas mais quentes do dia, normalmente em plantas no início da frutificação. Em condições favoráveis ao desenvolvimento da doença, como alta temperatura e umidade, a murcha atinge toda a planta sendo irreversível e causando a sua morte. A intensidade dos sintomas varia com o isolado do patógeno e a cultivar. Em condições desfavoráveis ao desenvolvimento da doença pode ocorrer infecção latente ou as plantas infectadas podem apresentar amarelecimento e subdesenvolvimento sem a ocorrência de murcha. É comum a formação de raízes adventícias nos caules de plantas afetadas. Internamente, além da descoloração e colapso dos vasos

do xilema que ocorrem a nível macroscópico, são também observadas tiloses, dissolução de substâncias pecticas na lamela média e degradação da celulose nas paredes celulares. O sinal característico da murcha é a exsudação bacteriana a partir do tecido vascular em cortes de órgãos infectados.

Na cultura da batata, além dos sintomas da parte aérea acima descritos, os tubérculos podem ou não apresentar ligeira depressão e necrose na região do estolão com escurecimento de gemas que, geralmente, exsudam pus bacteriano. Num corte transversal, o tubérculo revela escurecimento do sistema vascular e, aplicando-se ligeira pressão, ocorre exsudação bacteriana. Estes sintomas podem ser seguidos de podridão e são praticamente os únicos observados em regiões de clima temperado, onde a murcha característica da parte aérea da planta dificilmente ocorre (Pérombelon, 1996).

Na cultura da banana, a doença manifesta-se principalmente por murcha, amarelecimento e necrose das folhas, iniciando-se pelas folhas mais centrais e evoluindo para as demais, podendo curvar-se dorsalmente provocando a quebra do pecíolo, sendo a folha vela a última a sucumbir, em plantas que ainda não entraram em produção. Em brotações novas, surgem sintomas de enegrecimento e distorção, com folhas de coloração amarelada e escura. A descoloração vascular na parte interna do pseudocaule concentra-se próxima ao centro e os frutos apresentam um amarelecimento externo acompanhado, internamente, por uma podridão seca, firme e de coloração parda. Cachos de plantas infectadas mostram amadurecimento prematuro em frutos isolados, seguindo-se escurecimento e apodrecimento.

Em helicônias, os sintomas são semelhantes aos observados em bananeiras ocorrendo murcha, amarelecimento e necrose das folhas, iniciando-se geralmente pelas folhas mais novas. Fazendo-se cortes no pseudocaule próximos a região do colo, constata-se descoloração dos vasos seguida de escurecimento da parte central, que cortada transversalmente evidencia exsudação bacteriana. Estes sintomas e sinais não são observados na parte superior do pseudocaule. Nas brotações ocorre deformação foliar com enrolamento das folhas até necrose total.

A bactéria *R. solanacearum* apresenta-se como baciliforme, Gram negativa, não forma endosporos e move-se por meio de um tufo de flagelos polares (Tabela 6.1). Forma colônias esbranquiçadas em meio Nutriente ágar, e em meio de Tetrazólio as colônias virulentas apresentam-se fluídas com coloração rósea e centro esbranquiçado. A grande variabilidade desta bactéria torna necessária a utilização de sistemas de classificação a nível sub-específico. São conhecidas a nível mundial cinco raças e cinco biovars de *R. solanacearum*. As raças são definidas pela gama de hospedeiros. A raça 1 afeta um maior número de culturas (batata, tomate, berinjela, fumo, solanáceas em geral e outras plantas). A raça 2 afeta banana e Helicônias,

enquanto a raça 3 é considerada específica da batata, ocorrendo geralmente em regiões mais frias, embora também infecte algumas solanáceas. As raças 4 e 5 infectam o gengibre e a amoreira, respectivamente (Hayward, 1994). As biovares são definidas através da utilização de açúcares e álcoois como única fonte de carbono e formação de ácidos a partir destes carboidratos, além da produção de nitrito e gás a partir de nitrato (Hayward, 1995). A existência das três raças e três das cinco biovares (1, 2 e 3) de *R. solanacearum* no Brasil, aliada ao vasto ciclo de hospedeiros, torna os aspectos epidemiológicos relativos a esta bactéria extremamente complexos. Levantamentos conduzidos nas diversas regiões brasileiras, com ênfase em solanáceas, indicam a existência da biovar 1 em todas as regiões, da biovar 2 com predominância em climas amenos (Sul, Sudeste e Centro-Oeste) e da biovar 3 no Norte e Nordeste. Já a biovar N2 ocorre nas regiões Centro-Oeste e Sudeste (Brasília, Goiânia, Minas Gerais e São Paulo). Os isolados de helicônia encontrados em Pernambuco pertencem à raça 2, biovar 1 (Assis *et al.*, 2001).

A disseminação de *R. solanacearum* pode ser realizada pelo solo, água de superfície, contato entre raízes, transmissão mecânica por diversos tratamentos culturais (desbrota, poda, colheita e cultivo), mudas infectadas, órgãos de propagação vegetativa (rizomas, tubérculos), sementes (em algumas culturas como o amendoim), implementos agrícolas, insetos, nematóides e homem (Kelman *et al.*, 1994) (Figura 6.3). Em helicônia, o grande intercâmbio de germoplasma é fator preponderante para disseminação, tanto a curta como a longa distância. Em bananeira, os insetos visitantes de inflorescências também constituem eficientes vetores, principalmente das estirpes que exsudam o pus bacteriano pelas brácteas florais e por outros ferimentos em partes da planta onde a bactéria esteja presente. A penetração de *R. solanacearum* no hospedeiro ocorre através de ferimentos ou aberturas naturais, principalmente nas raízes. O corte da flor no cultivo de helicônia favorece a penetração do inóculo levado pelo instrumento de corte, e também daquele proveniente do solo, pois o corte da haste é realizado bem na base da planta. Após a penetração, a bactéria coloniza os vasos do xilema, dificultando o fluxo de água e seiva, e provocando o sintoma externo de murcha. A colonização também provoca degradação das paredes e células do parênquima adjacente, originando cavidades no floema, medula e tecido cortical, principalmente em órgãos suculentos (Kurozawa & Pavan, 1997). A sobrevivência e disseminação de *R. solanacearum* é favorecida por condições de umidade elevada do solo, enquanto períodos secos reduzem a viabilidade do patógeno e diminuem a intensidade da doença. Em cultivo de banana, a sobrevivência do patógeno diminui com o tempo, na ausência do hospedeiro suscetível, não dependendo do tipo de solo (Pereira & Normando, 1993). A multiplicação e a sobrevivência de *R. solanacearum* por muitos anos no solo é permitida devido a presença de plantas daninhas hospedeiras e plantas

voluntárias que contribuem como fonte alternativa de inóculo e para a manutenção dos níveis da bactéria no solo (Jabuonski & Hidalgo, 1987).

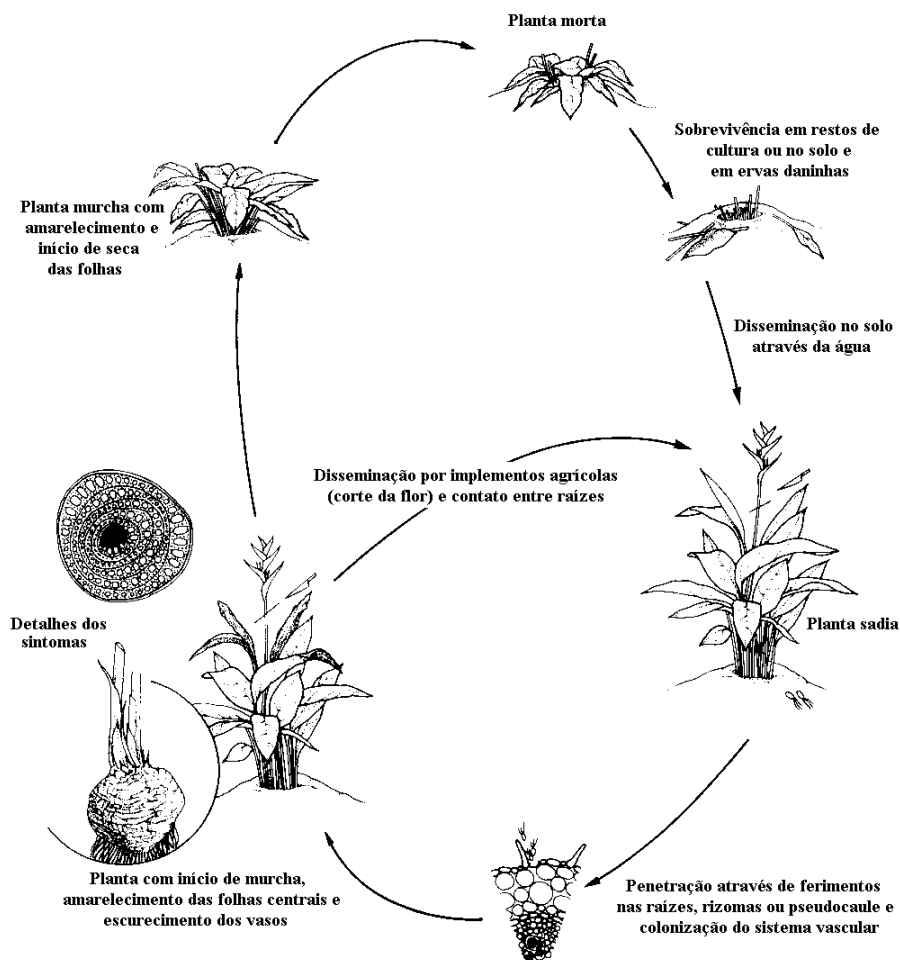


Figura 6.3 – Ciclo da murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* em helicônia.

A murcha bacteriana é particularmente limitante em climas úmidos, com altitudes baixas e médias, em regiões tropicais e subtropicais.

O controle de *R. solanacearum* é extremamente difícil, principalmente devido a ampla gama de hospedeiros, alta variabilidade genética e sobrevivência no solo por longos períodos a grandes profundidades tornando o

controle químico inviável e anti-econômico. As principais medidas para o controle do patógeno incluem: uso de sementes e órgãos de propagação vegetativa saudáveis; plantio em solos bem drenados, livres do patógeno ou supressivos; eliminação de plantas doentes, voluntárias e ervas daninhas utilizando-se roçagem ou herbicidas; rotação de culturas por 2 a 5 anos; uso de cultivares com resistência ou tolerância; controle de nematóides e resistência aos mesmos; solarização; manejo da umidade e do fluxo de água; não utilizar água contaminada para irrigação; evitar injúrias durante o plantio, transplante e tratamentos culturais; desinfestar equipamentos com NaClO (12,5% de cloro ativo); usar espaçamento adequado para reduzir a possibilidade de transmissão entre raízes; proteger a inflorescência da bananeira para evitar a disseminação pelos insetos; enxertia de tomate sobre espécies como jurubeba e juna e correção do solo (Hayward, 1994; Kurozawa & Pavan, 1997; Lopes & Quezado-Soares, 1997; Robbs *et al.*, 1994).

## SARNAS COMUM E ÁCIDA DA BATATA

As sarnas comum e ácida, causadas respectivamente por *Streptomyces scabiei* (Thaxter) Lambert & Loria corrig. Truper & De'Clari e *S. acidiscabies* Lambert & Loria, são importantes doenças em tubérculos de batata, causando grandes prejuízos devido a depreciação do valor comercial do tubérculo para consumo "in natura", para processamento e produção de tubérculos-semente. A sarna comum já foi relatada em todos os continentes do mundo, sendo considerada a quarta doença mais importante da batata na América do Norte (Slack, 1991). Além da batata, ocorre em berinjela, beterraba forrageira, cebola, cenoura, couve-nabo, espinafre, nabo, pastinaca, rabanete, repolho, salsifis e salsa (Goto, 1992; Hooke, 1981; Souza Dias & Iamuti, 1997). Já *S. acidiscabies* tem distribuição geográfica mais limitada tendo sido relatada nos Estados Unidos e no Canadá (Howard *et al.*, 1996; Loria *et al.*, 1997). A sarna comum ocorre na maioria das regiões produtoras sendo mais severa em solos com pH acima de 5,2. A sarna ácida é importante em solos ácidos com pH em torno de 4,5. No Nordeste, a sarna comum ocorre em batata nos estados de Pernambuco e Paraíba, enquanto a sarna ácida foi observada na Paraíba em solos com pH = 4,7 e 4,9 (Mariano *et al.*, 1992).

Os sintomas da doença não são observados na parte aérea da planta, podendo ocorrer nas raízes, tubérculos e estolões em contato com o solo. No entanto, os sintomas mais importantes ocorrem nos tubérculos, onde *S. scabiei* pode causar lesões dos tipos elevada e deprimida e mais raramente superficial (Figura 6.4). Lesões elevadas são as mais comuns, tendo a aparência áspera e corticosa (Loria *et al.*, 1997). As lesões têm de 5 a 10 mm e podem unir-se, possuindo coloração que varia de pardo-clara a escura. As

lesões têm superfície irregular, chegando a ficar mais elevadas que o tecido sadio. Os sintomas da sarna ácida, causada por *S. acidiscabies*, são idênticos aqueles produzidos por *S. scabiei*.

*Streptomyces scabiei* e *S. acidiscabies* produzem toxinas denominadas taxtominas, que atualmente são conhecidas como Taxtominas 1-5. A aplicação destas toxinas, individualmente, a tubérculos imaturos pode causar a formação de uma lesão tipo sarna após 24 h (Lawrence *et al.*, 1990). Entre outras funções, a taxtomina pode afetar direta ou indiretamente a biossíntese da suberina no local da infecção e tem um papel crítico na formação da lesão sendo importantes determinantes de patogenicidade na sarna comum da batata (Schottel, 1995). Lesões elevadas em tubérculos de batata resultam da hipertrofia das células enquanto que a morte celular induzida por toxinas resulta em lesões deprimidas. O tipo de lesão produzida pode ser função da concentração da taxtomina no local de infecção. Plantas e tubérculos adultos adquirem resistência à taxtomina A (Loria *et al.*, 1997).

*Streptomyces scabiei* assemelha-se a um fungo na sua morfologia micelial, porém difere nos filamentos miceliais muito finos, aéreos, cinza, com cadeias em espiral de esporos soltos, com 1 µm de diâmetro (Tabela 6.1). O lado reverso da colônia é de coloração dourada a castanho. O micélio tem poucos septos que podem ser ausentes. Os esporos são cilíndricos, medindo 0,5 x 0,9 a 1,0 µm (Howard *et al.*, 1994), apresentam-se lisos e o organismo produz pigmentos melanóides em meios apropriados (Davies & Williams, 1970). Contudo, existem relatos de que alguns isolados possuem esporos equinulados e ainda que outros isolados têm esporos lisos em cadeias retas a curvas e não produzem pigmentos melanóides. O pH mais baixo para o crescimento deste organismo é 5,0. Utiliza L-arabinose, D-frutose, D-glucose, D-manitol, ramnose, sacarose, D-xilose e rafinose, porém não usa xantina como única fonte de carbono. Essa espécie é susceptível a 20 µg/mL de estreptomicina e 0,5 a 20 µg/mL de cristal violeta. Já *S. acidiscabies*, produz colônias de coloração branca, laranja-palha, amarelo-palha ou laranja-cinza-palha com cadeias flexuosas de esporos. O lado reverso da colônia é de cor amarela escura. Essa espécie não produz pigmentos melanóides e possui cadeias flexuosas formadas por 20 ou mais esporos, com 0,4 x 0,5-0,6 ou 0,9-1,1 µm, retos e brancos, sendo avermelhados em certos meios com pH alto. O pigmento solúvel é vermelho em pH 8,3 porém é amarelo-dourado abaixo de 8,3. Este organismo utiliza L-arabinose, D-frutose, D-glucose, D-manose, ramnose, sacarose e D-xilose porém não usa rafinose como única fonte de carbono. O pH mais baixo para o crescimento é 4,0, sendo tolerante a 20 µg/mL de estreptomicina e 0,5 µg/mL de cristal violeta. A espécie *S. acidiscabies* distingue-se de outros *Streptomyces* patogênicos pela produção de pigmento vermelho, massa de esporos branco a avermelhado e ser ácido-resistente (Goto, 1992).

*Streptomyces scabiei* e *S. acidiscabies* sobrevivem saprofiticamente no solo e em restos de cultura na forma vegetativa micelial ou de esporos, podendo ser disseminados pela chuva, vento, tempestades de areia e tubérculos infectados (Howard *et al.*, 1994) (Figura 6.4). Em batata, penetram através das lenticelas, geralmente, durante as primeiras cinco semanas do desenvolvimento do tubérculo. Se os tubérculos estão secos durante o período, as bactérias antagônicas aos patógenos, normalmente presentes nas lenticelas, desaparecem, facilitando a infecção. Além disso, em solos secos, durante o crescimento do tubérculo são produzidos ferimentos pelos quais os patógenos penetram. Em outros hospedeiros, a penetração ocorre pelas lenticelas imaturas de tecidos jovens e ferimentos causados pelos insetos. Após a penetração, os patógenos colonizam inicialmente os espaços intercelulares e logo após os intracelulares e em seguida forma-se uma camada corticosa ao redor do tecido infectado, que ao intensificar-se empurra a periderme para o exterior tornando a superfície áspera e suberificada, resultando no sintoma da sarna.

Solos úmidos com elevada taxa de crescimento de antagonistas e concentrações reduzidas de oxigênio são fatores capazes de inibir os agentes da sarna (Howard *et al.*, 1994).

As principais práticas adotadas no controle da sarna são: evitar plantio em solos com alto teor de matéria orgânica; irrigação por 4 a 6 semanas no período inicial de formação do tubérculo; uso de batata-semente certificada; desinfestação do solo com cloropicrina, PCNB ou solarização; rotação de cultura com cereais ou gramíneas por pelo menos três anos; utilização de cultivares resistentes; desinfestação dos tubérculos-semente com os compostos tiofanato metil-estreptomicina, compostos de cobre ou PCNB; acidificação do solo com enxofre até pH 5,2, sendo a lenta acidificação pela adubação nitrogenada mais aconselhável e evitar excesso de calcário na correção do solo (Goto, 1992; Lopes & Quezado-Soares, 1997; Souza Dias & Iamauti, 1997).

O controle biológico da sarna comum da batata parece ser uma grande promessa, principalmente pelo uso de isolados do gênero *Streptomyces* antagônicos a *S. scabiei*. Isolados desse antagonista foram obtidos de tubérculos, em solo que se tornou supressivo à sarna após 23 anos de monocultura de batata (Lorang *et al.*, 1989). Liu *et al.* (1995) verificaram que isolados de *Streptomyces* diminuíram a severidade da sarna em experimentos de campo.



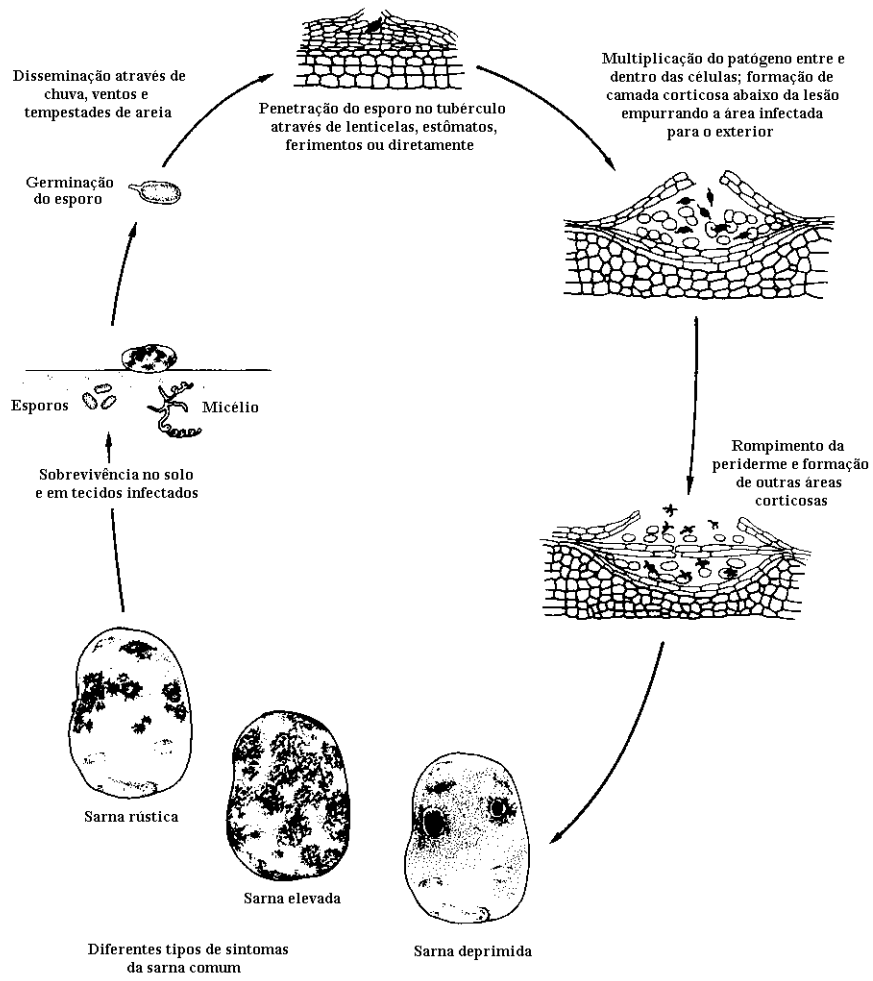


Figura 6.4 – Ciclo da sarna comum causada por *Streptomyces scabiei* em batata.

## MANCHA-AQUOSA DO MELÃO

O melão é uma espécie da família Cucurbitaceae, cuja produção é uma atividade de grande importância econômica para o Nordeste do Brasil. Essa região é responsável por aproximadamente 74% da produção nacional, principalmente nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. O Agropolo RN-CE é responsável por 95% do melão produzido no Nordeste, sendo sua produção direcionada principalmente para o mercado externo. Esta cultura pode ser comprometida devido à ocorrência de várias doenças, destacando-se a mancha-aquosa, causada pela bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad *et al.*) Willems *et al.*, sobretudo durante o período chuvoso. Esta doença foi descrita primeiramente em melancia nos EUA em 1965, depois em melão e abóbora. A mancha-aquosa ou mancha bacteriana dos frutos ocorre nos EUA, Austrália, Índia e Brasil. No Brasil, esta doença ocorre nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste (Robbs *et al.*, 1992). Em 1997 a *A. avenae* subsp. *citrulli* foi detectada no Rio Grande do Norte (Assis *et al.*, 1999) e, posteriormente, no Ceará (Santos & Viana, 2000) e Pernambuco (Comunicação pessoal, Daniel Terao - EMBRAPA) com altos índices de infecção, depreciando comercialmente o fruto. Todos os tipos de melão apresentam susceptibilidade, incluindo Amarelo, Orange, Pele de Sapo, Charantais e Gália.

Os sintomas da mancha-aquosa manifestam-se em qualquer fase de desenvolvimento da planta. As lesões podem ocorrer em plântulas, folhas, ramos e frutos, sendo mais comuns e facilmente visualizadas nos frutos. Plântulas oriundas de sementes infectadas quando não entram em colapso total, apresentam extensas manchas encharcadas que progridem para verde-escuras e marrons nos cotilédones e às vezes necrose no hipocótilo. Nas folhas, as manchas são inicialmente pequenas, com aspecto oleoso. Posteriormente, tornam-se necróticas (marrom-escuras) com ou sem halo e em alguns casos apresentam-se como manchas angulares, estendendo-se até a nervura central da folhas (Hopkins *et al.*, 1996). Não há evidências de infecção sistêmica com murcha ou desfolhamento da planta.

Os sintomas mais típicos da doença apresentam-se nos frutos maduros antes da colheita, embora a infecção ocorra durante a floração e formação destes (Isakeit, 1999). As lesões nos frutos são inicialmente pontos oleosos com 1 a 3 mm de diâmetro, os quais se expandem e se tornam manchas marrons, necróticas com ou sem rachaduras no centro. Essas rachaduras podem servir como porta de entrada para outros microrganismos que aceleram o apodrecimento do fruto. As lesões necróticas localizam-se na superfície do fruto que não entra em contato com o solo, progredindo rapidamente (7 a 10 dias) para uma maior área, antes da colheita. A bactéria,

em geral, coloniza a polpa do fruto, onde causa podridão seca, contaminando as sementes externa e internamente através da região do hilo, o que dificulta a erradicação (Isakeit, 1999).

*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* apresenta-se como bastonetes Gram negativos, aeróbicos e móveis por um flagelo polar (Tabela 6.1). Apresenta bom crescimento em meio de cultura de rotina como Ágar nutritivo-extrato de levedura-dextrose onde forma colônias pequenas com 0,7 a 1,0 mm, brancas ou cremes. Cresce a temperatura de 41°C, mas não a 4°C. Não hidrolisa a arginina e apresenta reação positiva para os testes de catalase, oxidase, urease e lipase, bem como reação de hipersensibilidade a fumo, variando de acordo com o isolado.

Sementes contaminadas, plântulas infectadas e restos culturais, constituem as principais fontes de inóculo da bactéria (Hopkins *et al.*, 1996) (Figura 6.5). A disseminação do inóculo, a longa distância, ocorre principalmente por sementes contaminadas. Após a germinação, a bactéria é facilmente disseminada para plântulas/plantas vizinhas através de respingos de água de chuva, irrigação por aspersão e tratos culturais. As lesões nas folhas das plantas são importante fonte de inóculo para os frutos, que por sua vez, quando maduros servem como inóculo para o próximo plantio. A penetração da bactéria ocorre tanto na folha como no fruto através de aberturas naturais e/ou ferimentos. Frutos em estágio inicial de formação são mais susceptíveis, uma vez que frutos maduros apresentam a sua superfície coberta por uma espessa camada de cera que dificulta a penetração da bactéria pelos estômatos (Frankle, 1993). Após a penetração no fruto, a bactéria, possivelmente, permanece em estado latente até o início do amadurecimento quando se multiplica intensamente, atingindo a polpa e as sementes (O' Brien & Martin, 1999). Aparentemente, a *A. avenae* subsp. *citrulli* não sobrevive no solo mais do que algumas semanas, na ausência de uma planta hospedeira (Isakeit, 1999). No entanto, as sementes oriundas de frutos infectados abandonados no solo e, posteriormente, incorporados ao mesmo, servem de fonte de inóculo primário para o próximo plantio, já que as mesmas germinam resultando em plantas espontâneas ou voluntárias infectadas. A bactéria sobrevive também em hospedeiras alternativas como as cucurbitáceas nativas: melão-de-são-caetano, bucha (Santos & Viana, 2000) e maxixe (Comunicação pessoal, Prof. Rui Sales - ESAM), todas presentes em áreas de cultivo de melão. No entanto, a semente é o veículo mais importante na sobrevivência da bactéria, havendo relatos de transmissão da doença após armazenamento da semente por 12 meses (Hopkins *et al.*, 1996).

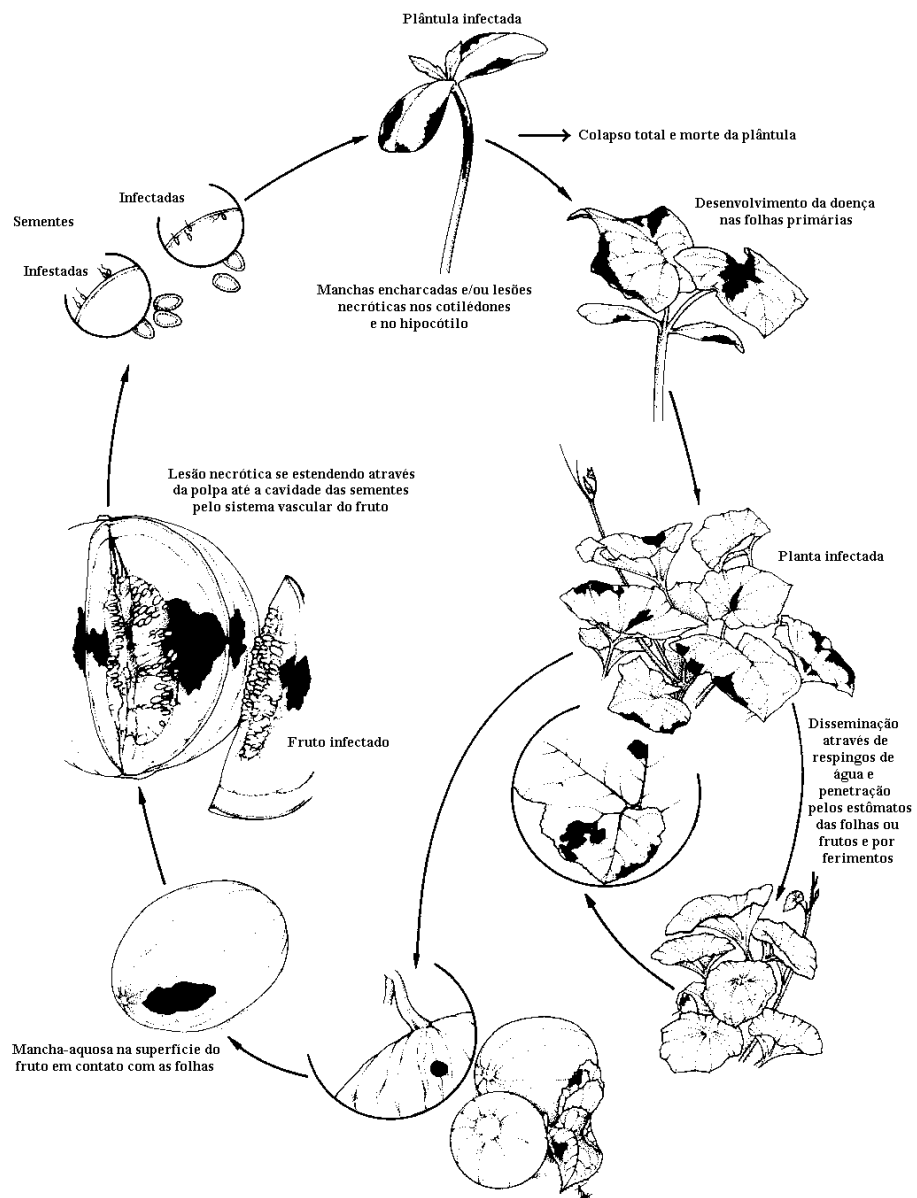


Figura 6.5 – Ciclo da mancha-aquosa causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em melão.

O progresso da doença é favorecido por temperatura e umidade altas. Infecções bem sucedidas podem ocorrer com período de 30 min de molhamento foliar a temperatura de 26°C (Latin, 2000).

A principal medida de controle preconizada para a mancha-aquosa do melão é o uso de sementes sadias ou certificadas. No entanto, a desinfecção de sementes com hipoclorito de sódio 0,5% por 20 min, ácido clorídrico 1,8% por 5 min (Rane & Latin, 1992) ou ácido láctico 2% por 20 min (Santos & Viana, 2000), tem diminuído consideravelmente a transmissão no campo, embora não tenha conseguido erradicar a bactéria dos lotes de sementes infectadas natural e/ou artificialmente. O tratamento hidrotérmico das sementes a 52°C por 10 min é uma medida recomendada pela EMBRAPA, uma vez que não interfere na fisiologia da semente e consegue diminuir a transmissão no campo (Santos & Viana, 2000). Para a proteção, recomendam-se pulverizações preventivas semanais com fungicidas a base de cobre (Tabela 6.3), logo no início da formação dos frutos prolongando-se até o início de maturação dos mesmos. No entanto, esta medida tem pouca eficiência em períodos chuvosos e pode causar problemas de fitotoxidez. Outras medidas de controle, principalmente após a entrada da bactéria no campo são: rotação de culturas com espécies de outras famílias botânicas por, pelo menos, 1 a 2 anos; erradicação de plântulas/plantas com sintomas, bem como plantas voluntárias; evitar plantio na época chuvosa; destruir restos de culturas, principalmente em campos infectados e evitar movimentação de pessoas ou implementos no campo quando as plantas estiverem molhadas por orvalho, irrigação ou chuva e evitar plantio direto (Isakeit, 1999; O' Brien & Martin, 1999; Latin, 2000). Esta última medida serve para evitar a entrada de fitopatógenos em cultivo comercial, sendo as plântulas doentes eliminadas ainda na bandeja.

## **CANCRO BACTERIANO DA VIDEIRA**

A videira pode ser cultivada, praticamente, em todo o território nacional. Além dos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Pernambuco onde a cultura já está estabelecida, a viticultura se expandiu para outras regiões no decorrer dos últimos anos (Kuhn *et al.*, 1986).

O Vale do São Francisco é a principal região produtora e exportadora de uvas de mesa do Brasil, onde a videira possui uma grande importância sócio-econômica pelo rendimento de divisas e grande número de empregos gerados. A intensificação do cultivo de videira, o plantio de variedades suscetíveis, além das condições climáticas prevalentes na região, têm propiciado o surgimento de problemas fitossanitários, afetando diretamente a

produção e a produtividade, principalmente nos períodos após a poda (Tavares, 1995). No Brasil, o cancro bacteriano causado pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye foi detectado, pela primeira vez em 1998, em parreirais do Submédio do Vale do São Francisco, onde a doença vem causando prejuízos em cultivares suscetíveis (Malavolta et al., 1999). Esta bactéria, anteriormente assinalada apenas na Índia (Nayudu, 1972), é também patogênica a plantas de neem, *Phyllanthus maderaspatensis* e manga (Chand & Kishun, 1990b).

Em inoculações artificiais, *X. campestris* pv. *viticola* foi patogênica à mangueira, cajueiro, umbuzeiro, cajá-manga e aroeira (Araújo et al., 1999). A bactéria também foi detectada em porta-enxertos assintomáticos de IAC 572 e sintomáticos de IAC 766, ambos enxertados com a cultivar suscetível Red Globe (Lima & Ferreira, 2000; Nascimento et al., 2000), o que sugere a sobrevivência da bactéria nesses porta-enxertos.

Nas folhas, os sintomas são caracterizados por lesões escuras, pequenas (1-2 mm de diâmetro) e angulares, distribuídas de forma esparsa, mas podendo se concentrar em grande número nos bordos da folha ao redor de ferimentos e das nervuras. Essas lesões, quando coalescem, causam crestamento e a destruição de extensas regiões do limbo foliar. Pode ocorrer também, nas folhas, a formação de manchas setoriais e pardacentas. Nos ramos, observam-se externamente o escurecimento de extensas áreas, muitas vezes acompanhado de necrose e formação de cancrios, que chegam a 3-5 cm de extensão. Na região de ocorrência dos cancrios, nota-se descoloração vascular, que se estende por vários centímetros. Sintomas semelhantes podem ser observados na ráquis. Nas bagas, visualizam-se lesões escuras e grosseiramente arredondadas, com diâmetro de 1-3 mm, semelhantes a cancrios (Malavolta et al., 1999).

A bactéria *X. campestris* pv. *viticola*, anteriormente denominada de *Pseudomonas viticola* sp. nov. (Desai et al., 1966) é Gram negativa, com dimensões de 0,6 x 1,2 - 2,5  $\mu$ , possui um flagelo polar e metabolismo aeróbico (Tabela 6.1). As colônias são arredondadas, convexas, brilhantes com bordos lisos e coloração esbranquiçada em meio Ágar nutritivo, pois não produz xantomadina. Não utiliza o nitrato como fonte de nitrogênio, mas cresce bem em sais de amônio e ácido glutâmico, tendo melhor crescimento, entretanto, em caseína hidrolisada (Nayudu, 1972).

*Xanthomonas campestris* pv. *viticola* pode ser introduzida em parreirais, onde a doença ainda não ocorre, veiculada em mudas ou bacelos infectados, os quais irão originar plantas doentes. A disseminação da bactéria pode ocorrer através de restos de cultura infectados espalhados pelo pomar ou aderidos em roupas, veículos, mas principalmente em contentores, tesouras e luvas não desinfestadas utilizadas na colheita de frutos de plantas doentes. Tratos culturais como desbrota, poda, raleio de bagas, colheita, torção de

ramos, capina, gradagem, roçagem e, até as pulverizações, favorecem a disseminação da bactéria no parreiral. Dentro de um talhão, a bactéria é disseminada por respingos de água de chuva ou de irrigação, principalmente do tipo sobre-copa, como aspersão convencional e pivô central. Apesar da curta estação chuvosa da região do Vale do São Francisco, nesse período a disseminação da bactéria ocorre mais rapidamente e a infecção pode ser mais intensa. O vento seco não dissemina a bactéria, sendo necessário sempre a presença de água. A disseminação do cancro bacteriano dentro do pomar pode ocorrer mais rapidamente que a transmissão entre pomares. Em condições de umidade e temperaturas elevadas a bactéria sobrevive apenas em restos culturais mas não isoladamente no solo. Todos os agentes de ferimentos são importantes para a penetração de bactéria destacando-se os tratos culturais e ventos fortes. Após a penetração, a bactéria multiplica-se rapidamente colonizando os espaços intercelulares e atingindo os vasos, sendo transmitida a todos os órgãos da planta (Figura 6.6).

Temperaturas em torno de 25-30°C e alta umidade relativa do ar proporcionam condições favoráveis ao desenvolvimento do patógeno (Chand & Kishun, 1990a).

Estratégias para o manejo do cancro bacteriano em campo incluem: uso de material propagativo sadio e certificado na instalação do parreiral; evitar as variedades mais suscetíveis como a Red Globe; realização de inspeções periódicas no pomar, se possível semanalmente, para a detecção de focos iniciais de infecção; eliminação de plantas vivas doentes (plantas severamente infectadas devem ser arrancadas, inclusive as raízes, e incineradas imediatamente no local), nas áreas erradicadas, é aconselhável não plantar videira por um período de até seis meses; destruição dos restos de cultura; poda drástica e posterior pincelamento dos cortes com pasta cúprica; programação da poda do pomar de modo a evitar que os estádios compreendidos entre brotação e chumbinho coincidam com o período de ocorrência de chuvas; eliminação das plantas suscetíveis; desinfestação de veículos, equipamentos e materiais de poda, raleio e colheita com amônia quaternária (Quatermon 1 litro/1000 litros de água) (Nascimento *et al.*, 2000) e proteção do pomar com fungicidas cúpricos, principalmente no período das chuvas (Tabela 6.3) (Chand *et al.*, 1994).

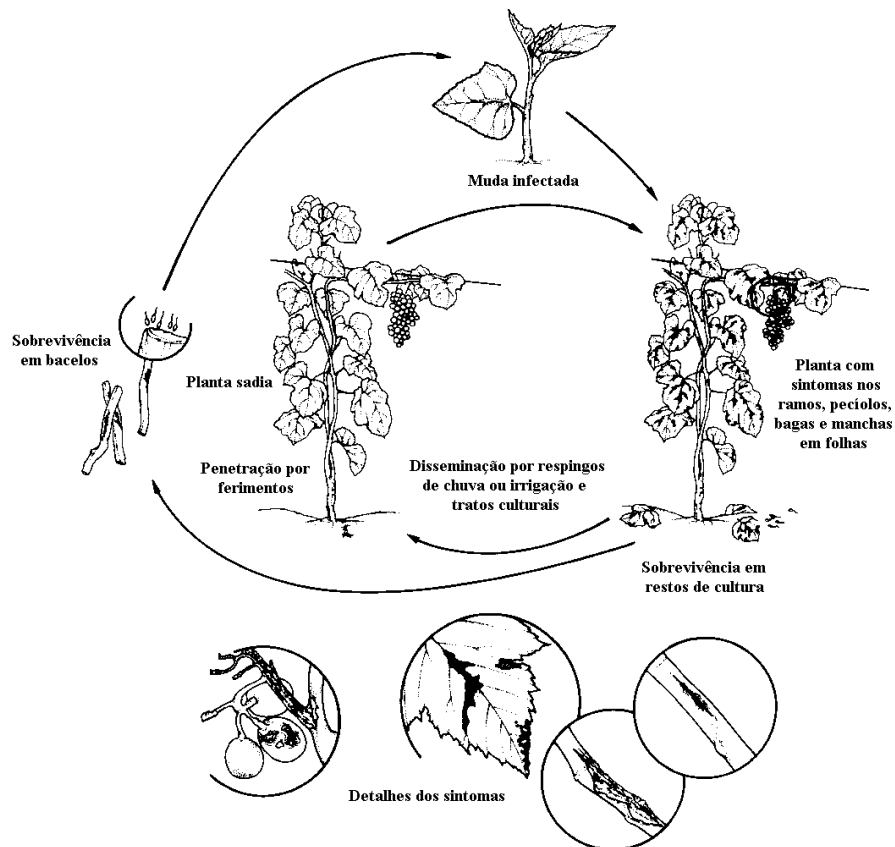


Figura 6.6 – Ciclo do cancro bacteriano causado pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira.

## BIBLIOGRAFIA

Agrofit. Sistema de produtos fitossanitários do Ministério de Agricultura e Abastecimento. [online]. Brasília. 1998. Disponível na internet: < <http://www.agricultura.gov.br/agrofit/>>. Acesso em: 08 ago. 2001.

Alvarez, A.M.; Cho, J.J. Black rot cabbage in Hawaii: inoculum source and disease incidence. *Phytopathology* 68: 1456-1459, 1978.



- Araújo, J.S.P.; Robbs, C.F.; Maciel, G.F. Novos hospedeiros alternativos de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* no Brasil. *Summa Phytopathologica* 25: 23, 1999 (resumo).
- Assis, S.M.P.; Mariano, R.L.R.; Michereff, S.J.; Coelho, R.S.B. Biocontrol of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on kale with *Bacillus* spp. and endophytic bacteria. In: Wenhua, T.; Cook, R.J.; Rovira, A. (Eds.) *Advances in biological control of plant diseases*. Beijing: China Agricultural University Press, 1996. p.347-353.
- Assis, S.M.P.; Mariano, R.L.R.; Silva-Hanlim, D.M.W.; Duarte, V. Mancha-aúosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *Citrulli*, no estado do Rio Grande do Norte. *Fitopatologia Brasileira* 24: 191-, 1999.
- Assis, S.M.P.; Oliveira, I.D.; Covello, V.N.; Couto, E.F.; Rehn, K.G.; Mariano, R.L.R. Detecção de *Ralstonia solanacearum* por PCR no solo e em rizomas de *Heliconia* spp. *Fitopatologia Brasileira* 26: 301, 2001 (suplemento).
- Assis, S.M.P.; Rosa, R.C.T.; Mariano, R.L.R. Ocorrência de *Ralstonia solanacearum* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* em helicônia no estado em Pernambuco. *Fitopatologia Brasileira* 25: 319, 2000 (suplemento).
- Chand, R.; Kishum, R. Effect of temperature on the growth of grapevine bacterial pathogen. *Drakshavritta Souvenir* 73: 5, 1990a.
- Chand, R.; Kishum, R. Outbreak of grapevine bacterial canker disease in India. *Vitis* 29: 183-188, 1990b.
- Chand, R.; Singh, P.N.; Singh, D.; Singh, R. Copper and streptomycin resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 101: 487-491, 1994.
- Conceição, F.A.D.; Kimoto, T.; Zanin, A.C.W. Relação entre cultivares de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) épocas de plantio e incidência de podridão negra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pam.) Dowson. *Revista de Olericultura* 15: 249-251, 1975.
- Davis, F.L.; Williams, S.T. Studies on the ecology of actinomycetes in soil. I. The occurrence and distribution of actinomycetes in a pine forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 2:2 27-238, 1970.
- De Boer, S.H.; Verdonck, J.; Vrugink, H.; Harjup, P.; Bang, H.O.; De Ley, J. Serological and biochemical variation among potato strains of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and their taxonomic relationship to other *E. carotovora* strains. *Journal of Applied Bacteriology* 63: 487-495, 1987.

- Desai, S. G.; Gandhi, A B.; Patel, M.K.; Kotasthanae, W. V. A new bacterial leaf-spot and blight of *Azadirachta indica* A. Juss. Indian Phytopathology 19: 322-323, 1966.
- Dikey, R.S. *Erwinia chrysanthemi*: A comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. Phytopathology 69: 324-329, 1979.
- Dzhalilov, F.S.; Tiwari, R.D. Soil and cabbage plant debris as infection sources of black rot. Archives für Phytopathologische und Pflanzenschutz 28: 383-387, 1995.
- Flankle, W.G.; Hopkins, D.L.; Stall, R.E. Ingress of the watermelon fruit blotch bacterium into fruit. Plant Disease 77: 1090-1092, 1993.
- Goodman, R.N., Kiraly, Z.; Wood, K.R. The biochemistry and physiology of plant disease. Columbia: University of Missouri Press, 1986. 433p.
- Goto, M. Fundamentals of bacterial plant pathology. San Diego: Academic Press, 1992. 324p.
- Hayward, A.C. Phenotypic methods for the differentiation of *Pseudomonas solanacearum*: biovars and supplementary observations. In: Mehan, V. K.; McDonald, D. (Eds.) Techniques for diagnosis of *Pseudomonas solanacearum* and for resistance screening against groundnut bacterial wilt. India: ICRISAT. 1995. p.27-34. (ICRISAT. Technical Manual, 1).
- Hayward, A.C. The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: Hayward, A.C; Hartman, G.L. (Eds.) Bacterial wilt - the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB International, 1994. p.9-24.
- Hayward, A.C.; Mariano, R.L.R. Mecanismos de virulência e patogenicidade de procaríotos em plantas. Revisão Anual de Patologia de plantas 5: 199-234, 1997.
- Hooker, W.J. Common scab. In: Hooker, W.J. (Ed.) Compendium of sweet potato diseases. St. Paul: APS Press, 1981. p.33-34.
- Hopkins, D. L.; Cucuzza, J. D.; Waterwon, J. C. Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of watermelon. Plant Disease 80: 529-532, 1996.
- Howard, R.J., Garland, J.A.; Seaman, W.L. Potato. In: Howard, R.J., Garland, J.A.; Seaman, W.L. (Eds.) Diseases and pests of vegetable crops in Canada. Ottawa: The Canadian Phytopathological Society, 1994. p.224-263.
- Isakeit, T. Bacterial fruit blotch in watermelon. [online] Texas: The Agricultural Extension Service - USA, 1999. Disponível na internet: <<http://www.sygnus.tamu.edu/extlabn/vegetables/Watermelon/wmelon.htm>>. Acesso em: 20 set. 2000.

- Jabuonski, R.E., Takatsu, A.; Reifschneider, F.J.B. Levantamento e identificação de espécies de *Erwinia* de diferentes plantas hospedeiras e regiões do Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 11: 185-195, 1986.
- Jabuonski, R.E.; Hidalgo, O.A. Doenças bacterianas. In: Reifschneider, F.J.B. (Coord.) Produção de batata. Brasília: Linha Gráfica, 1987. p.85-93.
- Kelman, A., Hartman, G.L.; Hayward, A.C. Introduction. In: Hayward, A.C.; Hartman, G.L. (Eds.) Bacterial wilt - the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB International, 1994. p.1-7.
- Kimati, H.; Gimenes-Fernandes, N.; Soave, J.; Kurozawa, C.; Brignani Neto, F.; Bettioli, W. Guia de fungicidas agrícolas. 2. ed. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1997. v.1., 225p.
- Kuhn, G.B.; Lovatel, J.L.; Prezotto, O.P.; Rivaldo, O.F.; Mandelli, F.; Sônego, O.R. O cultivo da videira: informações básicas. 2. ed. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPUV, 1986. 60p. (EMBRAPA-CNPUV. Circular Técnica, 10).
- Kurozawa, C.; Pavan, M.A. Doenças do tomateiro. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Resende, J.A.M. (Eds.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.690-719.
- Latin, R.X. Bacterial fruit blotch of Cucurbits. [online]. St. Paul: Plant Health Progress-USA, 2000. Disponível na internet: <<http://www.planthealthprogress.org/current/management/Bacterialblotch/article.htm>>. Acesso em: 20 set. 2000.
- Lawrence, C.H., Clark, M.C.; King, R.R. Introduction of common scab symptoms in aseptically cultured potato tubers by the vivotoxin, thaxtomin. *Phytopathology* 80: 606-608, 1990.
- Lima, M.F.; Ferreira, M.A.S.V. Infecção latente em porta-enxertos de videira causada por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. In: Congresso Paulista de Fitopatologia, 23., São Paulo - SP, 2000. Programa e Resumos ... Campinas: Grupo Paulista de Fitopatologia, 2000. p.283.
- Liu, D., Anderson, N.A.; Kinkel, L.L. Biological control of potato scab in the field with antagonistic *Streptomyces scabies*. *Phytopathology* 85: 827-831, 1995.
- Lopes, C.A.; Quezado-Soares, A.M. Doenças bacterianas das hortaliças - Diagnóstico e controle. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1997. 70p.
- Lorang, J.M.; Anderson, N.A.; Lauer, F.I.; Wildun, D.K. Disease decline in a Minnesota scab plot. *American Potato Journal* 65: 531, 1989.

- Loria, R., Bukhalid, R.A.; Fry, B.A. Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Plant Disease* 81: 836-846, 1997.
- Malavolta JR., Almeida, I. M. G.; Sugimori, M. H.; Ribeiro, I. J. A.; Rodrigues Neto, J.; Pires, E. J. P.; Nogueira, E. M. C. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no Brasil. *Summa Phytopathologica* 25: 262-264, 1999.
- Mariano, R.L.R., Barros, S.T., Silva, I.P.; Padovan, I.P. Incidência e severidade da sarna comum da batata nos Estados de Paraíba e Pernambuco. *Caderno Ômega* 2: 632-595, 1992.
- Mariano, R.L.R.; Michereff, S.J. Lista comentada de bactérias fitopatogênicas registradas e/ou estudadas no estado de Pernambuco - Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 19: 499-507, 1994.
- Maringoni, A.C. Doenças das crucíferas (brócolis, couve, couve-chinesa, couve-flor, rabanete, repolho e rúcula). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Rezende, J.A.M. (Eds.) *Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.315-324.
- McGuire, R.G.; Kelman, A. Reduced severity of *Erwinia* soft rot in potato tubers with increased calcium content. *Phytopathology* 74: 1250-1256, 1984.
- Nascimento, A. R. P.; Aguiar, I. F.; Silva, V. A. V.; Castro, G. S. S.; Paz, C. D. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em porta-enxertos de videiras. *Fitopatologia Brasileira* 25: 326, 2000.
- Nayudu, M.V. *Pseudomonas viticola* sp. nov., incitant of a new bacterial disease of grape. *Phytopathologische Zeitschrift* 73: 183-186, 1972.
- O' Brien, R.G.; Martin, H.L. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Australasian Journal of Experimental Agriculture* 39: 479-485, 1999.
- Pereira, L.V.; Normando, M.C.S. Sobrevivência de *Pseudomonas solanacearum* raça 2 em solos de terra-firme do Estado do Amazonas. *Fitopatologia Brasileira* 18: 137-142, 1993.
- Perombelon, M. How do potato growers stop brown rot?. *Potato Review* 6: 18-21, 1996.
- Pérombelon, M.C.M.; Kelman, A. Ecology of the soft rot erwinias. *Annual Review of Phytopathology* 18: 361-387, 1980.
- Rane, K.K.; Latin, R.X. Bacterial fruit blotch of watermelon: Association of the pathogen with seed. *Plant Disease* 76: 509-512, 1992.

- Robbs, C.F., Rodrigues Neto, J.; Greco, A.R. Influência de práticas culturais no controle da murcha bacteriana. *Summa Phytopathologica* 20: 53, 1994 (resumo).
- Robbs, C.F.; Rodrigues Neto, J.; Beriam, L.O.S. Podridões de frutos de melão em pós-colheita causadas por bactérias no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 17: 195, 1992 (resumo).
- Romeiro, R.S. Bactérias fitopatogênicas. Viçosa: Imprensa Universitária - UFV, 1995. 283p.
- Santos, A.A.; Viana, F.M.P. Mancha-aquosa do melão. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 2000. 2p.
- Schaad, N.W.; Dianese, J.C. Cruciferous weeds as source of inoculum of *Xanthomonas campestris* in black rot of crucifers. *Phytopathology* 71: 1215-1220, 1981.
- Schottel, J.L. *Streptomyces* pathogenesis. In: Singh, R.P.; Kohmoto, K. (Eds.). Pathogenesis and host specificity in plant diseases: histopathological, biochemical, genetic and molecular bases. Vol. 1: Prokaryotes. New York: Elsevier Science Inc., 1995. p.253-71.
- Silva, J.R. Coletânea de informações sobre o "Moko" da bananeira. Brasília: MARA, 1997. (versão preliminar)
- Silveira, N.S.S., Michereff, S.J.; Mariano, R.L.R. *Pseudomonas solanacearum* no Brasil. *Summa Phytopathologica* 22: 97-111, 1996.
- Silveira, V.D. Doenças bacterianas. In: Silveira, V.D. (Ed.). Elementos de fitopatologia. Agronomia: Rio de Janeiro, 1949, v.8, p.207-247.
- Slack, S.A. A look at potato leafroll virus and potato virus Y: Past, present and future. *Badger Common Tater* 43:16-21, 1991.
- Souza Dias, J.A.C.; Iamauti, M.T. Doenças da batateira (*Solanum tuberosum* L.). In: Kimati, H., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A.; Resende, J.A.M. (Eds.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.137-264.
- Stanghellini, M.E.; Meneley, J.C. Identification of soft rot *Erwinia* associated with blackleg of potato in Arizona. *Phytopathology* 65: 86-87, 1975.
- Sugimori, M.H. Bactérias em sementes. In: Soave, J.; Wetzel, M.M.V.S. (Eds.) Patologia de sementes. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.68-85.
- Tavares, S.C.C. de H. Principais doenças das culturas de: manga, uva, acerola e banana. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA, 1995. 1v. (EMBRAPA/CPATSA- Apostila do Curso de Atualização Técnica para Engenheiros Agrônomos do Banco do Brasil)

- Tokeshi, H.; Carvalho, P.C.T. Doenças do tomateiro - *Lycopersicon esculentum* Mill. In: Galli, F. (Coord.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, p.511-552.
- Tokeshi, H.; Salgado, H. Doenças das crucíferas (brócolis, couve-flor, rabanete e repolho). In: Galli, F. (Coord.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, p. 236-250.
- Williams, P.H. Blackrot: a continuing threat to world crucifers. *Plant Disease* 64: 736-742, 1980.
- Xu, G.W.; Gross, D.C. Selection of fluorescent pseudomonads antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed piece decay. *Phytopathology* 76: 414-422, 1986.
- Yokoyama, S.; Silva Júnior, A.A. Comportamento de cultivares de repolho para o litoral catarinense. Florianópolis: EMPASC, 1987. 6p.

# ESTRATÉGIAS E MÉTODOS APLICADOS AO CONTROLE DE FITOVIROSES

GENIRA PEREIRA DE ANDRADE  
GILVAN PIO-RIBEIRO

## INTRODUÇÃO

As doenças de plantas causadas por vírus têm despertado grande interesse entre as pessoas envolvidas com a agricultura, não somente pelos elevados danos causados à produção de importantes culturas em todo o mundo, como também pelas dificuldades encontradas para realização de diagnoses seguras e implementação de medidas eficientes de controle.

Normalmente, na elaboração de um programa de controle amplo para uma fitovirose, procuram-se reunir diferentes medidas pertencentes aos princípios gerais de *exclusão*, *erradicação*, *proteção*, *imunização*, *terapia*, *evasão* e *regulação*, que atuam nos componentes do triângulo da doença: planta, patógeno e ambiente. Na seleção e implementação das medidas, são levadas em consideração as características típicas do patógeno, quanto às suas propriedades intrínsecas, biológicas e epidemiológicas, além de fatores de caráter econômico e demais componentes incluídos na equação de produção como: cultivar, tratos culturais, controle de outras doenças, ervas daninhas e pragas, etc. Desta maneira, visa-se o controle das fitoviroses como um componente da agricultura sustentável, a qual tem como base, não somente a relação custo/benefício, como também a minimização dos efeitos danosos ao agroecossistema.

## ESTRATÉGIAS BÁSICAS DE CONTROLE

Segundo sua natureza, as medidas de controle das fitoviroses podem ser reunidas em quatro grupos, formando um conjunto de estratégias básicas:

- Obtenção e utilização de material propagativo livre de vírus
- Eliminação de fontes de vírus
- Atuação contra vetores de vírus

- Uso de material resistente a vírus, obtido por melhoramento genético e/ou por indução de resistência

A formulação e aplicação dessas estratégias em casos específicos requerem a identificação dos pontos-chaves onde se deve atuar, com base no conhecimento dos aspectos ecológicos do vírus e epidemiológicos da fitovirose.

### **Obtenção e utilização de material propagativo livre de vírus (MPLV)**

Esta estratégia de controle de vírus baseia-se no princípio geral de exclusão, sendo de fundamental importância para manutenção e intercâmbio de germoplasma, plantio de culturas propagadas vegetativamente, implementação de culturas perenes e nos cultivos de plantas anuais na presença de altas densidades populacionais de vetores, que transmitem eficientemente os vírus a partir de plantas-foco.

### **Obtenção de material sadio por meio de seleção ou da produção de matrizes, através de limpeza clonal**

A seleção de material sadio se faz por meio de inspeção de campo e análise clínica, amostragem de material para análise laboratorial e indexação em relação a vírus. Esta metodologia pode ser aplicada para batatinha (*Solanum tuberosum* L.), batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), pimenta-do-reino (*Peper niger* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), etc.

A eliminação de vírus visando à limpeza clonal pode ser obtida através de termo e/ou quimioterapia, cultura de meristema (ou ápices caulinares), cultivo de embrião, clones nucelares (embriões somáticos) e sementes botânicas.

A quimioterapia é feita pela utilização de análogos de purinas e pirimidinas (8-azaguanina e 2-1-tiouracil) como adjuvantes para a técnica de cultura de meristema apical, com a qual clones preferidos pelos produtores se tornam livres de infecções virais.

A termoterapia consiste em manter por várias semanas as plantas infectadas e em crescimento ativo em ambiente com 35-40° C. Adota-se para o tratamento a temperatura mais elevada tolerada pelo vegetal. Em alguns casos o(s) vírus desaparece(m) do material propagativo, e em outros não, sendo detectados nos repetidos testes de averiguações posteriores. Estes testes são imprescindíveis, pois permitem revelar infecção onde aparenta não existir.



Em sementes verdadeiras o tratamento térmico é eficiente apenas para os vírus veiculados externamente, uma vez que, para os localizados no embrião, o tratamento térmico inviabilizaria a semente.

A aplicação de cultura de meristema (ou ápices caulinares) na obtenção de plantas livres de vírus se baseia no fato de que a distribuição dos vírus no hospedeiro suscetível herbáceo ou perene não é uniforme. Há tecido preferencialmente infectado, enquanto outros contêm quantidades ínfimas ou estão livres do patógeno. Células meristemáticas nos ápices das brotações permanecem sem vírus por algum tempo, dando ensejo a se desenvolverem plântulas aviróticas, uma vez transferidas da planta para meios de cultura apropriados. A cultura de meristema apical é largamente usada para produzir estoque de plantas propagadas vegetativamente.

Matrizes sadias provenientes de plantas doentes podem ser obtidas pelo uso de cultura de embriões nucelares. Esta técnica bastante utilizada em citricultura, baseia-se no fenômeno da poliembrionia observado no processo de germinação das sementes, no qual os embriões são originados do núcleo do óvulo ao lado do embrião gamético. Os embriões nucelares copiam, essencialmente, a totalidade das características da planta original, enquanto o gamético se desenvolve numa planta que mostrará as variações decorrentes da recombinação de fatores. Já que nos vírus de plantas cítricas, as sementes de plantas viróticas normalmente originam plantas aviróticas, utilizam-se os embriões nucelares como um meio de revitalizar os clones, livrando-os de viroses, através da obtenção de matrizes básicas livres de vírus.

A obtenção e propagação de material pelo processo de limpeza clonal são realizadas em larga escala em laboratórios denominados de biofábricas.

### **Programa de certificação de sementes e material de propagação vegetativa**

Um programa de certificação de sementes e material de propagação vegetativa em escala comercial utiliza procedimentos baseados em dois aspectos:

- Exame visual para a constatação da ausência de sintomas específicos: na cultura que produziu o material (inspeção de campo), no eventual produto (inspeção a granel), e em plantas retiradas de amostras ao acaso do produto.
- Indexação de rotina para a constatação da ausência de vírus por testes de infectividade, sorologia ou moleculares; em amostras de cultura de planta-mãe que produziu o material (inspeção de campo), em amostras de material comercial e em plantas obtidas dessas amostras.

### **Serviços de quarentena**

Os serviços de quarentena possuem uma importância inestimável para a agricultura, os quais são consolidados através de legislações fitossanitárias promulgados por órgãos governamentais com vigência em nível regional, nacional e internacional. As medidas quarentenárias são executadas através de proibição, fiscalização e interceptação do trânsito de plantas ou produtos vegetais.

### **Eliminação de fontes de vírus**

Além da eliminação de vírus realizada para obtenção de material propagativo sadio, caracterizada como medida de Exclusão, várias outras formas podem ser efetivadas dentro e fora do campo da cultura, como medida de Erradicação.

A erradicação de hospedeiros silvestres, plantas voluntárias (remanescentes) e fontes de inóculo primário na cultura (“rouging”), embora possa contribuir para o controle de fitovírus, possui limitações decorrentes da possibilidade de ocorrer plantas com sintomas tardios, infecções latentes ou mascaradas, além de hospedeiros silvestres que atuam como fonte contínua dos vírus. A desinfestação de ferramentas usadas em podas e de outros implementos agrícolas, muitas vezes é necessária. Uma outra medida é evitar cultivos seqüenciados e eliminar insetos vetores, nos casos de vírus persistentes no vetor, especialmente quando é propagativo.

### **Atuação contra vetores de vírus**

Além São várias as formas de reduzir a ação dos vetores:

- Uso de determinados defensivos agrícolas, dependendo do tipo de vetor envolvido na transmissão do vírus: aplicações de inseticida sistêmico (vírus persistentes) e óleo mineral (vírus não persistentes); nematicidas, fungicidas, acaricidas;
- Uso de cultivares resistentes aos vetores (antibiose e/ou não preferência);
- Cultivo em determinadas áreas e/ou épocas, visando a fuga em relação à presença de vetores ou a coincidência de alta população durante a fase inicial do ciclo de culturas anuais;
- Destruição de hospedeiros hibernantes de insetos vetores e nematóides, próximos ou na área cultivada;
- Uso de barreiras vegetais que impedem o movimento dos insetos vetores dentro da cultura e uso de telado para cultivo intensivo;

- Aplicação de repelentes ou superfícies reflectivas, tais como cobertura morta, folha de alumínio e uso de armadilhas.

## **Uso de material resistente a vírus, obtido por melhoramento genético e/ou por indução de resistência**

### **Melhoramento genético**

Muitas variedades comerciais de plantas têm sido deliberadamente ou impropriamente selecionadas para minimizar a incidência e efeito de doenças, incluindo aquelas causadas por vírus. Genes de resistência, hipersensibilidade ou imunidade têm sido procurados, encontrados e incorporados às variedades comerciais, contudo, muitas dificuldades são constatadas nessa incorporação, principalmente por razões de ordem técnica e econômica. Na impossibilidade de localizar a fonte de imunidade ou resistência, a solução para o problema de viroses pode consistir no uso de cultivares tolerantes ao vírus, ou então, de combinações enxerto/porta-enxerto resistentes, em se tratando de fruteiras. A diversidade genética encontrada em materiais silvestres, incluindo resistência a vírus, tem sido utilizada em programas de melhoramento, através de cruzamentos e seleção de progênies, fusão de protoplastos (quando não há compatibilidade para o cruzamento), entre outros.

A durabilidade da resistência tem sido variável dependendo principalmente do surgimento de estirpe nova do vírus na área de cultivo. Na Tabela 7.1 são apresentados os possíveis comportamentos varietais de plantas em relação a um determinado vírus.

Tabela 7.1 – Possíveis comportamentos varietais de plantas em relação a um determinado vírus.

<b>Tipo de comportamento</b>	<b>Sintomas</b>	<b>Replicação viral</b>
Imunidade*	não	não
Suscetibilidade	sim (severo)	sim (alta)
Hipersensibilidade	sim (lesão locais ou morte)	sim (baixa)
Resistência	sim (suave)	sim (baixa)
Tolerância	sim (suave)	sim (média ou alta)

\*Difícil de ser determinada, uma vez que, baixos níveis de replicação viral sem sintomas podem ocorrer sem serem devidamente detectados

### **Indução de resistência**

A indução de resistência pode ser obtida através da inoculação de estirpes fracas de vírus, processo conhecido como premunização ou proteção cruzada e por transformação de plantas com transgenes. Quando se utiliza transgene viral, a semelhança da premunização, este processo enquadra-se na categoria de resistência derivada do patógeno.

A premunização é um método utilizado com sucesso na citricultura para o controle da tristeza dos citros (*Citrus tristeza vírus* - CTV) e em maracujá, na Austrália, contra o endurecimento dos frutos (*Passionfruit woodiness vírus* - PWV). Em diversos casos em que a premunização mostrou-se eficiente no início, como por exemplo, contra o mosaico do mamoeiro (*Papaya ringspot vírus* - PRSV), a resistência foi quebrada devido o surgimento e/ou predominância de estirpes fortes. São citadas como desvantagens da proteção cruzada: baixa eficiência devido a escape, mutação de estirpe fraca, sinergismo com outro vírus, estirpe fraca pode infectar outras culturas e inoculação difícil em muitos casos.

Atualmente, grande esforço está sendo aplicado no sentido de produzir plantas transgênicas com genes do genoma viral, as quais apresentam elevado grau de resistência. Semelhantemente a premunização, têm sido observados casos de quebra de resistência. No processo de transformação, são empregados vários tipos de cultivo *in vitro* (cultivo de células, protoplastos, caules, etc.), além de diferentes métodos de transferência dos transgenes.

## **EXEMPLOS DE CONTROLE DE DOENÇAS CAUSADAS POR VÍRUS**

### **Mosaico do mamoeiro**

O mosaico do mamoeiro é também conhecido como mancha anelar do mamoeiro, mancha em anel do mamoeiro, “deformacion foliar”, “manchas en anillos”, “Papaya distortion ringspot”, “Faint mottle ringspot” e “Mancha en anel de la papaya”. A doença tem como agente causal o *Papaya ringspot vírus* – PRSV do gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*, vulgarmente conhecido como vírus da mancha anelar do mamoeiro, que apresenta como sinónimas: vírus do mosaico do mamoeiro, “papaya (papaw) mosaic virus”, e “watermelon mosaic virus 1”. O mosaico do mamoeiro foi reconhecido, pela primeira vez, no Brasil em 1967, na região de Monte Alto, em São Paulo. Mais tarde, foi relatado no Ceará, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Distrito Federal, Rio Grande do Sul, Espírito Santo e Bahia, estando, atualmente, disseminado por todas as áreas produtoras do país.

O vírus apresenta dois tipos de isolado: o tipo P que infecta mamão e algumas cucurbitáceas e o tipo W que causa doença em melancia e outras cucurbitáceas, não infectando o mamão.

O mosaico do mamoeiro pode ser considerado como um fator limitante da cultura em áreas tropicais e subtropicais, na medida em que afeta diretamente a produção em termos quantitativos, havendo, ainda, diminuição do valor comercial dos frutos doentes por apresentarem manchas. Sua ocorrência pode induzir o abandono da cultura ou da área, bem como diminuir o período de produção econômica. Em 1969, constatou-se, em São Paulo, algumas plantações com 50 a 100% de plantas infectadas, o que reduziu consideravelmente a produção. Em pomares de Pernambuco foi observado mais de 90% de plantas infectadas, num período de 7-10 meses, causando uma redução de cerca de 70% na produção.

### **Controle**

#### **Exclusão**

- Implantação do pomar com mudas sadias, e distante de outras plantações onde a doença ocorra.
- Evitar o crescimento de cucurbitáceas nas proximidades do pomar.

#### **Erradicação**

- Eliminação sistemática de plantas doentes e mamoeiros velhos de plantações abandonadas.
- Rotação de cultura e formação de barreiras com outras plantas, como pinheiro, milho, arroz, cana-de-açúcar, etc.

#### **Proteção**

- Controle de afídeos vetores, inclusive fazendo a manutenção do pomar limpo para evitar a formação de colônias de afídeos nas plantas daninhas.

#### **Imunização**

- A variedade IAC-98 apresentou, em testes de campo, alto nível de tolerância.
- O controle do mosaico do mamoeiro através de premunização (proteção cruzada) vem sendo utilizado, experimentalmente, com alguns resultados positivos, porém não tem sido uma alternativa adequada devido à estabilidade das estirpes fracas selecionadas, havendo quebra da proteção. O uso de cultivares transgênicos, transformados com o gene da capa protéica do PRSV, abre novas perspectivas de controle.

### Evasão

- Plantio em áreas onde não ocorra a virose.
- Plantio em áreas de menor população de afídeos.

### **Mosaico severo do caupi**

O mosaico severo caupi é também conhecido como mosaico severo do feijão macassar e “cowpea severe mosaic”. É causado pelo *Cowpea severe mosaic virus* - CPSMV, do gênero *Comovirus*, família *Comoviridae* e apresenta as seguintes sinonímias: vírus do mosaico da *Vigna*, subgrupo severo do vírus do mosaico da *Vigna*, “cowpea mosaic virus - Severe Strain”, “cowpea mosaic severe subgrupo”, “Arkansas cowpea mosaic virus” e “Trinidad cowpea mosaic virus”.

Esta doença, constitui-se em um dos principais problemas fitopatológicos da cultura no Brasil, pelo fato de encontrar-se disseminado em todas as regiões produtoras e induzir uma redução na produção de grãos de até 80 %, dependendo da idade da planta na época da infecção, número de plantas infectadas, susceptibilidade e ciclo de cultivar.

Em plantas inoculadas mecanicamente, pode ocorrer morte, dependendo da cultivar envolvida e da concentração de partículas de vírus no inóculo.

O vírus infecta naturalmente espécies silvestres e cultivadas da família leguminosa e, experimentalmente, pode infectar poucas espécies de outras famílias.

### **Controle**

#### Erradicação

- Diminuição do inóculo e retardamento ao máximo da disseminação do patógeno, através da eliminação de plantas de caupi remanescente de cultivos anteriores e de outros hospedeiros naturais.

#### Proteção

- Controle de insetos vetores de vírus.

#### Imunização

- Utilização de cultivares resistentes, como, por exemplo, a cv. “Macaibo”, “Roxão-r”, “TVU-1250”, “CNCx87-7E”, “TVU-612”, “CNCx11-9D”, “CNC-0434”, BR 10 Piauí, BR 14 Mulato.

#### Evasão

- Plantio em áreas onde não ocorra a virose.

### **Endurecimento dos frutos do maracujazeiro**

O Endurecimento dos frutos do maracujazeiro que também é conhecido como “Woodiness do maracujá”, tem como agente causal o *Passionfruit woodiness virus* - PWV, do gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*.

A doença foi inicialmente relatada na Austrália, causando grandes prejuízos à cultura. No Brasil, a partir da década de 1970, foi constatada na Bahia e em Pernambuco, encontrando-se atualmente disseminada nas principais áreas produtoras do Nordeste. O PWV causa sérios danos à cultura, reduzindo significativamente a produtividade, a longevidade da planta atacada e a qualidade dos frutos.

A forma de introdução do PWV no Brasil ainda é desconhecida. Cogita-se que este patógeno já ocorria no país de uma forma menos severa, mas com a rápida expansão da cultura do maracujá nas últimas décadas, houve condições para o aparecimento de estirpes mais severas.

#### **Controle**

##### Exclusão

- Evitar a entrada do vírus em regiões que ainda não ocorra, impedindo a introdução de mudas doentes. A produção de mudas deve ser efetivada fora das regiões de cultivo do maracujá, onde foi constatada a virose.

##### Erradicação

- Eliminação de plantas doentes e renovação da cultura e eliminação de hospedeiros alternativos do patógeno.

##### Proteção

- O controle da doença pelo combate aos insetos vetores tem demonstrado pouca eficiência.

##### Imunização

- A premunização das plantas com estirpes fracas do vírus é empregada como forma de controle na Austrália.
- Utilização de maracujazeiros híbridos (*P. edulis* x *P. edulis* f. *flavicarpa*) tolerantes ao PWV.

## BIBLIOGRAFIA

- Bos, L. Introduction to plant virology. Wageningen: Center for Agricultural Publishing and Documentation, 1983. 160p.
- Boswell, K.F.; Gibbs, A.J. Viruses of legumes: descriptions and key from viruses identification and data exchange. Canberra: Australian Parlonm University, 1983. 139p.
- Chagas, C.M.; Kitajima, E.W.; Lin, M.T.; Gama, M.I.C.S.; Yamashiro, T.Y. Chave moléstia em maracujá amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa* DEG.) no Estado da Bahia, causada por um isolado do vírus do “woodiness” do maracujá. Fitopatologia Brasileira 6: 259-268, 1981.
- De Wijs, J.J. A virus causing ringspot of *Passiflora edulis* in the Ivory Coast. Annals of Applied Biology 77: 33-40, 1974.
- Gibbs, A.; Harrison, B. Plant virology: the principles. London: Edward Arnold, 1976. 272p.
- Greber, R.S. Passionfruit woodiness virus as a cause of passion vine tip blight disease. Queensland Journal of Agricultural and Animal Science 23: 533-538, 1966.
- Jager, C.P. Cowpea severe mosaic virus. Descriptions of plant viruses - n.209. Kew: CMI, 1979. 3p.
- Kitajima, E. W.; Chagas, C.M.; Crestani, O.A. Enfermidades de etiologia viral e associadas a organismos do tipo micoplasma em maracujazeiros no Brasil. Fitopatologia Brasileira 11: 409-432, 1986.
- Lin, M.T. ;Santos, A.A.; Kitajima. E.W. Host reactions and transmission of two cowpea viruses from Central do Brasil. Fitopatologia Brasileira 6: 193-203, 1981.
- Lima, J.A.A.; Santos, A.A. Vírus que infectam o caupi no Brasil. In: Araújo, J.P.P.; Watt, E.E. (Eds.) O Caupi no Brasil. Brasília: IITA/EMBRAPA, 1988. p.507-545.
- Lima, J.A.A.; Vale, C.C. Herança da resistência ao “Cowpea Severe Mosaic Virus” em *Vigna unguiculata* cv. “Macaibo”. In: Reunião Brasileira de Pesquisa do Caupi, 2., Brasília – DF, 1987. Resumos ... p.30.



- Loreto, T.J.E.; Vital, A.F. Viroses e micoplasmose do maracujá em Pernambuco. Recife: Serviço de Defesa Vegetal, 1983. 23p.
- Matthews, R.E.F. Plant virology. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Academic Press, 1991. 835 p.
- Purcifull, D.; Gonsalves, D. Papaya ringspot virus. Descriptions of plant viruses - n.292. Kew: CMI, 1984, 4p.
- Pio-Ribeiro, G.; Assis Filho, F.M. Doenças do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Resende, J.A.M. (Eds.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. v.2, p.233-244.
- Pio-Ribeiro, G.; Mariano, R.L.R. Doenças do Maracujazeiro (*Passiflora* spp.). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Resende, J.A.M. (Eds.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. v.2, p.525-532.
- Rios, G.P.; Neves, B.P. Dispersão do vírus do mosaico severo do caupi. Fitopatologia Brasileira 14: 20-25, 1989.
- Rezende, J.A.M.; Fancelli, M.I. Doenças do mamoeiro (*Carica papaya* L.). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Resende, J.A.M. (Eds.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. v.2, p.486-500.
- Taylor, R.H.; Greber, R.S. Passionfruit woodiness virus. Descriptions of plant viruses - n.122. Kew: CMI, 1973. 4p.
- Teakle, D.S.; Wildermuth, G.B. Host range and particle length of Passionfruit woodiness virus. Queensland Journal of Agricultural and Animal Science 24: 173-186, 1967.
- Yamashiro, T.; Chagas, C.M. Ocorrência de grave moléstia virótica do maracujá amarelo no Estado da Bahia. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 12., Pelotas – RS, 1979. Resumos ... v.3, p.915-916.
- Walkey, D.G.A. Applied plant virology. London: William Heinemann, 1985. 329p.
- Zerbini, F.M.; Brommonschenkel, S.H.; Vale, L.A.C.; Ambrozevícius, L.P.; Alfenas, A.C. Doenças de plantas e biologia molecular. Informe Agropecuário 21(204): 43-52, 2000.

# DIAGNOSE E MANEJO DE DOENÇAS DAS FRUTEIRAS TROPICAIS NO NORDESTE BRASILEIRO

SÔNIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA  
SELMA CAVALCANTI CRUZ DE HOLANDA TAVARES  
SUZANA ALENCAR FREIRE DANTAS

## INTRODUÇÃO

A fruticultura assume posição de destaque na agricultura brasileira, contribuindo com 10% da produção mundial, estimada em 30 milhões de toneladas em uma área plantada de 2,3 milhões de hectare. Esse percentual confere ao Brasil o título de maior produtor de frutas do mundo. As condições brasileiras para o mercado interno, como para o mercado externo, conferem-lhe vantagens comparativas em relação aos países concorrentes devido as condições climáticas favoráveis, grande disponibilidade de área e acervo razoável de tecnologias. O Nordeste, que produz 29% do total nacional, representa a região com maior potencial para a produção de frutas tropicais, sendo o primeiro lugar na produção de abacaxi, banana, caju, côco, mamão, maracujá e melão, estando a produção de manga com mais de 51% do que se produz no país. A viticultura, um desafio vencido no Nordeste, compete com a manga em área plantada, exportação e rentabilidade. Contudo, a expansão de áreas cultivadas em toda região agrícola estimula o favorecimento de doenças que tem despertado nos produtores à buscarem na pesquisa alternativas que minimizem os prejuízos por elas causados, além da pesquisa também oferecer caminhos alternativos de controle cada vez menos agressivos ao ambiente e considerar a necessidade de se aprimorar os processos principalmente ligados à organização e pós-colheita, a fim de que se explorem convenientemente os recursos e se diminuam as perdas, estimadas entre 15 a 40% de produção.

## BANANEIRA

O Brasil destaca-se como segundo maior produtor mundial de bananas, sendo cultivada em quase todos os Estados brasileiros. É considerada uma das fruteiras mais populares no Brasil, consumida em sua maioria *in natura* ou ainda industrializada. A bananeira cultivada comercialmente pertence ao gênero *Musa* sp. ordem Stilaminales, família Musacea. Essa cultura está sujeita a um grande número de doenças que afetam diversas partes da planta (raiz, rizoma, pseudocaule, folha, fruto) causadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides. Os fungos são os principais causadores de doenças da bananeira, tanto pelo número como pela importância. Dentre as doenças fúngicas e bacterianas, destacam-se mal do Panamá, Sigatoka amarela e negra e o moko ou murcha bacteriana.

### Mal do Panamá, murcha de fusário ou fusariose

No Brasil, a murcha de fusário foi descrita pela primeira vez em 1930, no município de Piracicaba-SP, sobre a cultivar Maçã. A doença é limitante ao cultivo dessa cultivar, afetando ainda a Prata, Prata-anã, Pacovan e Figo. As cultivares do grupo Cavendish mostram-se resistentes a murcha. Ocorre de forma endêmica em todas as regiões produtoras dessa fruteira, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, possuindo quatro raças fisiológicas, porém apenas as raças 1, 2 e 4 são importantes para a bananeira. A infecção ocorre sempre via sistema radicular, principalmente através das raízes secundárias, posteriormente atingem o xilema, onde ocorre bastante esporulação, sendo os conídios transportados pelo fluxo de seiva. Rizomas e pseudo caules de plantas doentes e ou mortas são importantes fontes de inóculo, responsáveis pela infestação do solo, onde o patógeno pode sobreviver na ausência do hospedeiro por longo período. Pode ser também disseminado pela água de irrigação, drenagem, de inundação, solo aderido a máquinas, implementos, ferramentas utilizadas nos tratamentos culturais e mudas infectadas. Externamente, observa-se nas folhas um amarelecimento progressivo das folhas mais velhas começando pelos bordos do limbo foliar em direção a nervura principal. Observa-se também rachaduras próximo ao solo, murcha e quebra das folhas junto ao pseudocaule e, em alguns casos, estreitamento de limbo das folhas mais novas. Internamente verifica-se descoloração do sistema vascular das raízes, rizoma, pseudocaule e nervura principal das folhas. A descoloração vascular no pseudocaule, concentra-se mais periféricamente, mantendo-se o centro claro. No rizoma, a descoloração é mais pronunciada na área de densa vascularização, onde o estelo junta-se ao córtex, podendo-se observar o caminhar dos sintomas do rizoma para as brotações a ele aderidas. Os sintomas de fusariose pode ser confundido com os sintomas do moko, uma característica que distingue os

dois sintomas é que na fusariose não há uma descoloração interna do fruto, e plantas jovens com menos de 4 meses e 1,5m de altura, não desenvolvem os sintomas. O controle deve ser feito de forma preventiva, baseado em medidas culturais como: plantio em áreas isentas da ocorrência do patógeno; uso de mudas sadias; correção do solo; manutenção da cultura bem nutrida; controle dos nematóides e da broca do rizoma e erradicação das plantas doentes. A melhor alternativa para conviver com a doença tem sido o uso de cultivares resistentes como Nanica, Nanicão e Grande Naine, por outro lado são susceptíveis a raça 4 do patógeno, que até o momento não foi constatada no país. Outras cultivares resistentes são Terra, Terrinha, D'angola e Prata Maçã. E com média susceptibilidade Prata Anã, Prata, Pacovan e Pioneira.

### **Sigatokas amarela e negra**

A Sigatoka amarela foi relatada no Brasil primeiramente no Estado do Amazonas, em 1944, e posteriormente em todos os Estados brasileiros. A nível nacional as perdas estão estimadas na faixa de 50% da produção, e eventualmente, perda total. É causada por *Mycosphaerella musicola* (*Pseudocercospora musae*), produzindo esporos de origem sexuada (ascósporo) e assexuada (conídio) e os pseudotécios encontram-se distribuídos em ambas as faces da folha, quando ocorre massiva infecção. Em lesões espalhadas sobre toda a folha, a maior concentração se verifica na face superior. A Sigatoka negra, constatada no Brasil em 1998, também no Estado do Amazonas e recentemente no Acre, é causada por *Mycosphaerella fijiensis* (fase sexuada) ou *Paracercospora fijiensis* (fase amórfica). A primeira descrição dessa espécie foi feita em 1963, nas Ilhas Fiji, distrito de Sigatoka, como agente casual da doença conhecida como raia negra. Em 1972, foi descrita em Honduras e denominada Sigatoka negra, causada por *M. fijiensis* var. *difformis*. A fase assexual (*P. fijiensis*) está presente durante a fase de estrias ou manchas jovens da doença, onde se observa a presença de conidióforos, emergindo de forma isolada ou em baixo número, a partir dos estômatos foliares. São visíveis, principalmente, na face inferior da folha. A fase sexuada do fungo é considerada mais importante no aumento da infecção, uma vez que um alto número de ascósporos são produzidos em estruturas denominadas pseudotécios. As duas espécies, *M. musicola* e *M. fijiensis*, podem ser diferenciadas somente durante a fase anamórfica do patógeno e podem, também, ser separadas por marcadores moleculares tipo RAPD, tanto pela utilização do DNA, extraído de culturas puras do patógeno, como pela utilização direta do tecido da folha infectada. Os sintomas de ambos os patógenos ocorrem nas folhas jovens da planta, incluindo geralmente as folhas de número zero (vela), 1, 2 e 3. O desenvolvimento das lesões das Sigatokas foi dividido em números de cinco a seis estádios, dependendo do autor. Estádios da Sigatoka amarela: estágio I

– é a fase de ponto ou risca de no máximo 1 mm de comprimento, com leve descoloração; estágio II – a risca já apresenta vários milímetros de comprimento e um processo de descoloração mais acentuado; estágio III – mancha nova – tem forma oval alongada e coloração levemente parda, de contornos mal definidos; estágio IV – caracteriza-se pela paralisação de crescimento do micélio, pelo aparecimento de um halo amarelo em volta da mancha e pelo início de esporulação do patógeno; estágio V – é a fase final da mancha, cuja forma oval alongada se expande, atingindo de 12 a 15 mm de comprimento por 2 a 5 mm de largura, o centro é totalmente deprimido, de tecido seco e coloração cinza. Sigatoka negra: estágio I – pequena descoloração ou despigmentação só observada na face inferior da folha. Inclui uma pequena estria de cor café dentro da área descolorida. Não é visível através da luz; estágio II – pequena estria de cor café visível nas faces superior e inferior da folha; estágio III – a estria aumenta em diâmetro e comprimento, mantendo-se de cor café; estágio IV – a estria muda da cor café para preto, sendo considerada como mancha; estágio V – a mancha negra está rodeada por um halo amarelo; estágio VI – a mancha muda novamente de cor, deprime-se e nas áreas mais claras (cinza-claro) são observados pontos negros (peritécios). É marcante a agressividade da Sigatoka negra, caracterizada por massiva infecção, visível, principalmente na face inferior da folha na fase de estrias jovens, ocorrendo o coalescimento das lesões, antes de atingirem o estágio final de mancha, caracterizando o efeito mais drástico da mesma, que é a morte prematura das folhas. A disseminação e o desenvolvimento de lesões de Sigatoka são influenciados por umidade relativa do ar, temperatura e ventos. O esporo uma vez depositado sobre as folhas de cultivares suscetíveis, germinará na presença de um filme de água. A duração desse processo depende da temperatura. O período de incubação tem se mostrado extremamente variável, dependendo do ambiente. Na Sigatoka negra há uma maior produção de esporos, conseqüentemente, uma maior taxa de progresso da doença, comparando com a amarela, razão pela qual, esta desaparece em cerca de três anos, após o surgimento da Sigatoka negra. A disseminação e liberação de esporos se dá através do vento e respingos de chuva. Outra importante via de disseminação da Sigatoka negra na Amazônia, tem sido as folhas doentes utilizadas para proteção dos frutos durante o transporte, assim como bananeiras levadas pelo rio durante o período de cheia. As Sigatokas são de difícil controle, recomendando-se manejo integrado através do controle genético, químico e cultural. Embora o controle genético seja a principal linha no controle da Sigatoka, até o momento só temos cultivares resistente à Sigatoka amarela do tipo vertical, que é facilmente quebrada devido a grande variabilidade *M. musicola*, como as cultivares ‘Pioneira’ e ‘Misore’. Para o controle de ambas as Sigatokas são recomendadas as cultivares ‘Misore’ e a ‘Figo’ e ainda os genótipos Caipira, PV03-44, FHIA-01 e FHIA-18 poderão ser recomendados

como alternativa para à Sigatoka negra. O controle químico ainda é considerado o principal método de controle da Sigatoka. Entre os principais fungicidas de contatos recomendados temos mancozeb e clorotalonil (este não deve ser utilizado com óleo mineral, pois a mistura é fitotóxica) e entre os sistêmicos, os grupos químicos principais são os benzimidazóis (benomyl, metiltiofanato e thiabendazol) e os triazóis, devendo ser usados sempre em mistura ou alternância com outros produtos com mecanismo de ação diferente. Já no controle cultural são destacadas a drenagem do solo; combate as plantas invasoras e eliminação de folhas doentes, bem como fatores como densidade populacional, nutrição adequada e sombreamento podem contribuir ou exercer o controle da doença.

### **Moko ou murcha bacteriana**

Essa doença foi constatada no México, América Central e do Sul, Andes, Filipinas, Sul da Índia e no Brasil em vários municípios produtores de banana da Amazônia, tanto em regiões de várzea como em terra firme, bem como no Estado de Sergipe, sendo o foco desse Estado controlado satisfatoriamente. Considerada uma doença grave da bananeira, pois acarreta perdas de até 100% da produção em plantios infestados, é causada pela bactéria *Ralstonia solanacearum* – raça 2. Cinco estirpes desta raça são patogênicas à bananeira. As mesmas têm sido separadas através de hospedeiros diferenciais, aspecto de colônias em meio tetrezólio, pelo habitat e pela maior ou menor capacidade de ter como vetores, os insetos visitantes de inflorescências. A bactéria pode ser disseminada de planta a planta, através de contatos inter-radiculares; ferramentas utilizadas nos tratos culturais e insetos vetores que visitam as inflorescências da bananeira. Apresenta uma ampla gama de hospedeiros alternativos que pode ser fator decisivo na manutenção do patógeno no campo. A murcha bacteriana é uma doença vascular sistêmica podendo atingir todas as partes da planta, desde o estágio de brotação jovem até plantas em produção. Os sintomas geralmente iniciam-se com amarelecimento e murcha das folhas mais baixas, podendo ocorrer quebra do pecíolo, mesmo antes do amarelecimento. Nas plantas jovens, pode ocorrer má formação das folhas, com necrose da folha vela. No rizoma e pseudocaule, observa-se uma descoloração (escurecimento nos feixes vasculares, onde, logo após o corte transversal, aparecem pequenas gotas de cor branco pérola (exsudados bacterianos). O engaço, frutos e ráquis também são afetados pelo patógeno, provocando uma descoloração pardo avermelhada dos vasos lenhosos. Seccionando os frutos infectados, observa-se escurecimento da polpa, com distribuição ao acaso no cacho. Os órgãos afetados exibem exsudação de pus bacteriano após o corte. *R. solanacearum* é uma bactéria extremamente variável no aspecto fisiológico e na patogenicidade. Os sintomas ocasionados podem diferir de acordo com

'strain' envolvido na interação, variando desde o enfezamento ou distorção até um murchamento rápido. O tipo de disseminação também ocasiona diferentes sintomas. 'Strains' disseminados por insetos causam diferentes sintomas daqueles provenientes do solo ou pelo corte de facões, pois as flores e frutos tornam-se doentes antes de ocorrer murcha das folhas. As medidas de controle são de caráter preventivo, baseando-se na exclusão por meio de fiscalização e certificação de mudas; inspeções periódicas nas áreas de plantio; e interdições, pela erradicação, onde as plantas doentes e vizinhas num raio de 10 metros são eliminadas. Além de cuidados nos tratamentos culturais e desinfestação das ferramentas. A cultivar FHIA-3, que tem características semelhantes a 'Pacovan', é relatada como resistente ao patógeno.

## **Antracnose**

A antracnose ocorre em todas as regiões produtoras de banana, podendo ser considerada uma das mais importantes doenças que afeta frutos da bananeira. É problema em pré e pós-colheita, pois parte da infecção ocorre em frutos verdes no campo, permanecendo latente até o início da maturação, e posteriormente manifestar-se durante o transporte e/ou maturação dos frutos, além das infecções não latentes que poderão se estabelecer nessa fase. É causada pelo fungo *Colletotrichum musae*. As lesões grandes são originadas de infecções não latentes, ocasionada pela entrada do patógeno através de injúrias físicas durante a colheita e armazenagem, enquanto as manchas circulares é resultante de infecções latentes iniciadas com o fruto imaturo não injuriado. Os esporos são liberados por respingos de chuva ou água de irrigação e dispersados por correntes de ar e insetos e são depositados sobre os frutos verdes ainda no campo, e em presença de filme de água, germinam e formam apressório dentro de 4 a 20 horas e após 24 a 72h penetram, permanecendo a infecção latente até o início da maturação. Supõe-se que os taninos presentes na casca verde do fruto, possam estar envolvidos na latência do patógeno. Os sintomas nos frutos verdes são geralmente lesões castanho escura a preto com a margem pálida, levemente encharcada e com dimensão de vários centímetros. No fruto maduro o sintoma típico são lesões circulares, escuras e deprimidas, que aumentam, coalescem e tornam-se encharcadas e em condições de alta umidade, aparece uma massa de esporos rosada sobre as lesões. O patógeno também infecta brácteas, flores, pecíolos e folhas. *C. musae* produz etileno que pode induzir o amadurecimento prematuro do fruto. As medidas de controle devem ter início no campo, com boas práticas culturais, fazendo-se eliminação de folhas velhas, brácteas e restos culturais, que são fontes de inóculo do patógeno; cobertura do cacho com saco de polietileno perfurado, preferencialmente antes da abertura das pencas; higienização dos tanques de despencamento, com troca periódica da água do tanque para evitar altas

concentrações de inóculo; evitar ferimentos nos frutos; tratamento químico dos frutos através de pulverizações ou imersão com tiabendazol, benomyl ou tiofanato metílico, em concentrações que pode variar de 200 a 400 ppm, dependendo da distância que separa a colheita do mercado consumidor.

## **Mosaico**

O mosaico em bananeira tem sido descrito em praticamente quase todos os locais onde se cultiva essa fruteira, usualmente considerado de pouca importância econômica, mas eventualmente pode causar perdas consideráveis. Sua ocorrência é maior nas cultivares do subgrupo Cavendish, embora ocorra também nas cultivares dos subgrupos Prata, Terra, Nanica, Nanicão, Maçã e outros. É causado pelo vírus do mosaico do pepino *Cucuber mosaic virus* – CMV, do gênero *Cucumovirus*, família *Bromoviridae*. É transmitido por pulgões principalmente *Aphis gossypii* de maneira não persistente e possui uma extensa gama de hospedeiros. Os sintomas variam com o isolado envolvido na infecção, pode aparecer em forma de placas (SP, MG, PR, PA) ou em riscas (CE, PE, RJ). Geralmente causa clorose, mosaico e espessamento intermitente da nervura, separação da bainha foliar externa do intermitente do pseudocaule, nanismo, má formação dos frutos e, algumas vezes, morte prematura da planta. Para controle da doença recomenda-se utilizar mudas saudáveis e erradicar as plantas com sintomas no campo.

## **Nematoses**

Diversas espécies de fitonematóides têm sido associada a bananeira, mas somente as espécies *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne* spp. são consideradas de importância econômica para a cultura. Dentre eles, *R. similis* se destaca pelos danos causados e pela ampla distribuição nas principais regiões produtoras do mundo. Esta espécie é conhecida como “nematóide cavernícola”, devido ao sintoma que causa no córtex das raízes e rizomas da bananeira. *R. similis* é um endoparasita migratório, vermiforme em ambos os estádios (larval e adulto), com marcante dimorfismo sexual. Entretanto, as larvas fêmeas é que são infectivas, o macho apresenta estilete degenerativo e é incapaz de penetrar nas raízes ou se alimentar. Os sintomas ocorre em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, mas é mais comum quando a planta está próximo a frutificação. *Radopholus similis* penetra através das raízes primárias e se alimentam exclusivamente de células do córtex, que posteriormente tornam-se necrosadas, por terem suas paredes danificadas e o seu conteúdo exaurido, agravado pelo movimento do nematóide no tecido, formando grandes áreas necróticas de coloração avermelhada em torno das



lesões. Invariavelmente, a infecção pode ocorrer no rizoma, escurecendo a superfície do mesmo e induzindo a formação de raízes adventícias. O controle deve ser feito através de medidas de exclusão; tratamentos das mudas; alqueive; inundação; rotação de culturas; uso de escoras e amarração das plantas; resistência varietal e tratamento químico do solo.

## COQUEIRO

*Cocos nucifera* é uma das 2600 espécies da família Palmae, originária do sudeste asiático. A planta exibe caule ereto, sem ramificações e com folhas terminais, sendo composta por duas variedades anã e gigante. A primeira é mais recomendada para exploração comercial de água de coco, com três espécies dentro da variedade, a amarela, verde e vermelha, onde no Brasil a verde é a única explorada até a presente data. O coqueiro é considerado uma das mais importante cultura perene, onde todas as suas partes como raiz, caule, folha, inflorescência e fruto são utilizadas com fins alimentícios, medicinais, industriais e artesanais. É uma rica fonte de óleo o qual não possui colesterol, porém é rico em aminoácidos saturados, também usado na produção de sabonetes, cosméticos, margarinas e como fonte alimentícia. Considerando a importância do coqueiro, este também é acometido por inúmeras doenças de grande expressão econômica, alguns são comuns no nosso país, enquanto outras como o cadang-cadang, freqüentemente encontrada nas Filipinas um dos maiores produtores de coco, totalizando mais de 50% da produção mundial, na qual esta doença destruiu mais de três milhões de árvores, assim como o amarelecimento letal causado por *Phytoplasma palmae*, não tem relatos no Brasil.

### Anel vermelho

A doença foi descrita pela primeira vez por Stockdale em Trinidad no ano de 1906, sendo encontrada em outros lugares como Caribe, Colômbia, Suriname, Guiana, Equador, Venezuela, Brasil e América Central, podendo causar perdas consideráveis. O sintoma característico desta doença causada pelo nematóide *Bursaphelenchus cocophilus* é a formação de um anel vermelho alaranjado ou marrom avermelhado quando corta-se a estipe do coqueiro, com 2-4cm de largura x 3-5cm afastado da periferia. A posição, tamanho e cor do anel pode variar dependendo da variedade, idade e condições ambientais. Externamente, observa-se as folhas mais velhas amareladas, em seguida, secam e necrosam quebrando-se na base da ráquis, ficando penduradas presas ao estipe. Com o desenvolvimento da doença ocorre apodrecimento do meristema apical, seguindo a seca da folha mais jovem. Geralmente quando as plantas são infectadas entre 3-10 anos de

idade, estas podem morrer após 2-4 meses. As plantas mortas apresentam-se com o topo desnudo e o estipe ereto por muito tempo. Este nematóide pode completar seu ciclo de vida de 9-10 dias, sendo considerado um ciclo curto para um fitonematóide. O *Rhynchophorus palmarum* parece ser o maior disseminador deste nematóide, onde ovos, larva e formas imaturas de *B. cocophilus* podem servir como inóculo. Quando este inseto deposita seus ovos, o nematóide é também injetado dentro dos tecidos da planta hospedeira. Ocasionalmente, pode ser disseminado por implementos agrícolas, solo, mudas contaminadas, água de irrigação e homem. Após penetração, o nematóide migra para o sistema vascular onde irá se multiplicar rapidamente, sendo encontrado nos espaços inter e intracelular dos vasos. Estes podem sobreviver por sete dias aproximadamente em solo esterilizado e até 80 dias em tecidos de tronco do coqueiro. É de difícil controle, recomenda-se como medidas de controle a eliminação de plantas doentes, uso de mudas saudáveis, desinfestação dos equipamentos utilizados na despalma e colheita com formol comercial a 10%, eliminação do inseto vetor quando este estiver em alta densidade populacional com aplicação de inseticidas a base de carbaryl ou metomyl, evitar ferimentos durante a colheita e despalma, evitar o corte desnecessário de folhas que ainda não estejam completamente secas. Um programa de controle integrado envolvendo o cultural, biológico, químico e variedades resistentes poderá ser designado para cada localidade e assim prevenir a introdução do nematóide em outras áreas onde ainda não ocorra a doença.

### **Podridão do olho ou do topo**

A doença foi descrita no ano de 1834 nas Antilhas, sendo mais severa em áreas com alta precipitação, ocorrendo em todas as regiões produtoras de coco. Causada por um fungo, *Phytophthora palmivora*, este requer para o seu pleno desenvolvimento umidade relativa elevada, temperatura entre 25-28°C, áreas mal drenadas, alta pluviosidade podendo servir como fonte de inóculo oosporos presentes em tecidos infectados e outras hospedeiras como cacauzeiro, mamoeiro, entre outros, sendo disseminados pelos zoosporos através de respingos de chuvas seguido de ventos fortes. Quando o coqueiro encontra-se infectado observa-se clorose nas folhas mais novas (folha flecha), seguido de murcha e amarelecimento e o topo da planta fica curvo. As lesões estendem-se para o interior da estipe, e, em consequência, os tecidos do palmito apodrecem. Neste ponto as folhas novas são facilmente destacadas e os frutos caem com bastante facilidade. Drenagem adequada, maior espaçamento entre plantas, controle das ervas daninhas e insetos, eliminação de restos culturais, assim como injeções de metalaxil, fosetil Al e fosfonato de potássio são medidas de controle que visam minimizar os prejuízos ocasionados por esta doença sobre o coqueiro.

## **Queima das folhas**

A doença é causada pelo fungo *Botryosphaeria cocogena* (*Lasiodiplodia theobromae* (= *Botryodiplodia theobromae*) que penetra na planta por ferimentos ocasionados pelo patógeno da lixa ou por rachaduras presentes nas folhas, sendo muito importante no Nordeste brasileiro, pois reduz a área foliar em até 50% e reflete diretamente na produção de coco. O *L. theobromae* é favorecido por baixa umidade relativa do ar, temperaturas e precipitações elevadas, sendo disseminado pelo vento e sobrevivendo nas folhas infectadas ou no solo. Ocorre de forma epidêmica nos Estados de Alagoas, Pernambuco, Bahia, Sergipe, Paraíba, Rio Grande do Norte e Pará. Os sintomas iniciam geralmente pelas folhas mais inferiores formando lesões necróticas na extremidade das mesmas em forma de V, começando pela ponta ou margem dos folíolos. Com o progresso da doença esta se desenvolve no sentido da base da ráquis, causando morte prematura das folhas e provoca queda dos cachos antes da maturação, podendo observar exsudação de goma. Em estádios mais avançado da doença, muitas folhas secas podem encontrar-se dobradas e presas ao estipe. Recomenda-se a utilização de medidas de controle como a eliminação das folhas doentes; aplicação em pulverizações de mistura dos fungicidas carbendazim + benomyl, aliado aos tratos culturais como roça, coroamento e uso de uma adubação equilibrada.

## **Murcha de *Phytomonas***

A doença foi relatada pela primeira vez no Brasil em 1982, sendo encontrada no Estado do Pará, Pernambuco, Paraíba, Alagoas e Espírito Santo. O agente causal desta doença é um protozoário triponossomatídeo, *Phytomonas* sp. que fica restrito ao floema da planta hospedeira, facilmente visualizado sob microscópio ótico colocando-se uma gota de seiva de planta infectada. O sintoma inicial da doença consiste de murcha iniciando nas folhas mais baixas. Após a murcha, estas adquirem uma coloração marrom, dobrando-se junto ao estipe, que permanecem penduradas por algum tempo. Algumas vezes antes das folhas dobrarem, ocorre a quebra da raque sem afetar as folhas mais jovens. Com o desenvolvimento da doença as folhas jovens ou terminais são afetadas e, em seguida, observa-se uma podridão fétida que causa a destruição do meristema apical atingindo o palmito e partes jovens do estipe. Nas inflorescências ocorre uma necrose que inicia-se nas extremidades das ráquis foliares e os botões florais ficam necróticos. Manchas necróticas surgem nas inflorescências ainda não abertas. Cachos apodrecem e os frutos caem facilmente. As raízes de plantas doentes apresentam-se parcialmente necrosadas. Este protozoário é transmitido e

disseminado por percevejos da família Pentatomidae, sendo a espécie *Licis lobulliger* o principal vetor a nível de Brasil. Sobrevive, este inseto, em ervas daninhas, dendezeiro, piaçava, palmeira real, inajá e a palmeira rabo-de-peixe-anã, sendo mais severa a doença em áreas onde predomina uma alta população do inseto vetor, umidade relativa elevada. O controle dessa doença deve ser feita com a eliminação de coqueiros doentes; manter o coqueiral limpo retirando-se folhas velhas e bainhas mortas que abrigam o inseto vetor. Recomenda-se também a utilização de inseticida como o deltametrina na dose de 2g/L para eliminação do inseto vetor.

### **Lixas pequena e grande**

A lixa do coqueiro era conhecida pelo nome de verrugose das folhas. A lixa pequena foi relatada em 1940 no Estado de Pernambuco, atualmente encontra-se disseminada em quase todas as regiões onde se cultiva o coqueiro. Todas as variedades e híbridos são suscetíveis, causando prejuízos que podem passar despercebidos ou serem bastante prejudiciais a produção, principalmente quando associadas a queima das folhas. A lixa pequena é causada pelo fungo *Phyllachora torrendiella* (= *Catacauma torrendiella*) e *Sphaerodothis acrocomiae* (= *Coccostroma palmicola*) é o fungo responsável pela lixa grande. São favorecidos por alta pluviosidade, temperaturas amenas e elevada umidade relativa do ar, disseminado pelo vento, principalmente, e sobrevivendo sobre folhas infectadas. A lixa pequena caracteriza-se por pequenos pontos negros (estromas), coriáceos, ásperos conhecidos por verrugas. Ocorre sobre folíolos, ráquis e frutos, podendo ser encontrado isoladamente, em linhas ou em forma de losango. Estes pontos sobre os folíolos podem ocorrer em ambas as faces da folha, seguido por um halo amarelado e, em seguida, necrótico. Com o progresso da doença ocorre a necrose das folhas mais baixas, onde estas amarelecem, secam e pendem, fazendo com que o cacho fique sem suporte, refletindo diretamente na produção final. A diferença no sintoma entre a lixa pequena e a grande esta no fato de que a lixa grande possui estromas maiores, marrons, não causam necrose nos tecidos infectados (folíolos e ráquis foliares), soltando-se com facilidade do tecido infectado. Recomenda-se como medidas de controle principalmente para a lixa pequena, corte e queima de folhas infectadas, junto com tratamentos culturais da cultura como roça, coroamento e utilização de uma adubação equilibrada. O controle químico para estas doenças não apresentou resultados satisfatórios, porém recomenda-se como preventivo o uso da mistura de benomyl + PCNB ou benomyl + carbendazim. Também é utilizado no controle das lixas os fungos hiperparasitas, *Acreconium alternatum*, *A. strictum*, *Septofusidium elegantulum*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. spongiosum* entre outros, sendo os dois primeiros mais usados como biocontroladores.

## MAMOEIRO

*Carica papaya* é considerada uma das mais importantes fruteiras tropicais. Seu provável centro de origem é a América Central, sendo subsequentemente transportado para todas as regiões tropicais do mundo. No Brasil é cultivado, praticamente, em todo território nacional, excetuando-se as regiões com inverno rigorosos. As regiões Sudeste e Nordeste somam em média 87,5% da produção nacional, destacando-se os Estados do Espírito Santo e Bahia como os principais produtores. Atualmente, o Brasil destaca-se como o maior produtor mundial de mamão, com uma produção anual de 1.700.000t, seguido da Nigéria 748.00t, México 636.119t, Índia 450.000t, Indonésia 379.823t e Peru 165.000t. As cultivares mais exploradas comercialmente são dos grupos Solo e Formosa. O grupo Solo, são materiais geneticamente uniforme amplamente utilizadas no mundo e no Brasil destacando-se as cultivares ‘Sunrise Solo’ e ‘Improved Sunrise Solo cv. 72/12’. As cultivares do grupo Formosa não têm a mesma importância econômica daquelas do grupo Solo, já que o mercado consumidor prefere frutos pequenos com peso médio de 500g de polpa consistente e boa coloração, características essas oferecidas pelas cultivares do grupo Solo. O mamoeiro está sujeito a diversas doenças, ocasionadas por fungos, bactérias, micoplasmas, vírus e nematóides. Entre as quais as viroses constituem o maior entrave para a exploração desta cultura.

## **Mancha anelar**

A mancha anelar é também conhecida como mosaico do mamoeiro, apareceu pela primeira vez no Havaí em 1937, e no Brasil como fator econômico limitante para a cultura em 1968 no Estado de São Paulo, e atualmente esta disseminada por todas as áreas produtoras do país. Esta doença é causada pelo *Papaya ringspot virus* – PRSV, da família *Potyviridae*, gênero *Potyvirus*. O quadro sintomatológico da mancha anelar do mamoeiro varia com a idade da planta por ocasião da infecção, vigor, temperatura e estirpe do vírus. Os sintomas são inicialmente, amarelecimento das folhas mais novas no terço superior da copa, seguido de clareamento das nervuras, rugosidade e intenso mosqueado. Distorções foliares podem ser observadas, e em estágio avançado a lamina foliar desaparece, ficando a folha reduzida à nervura central, sintoma conhecido como fio de sapato. Nos pecíolos e na parte superior do caule aparecem manchas oleosas e alongadas e sobre os frutos anéis oleosos, que constituem o principal sintoma da doença. A planta apresenta também nanismo e a produção é afetada sensivelmente, ocorrendo alterações no sabor e aroma dos frutos. Inclusões citoplasmáticas cilíndricas (catavento) e amorfas na célula hospedeira são visíveis ao microscópio ótico. A sobrevivência do vírus se dá em plantas hospedeiras das famílias *Caricaceae* e *Cucurbitaceae*, sendo transmitido de forma não persistente por afídeos. São condições favoráveis a ocorrência de epidemia altas densidades populacionais desses vetores, além da presença de mamoeiros e hospedeiros alternativos infectados. Como medidas de controle deve-se fazer a implantação do pomar com mudas sadias e distante de plantações onde ocorra a doença, também evitar o crescimento de cucurbitáceas nas proximidades de pomar. Fazer eliminação de plantas infectadas, rotação de cultura e formação de barreiras com plantas, como pinheiro, milho, arroz, cana-de-açúcar, entre outras.

## **Meleira (“Sticky disease”)**

A doença foi relatada primeiramente no Estado da Bahia e, em seguida no Espírito Santo e a partir de 1989 disseminou-se rapidamente atingindo 100% em algumas plantações. O agente causal da doença é de origem viral, tratando-se de partículas isométricas de 50nm de diâmetro semelhantes a vírus, distribuídos em massas amorfas ou formando agregados e presença de dsRNA. A forma de disseminação do agente etiológico dessa doença ainda não é conhecida. Os sintomas se caracterizam por apresentar intensa exsudação de látex nos frutos. Esse látex apresenta uma menor viscosidade, não coagula, escorrendo facilmente. Com o tempo à oxidação do látex, dá um aspecto “borrado” e “melado”. Esses sintomas também são observados

nos pecíolos e margens das folhas novas, antes da frutificação, que se tornam necróticos após a exsudação do látex. Os frutos afetados apresentam manchas claras na casca, e na parte interna, manchas escuras, alterando sabor e consistência, depreciando o valor comercial.

### **Amarelo letal**

Essa doença até o momento, somente foi constatada no Nordeste brasileiro, ocorrendo pela primeira vez no Estado de Pernambuco em 1983, e posteriormente nos Estados da Bahia, Rio Grande do Norte, Ceará e Paraíba. A procedência desse vírus é desconhecida, podendo ter-se originado de plantas nativas da região de ocorrência do mesmo ou ser resultante de uma possível mutação de outros vírus. O agente causal dessa doença é o vírus *Papaya lethal yellowing virus* - PLYV de partículas isométricas de 25-30nm de diâmetro, que ocorre em alta concentração nos tecidos de plantas afetadas. Plantas infectadas com este vírus apresentam as folhas ligeiramente retorcidas e com aspecto clorótico, geralmente iniciando nas folhas do terço superior da copa. Posteriormente, as folhas amarelecem, murcham e morrem, levando a planta à morte. Nos frutos surgem manchas circulares inicialmente esverdeadas e depois, com o amadurecimento, tornam-se amareladas na casca. O vírus do amarelo letal é disseminado mecanicamente, quer pelo método de transmissão mecânica, quer por pedaços do pecíolo ou nervuras de plantas doentes e ferramentas utilizadas no corte de plantas infectadas. Não se conhece outras espécies hospedeiras até o momento. As medidas de controle devem ter caráter preventivo, como produção de mudas em áreas isoladas e distantes de plantações antigas de mamoeiro; fazer “rouging” das plantas com sintomas típicos da doença; e eliminação de pomares velhos e improdutivos.

### **Antracnose**

É considerada a principal doença dos frutos do mamoeiro no Havaí, Brasil e muitos outros países. Sua importância para a economia é expressiva, pois os frutos atacados pela antracnose tornam-se imprestáveis para a comercialização, ocasionando perdas substanciais na pós-colheita. A doença é causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, e o estágio sexual é conhecido como *Glomerella cingulata*. O fungo sobrevive de um ano para outro em restos de cultura, principalmente nas folhas e pode penetrar através da cutícula intacta, ocasionando infecção latente nos frutos imaturos. Os ferimentos nos frutos provocados por insetos ou por via mecânica, favorecem a penetração do fungo. Condições ambientais que favorecem o patógeno são temperatura e umidade relativa altas. A disseminação se dá através de vento e principalmente pelos respingos de chuva, ocorrendo a

liberação dos esporos na presença de muita umidade. A disseminação da doença após a colheita de fruto para fruto não é significativa, sendo a severidade da doença menor em períodos secos e temperaturas baixas. Sintomas nas folhas aparecem como pequenas manchas encharcadas de forma irregular que aumenta e torna-se castanha, podendo coalescer. Em lesões velhas o centro torna-se branco acinzentado e caem. No centro das lesões pode ser observados numerosos acérvulos, que aparecem como pequenos pontos pretos. Nos frutos os sintomas podem apresentar dois tipos de lesões. O primeiro tipo é o sintoma de antracnose em mamão que surge na casca do fruto, inicialmente como manchas encharcadas, as quais aumentam de tamanho formando manchas circulares, deprimidas, com margem marron-clara, produzindo na parte central, massas de esporos de cor rósea ou laranja. Quando em grande quantidade as manchas podem coalescer, espalhar-se pela superfície do fruto e penetrarem, ocasionando podridão mole. O segundo tipo de lesão é conhecido como mancha chocolate, que aparece como lesões circulares a irregulares, com 1-10mm em diâmetro, levemente deprimida de coloração castanho avermelhado. Nos frutos maduros as lesões aumentam rapidamente chegando até a 20mm de diâmetro. O controle da antracnose deve ser feito de forma preventiva com pulverizações quinzenais, utilizando produtos a base de cobre, benzimidazol mais chlorotalonil ou mancozeb. Frutos e folhas infectados, onde há uma fonte de inóculo muito grande, devem ser retirados das plantas e destruídos. A colheita deve ser feita com os frutos ainda verdoengos e devem ser aplicadas medidas de sanitização nos locais de armazenamento e transporte dos frutos, além de tratamentos pós-colheita pela imersão dos frutos com água quente ou fungicidas (thiabendazole ou benomyl). O controle torna-se mais eficiente quando suspensões fungicidas são associados ao tratamento térmico (imersão dos frutos em suspensão fungicida, aquecida a 48°C sob agitação contínua, durante 20 minutos).

## **Varíola**

A varíola também é conhecida como pinta preta ou bexiga, ocorre comumente em regiões produtoras de mamão, principalmente em culturas mal conduzidas. A importância dessa doença se baseia na frequência de ocorrência e danos que pode causar. Tem como agente etiológico o *Mycosphaerella caricae* (*Asperisporium caricae*). O mamoeiro é o único hospedeiro desse fungo e os esporos são disseminados pelo vento, respingos de chuva e orvalho. Os sintomas se iniciam nas folhas inferiores da planta, mas algumas vezes pode começar nas folhas novas e frutos. O desenvolvimento da planta, principalmente as mais novas, pode ser afetado quando a incidência da doença for muito elevada. Nas folhas ocorrem manchas pardo-clara (marrom) de forma arredondada, de no máximo 4mm



de diâmetro, circundada por um halo clorótico. Na parte inferior das folhas, o fungo desenvolve frutificações pulverulentas, circulares e levemente angulosas com aspecto cinza a preto. Nos frutos, primeiramente surgem áreas circulares encharcadas, que evoluem para pústulas marrons e salientes, podendo atingir até 5mm de diâmetro. Essas lesões causam endurecimento na casca, não atingindo a polpa do fruto. Entretanto o mau aspecto do fruto ocasiona grande desvalorização na comercialização. Medidas de controle devem ser tomadas logo que apareçam os primeiros sintomas nas folhas velhas, com aplicações de fungicidas que são utilizados no controle da antracnose.

### **Gomose ou podridão das raízes e dos frutos**

A gomose do mamoeiro foi relatada primeiramente nas Filipinas, em 1916 e no Brasil em 1946 em mamoeiros nos Estados da Bahia e Pernambuco, ocorrendo posteriormente em quase todas as áreas produtoras de mamão no território nacional. É considerada uma das principais doenças da cultura, com danos econômicos variando de uma região para outra. *Phytophthora palmivora* é o agente causal da podridão das raízes e dos frutos. A doença é mais severa em períodos chuvosos e com temperaturas variando entre 25 e 30°C e solos mal drenados. O patógeno pode ser introduzido a partir de mudas infectadas, água de irrigação e esporângios disseminados pelo vento. Clamidosporos formados em frutos caídos no chão constituem em importante estrutura de resistência, agindo como fonte de inóculo para infecção de raízes, enquanto os esporângios e zoósporos somente sobrevivem no solo por curtos períodos. Zoósporos são atraídos pelos exsudados das raízes, que após contato com as mesmas encistam, germinam, infectando-as. Nos frutos a doença tem início quando esporângios disseminados pelo vento em dias chuvosos chegam à superfície dos frutos. Os frutos atacados caem e as estruturas do fungo passam para o solo, contribuindo para a infecção das raízes. As medidas de controle devem ser tomadas desde a formação das mudas, utilizando solo tratado por calor ou com produtos químicos ou mesmo obter o solo de áreas nunca antes cultivado com mamoeiro ou outros hospedeiros de *P. palmivora*. O viveiro deve localizar-se longe de plantios antigos de mamoeiro e ter boa insolação e ventilação, além de ser irrigado com água isenta de contaminações, evitando-se excesso de umidade. Para controle no campo dessa doença deve-se evitar o plantio em solo mal drenado, especialmente em regiões de alto índice pluviométrico; evitar área cultivada sucessivamente com mamoeiros; erradicar plantas doentes e destruí-las pelo fogo; aplicar preventivamente fungicidas à base de cobre ou metalaxil + mancozeb para proteção do caule e frutos.

## Oídio

O oídio foi primeiramente relatado no Brasil, e posteriormente na Austrália, Havai, Bermuda, e Sul dos Estados Unidos, bem como na América Central. Esta doença raramente provoca grandes perdas em plantas adultas, ocasiona cicatrizes e mal formação nos frutos. Enquanto em plântulas os danos podem ser mais drásticos. Geralmente a planta supera a doença, entretanto quando o ataque é intenso pode causar prejuízos nas folhas e frutos, ocorre enfraquecimento da planta devido à retirada de nutrientes das células da superfície das folhas. Conseqüentemente, as folhas caem, deixando os frutos descobertos e sujeitos a queimaduras provocadas pelos raios solares. O agente etiológico dessa doença é *Oidium caricae*. Este patógeno ocorre principalmente em épocas de temperaturas moderadas e pouca chuva. Para a germinação de conídios é necessário um breve período de alta umidade relativa, mas não água livre. O mamoeiro é o único hospedeiro conhecido de *O. caricae*. Os sintomas aparecem primeiro nas folhas como lesões apresentando uma leve descoloração verde-amarelada, de contornos irregulares. Posteriormente, nestas áreas descoloridas surge uma massa pulverulenta esbranquiçada, podendo aumentar rapidamente de tamanho, até 7cm de diâmetro. As folhas podem tornar-se amareladas, com aparência de secamento generalizado, resultando em queda das mesmas. Frutos imaturos são susceptíveis a infecção, embora as lesões aumentem mais vagarosamente do que nas folhas. O micélio externo desaparece nos frutos maduros, ficando uma cicatriz e este também pode ficar mal formado. Folhas de todas as idades são suscetíveis. Medidas de controle geralmente não são adotadas, embora fungicidas à base de enxofre são recomendados. Pulverizações visando o controle das podridões dos frutos controlam esta doença. As pulverizações com enxofre não devem ser feitas com temperaturas acima de 20°C para não queimar os frutos, pois este produto é fitotóxico em temperaturas altas e não é muito eficiente quando a doença apresenta-se muito severa.

## Podridões pedunculares

As podridões pedunculares podem ser consideradas um complexo de doenças, que incluem vários fungos como *Colletotrichum* sp, *Phoma* sp., *Lasiodiplodia* sp. *Phomopsis* sp., *Fusarium* sp, e *Alternaria* sp, entre outros. Os sintomas, quando causado por *Phomopsis caricae-papayae*, são observados comumente no pedúnculo, ocorrendo também em qualquer parte da superfície do fruto, caracterizado por podridão mole e úmida. Esse patógeno só penetra através de ferimentos. A doença usualmente ocorre com o fruto maduro, é raro ocorrer com o fruto verde ou no campo. A podridão causada por *L. theobromae*, causa sintomas nos frutos e pedúnculo do mamão após a colheita. Entretanto frutos em desenvolvimento também são infectados, através de ferimentos. A casca ao redor do pedúnculo torna-se descolorida formando uma ampla margem encharcada, translúcida e rugosa, seguida de crescimento micelial, cinzento a preto, que torna-se impregnado de picnídios. *Fusarium* sp. normalmente encontra-se associado a outros patógenos causadores de podridão peduncular em mamão, sendo *F. solani* a espécie mais freqüente, considerado um patógeno fraco, requerendo algum fator de pré disposição, antes de estabelecer-se. É freqüentemente visto como invasor secundário em lesões ocasionadas por outros patógenos como *C. gloeosporioides*, o qual apresenta lesões pequenas (até 15mm de diâmetro) e deprimidas. Elas são comumente cobertas por micélio branco e massa rosada de conídios, podendo ocorrer nos frutos e pedúnculo. As medidas de controle empregadas para as podridões pedunculares incluem redução de inóculo; prevenção e erradicação de infecções no campo; evitar ferimentos e supressão do desenvolvimento e disseminação da doença, podendo estas serem realizadas através de pulverizações com fungicidas no campo; tratamento pós-colheita e imersão dos frutos em água quente e/ou fungicidas além de armazenamento em condições que retardem ou diminuam o apodrecimento de frutos sem afetar a qualidades dos mesmos.

## Podridão negra

Esta doença é importante no Havaí, Brasil, Índia, Austrália e África. No Brasil e Índia as lesões nos frutos são mais comuns e no Havaí é mais comum causando podridão peduncular pós-colheita, sendo considerada a segunda doença mais importante pós-colheita. O agente etiológico é *Phoma carica-papaya* e tem como forma perfeita *Mycosphaerella caricae*. O patógeno coloniza folhas senescentes e pecíolos, produzindo abundantes estruturas de frutificação em plantas mortas, servindo como fonte de inóculo primário no campo. Conídios e ascósporos são depositados na superfície do fruto durante as chuvas e permanecem até ocorrer ferimento, que são

produzidos durante a colheita e manuseio pós-colheita. Os sintomas surgem em forma de podridão escura, seca e firme, estendendo-se desde o pedúnculo ao fruto. Alternativamente pequenas manchas encharcadas podem aparecer em qualquer parte do fruto, tornando-se mais tarde escura, deprimida e irregular. As medidas de controle empregadas são as mesmas adotadas para as podridões pedunculares.

### **Mancha foliar bacteriana**

Esta doença foi primeiramente relatada no Brasil em 1955, e posteriormente na Austrália e Havai. Tem como agente etiológico a bactéria *Pseudomonas carica papayae*. Caracterizada por ser gram negativa, com três a seis fragelos polares, mas não produz esporos nem cápsulas. Colônias em ágar são circulares, rala, branca acinzentada e fluorescente em solução “Clara’s”. Temperatura ótima para crescimento *in vitro* é 23-29°C. O patógeno se dispersa durante tempo úmido com muito vento, sendo favorecida por condições úmida quente. Os primeiros sintomas surgem nas folhas em forma de pequenas manchas, angulares, com aspecto encharcado. Posteriormente, assumem uma coloração marrom claro, translúcida com tamanho de 3 a 6mm de diâmetro. As manchas podem coalescer e formarem grandes áreas necróticas irregulares. Medidas de controle específicas não são estabelecidas.

## **MANGUEIRA**

O Brasil é um dos poucos países tropicais que produz manga na chamada entre safra mundial que se estende de outubro a março. Os Estados produtores desta fruta participam deste contexto, destacando-se as áreas irrigadas da região do Semi-Árido, com aproximadamente dez mil hectares de manga sendo uma das principais responsáveis por este destaque, apresentando duas colheitas anuais, além do marketing de qualidade de seus frutos. A intensificação no cultivo de manga e aquisição de mudas de São Paulo vêm aumentando o potencial de inóculo de patógenos no Vale do São Francisco, que, somadas às condições climáticas e condução fitotécnica realizadas nos pomares com produção induzida, vêm tornando as doenças uma constante ameaça às áreas de cultivo, pelos danos e conseqüentes prejuízos que ocasionam. Visando assegurar as conquistas até então obtidas, e contribuir para uma mangicultura mais racional e estável, estes relatos enfocam, de forma sintetizada, algumas das doenças de importância econômica na cultura da manga do Vale do São Francisco.

## Morte descendente ou podridão seca

Esta doença, também conhecida por seca de ponteiros, podridão basal do fruto, podridão do pedúnculo e câncer do tronco e ramos, é causada pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* (= *Botryodiplodia theobromae*) cuja fase perfeita é o *Physalospora rhodina*. Esse fungo sobrevive na atmosfera, nos tecidos vegetais vivos ou mortos. É disseminado pelo vento, insetos e instrumentos de poda e penetra na planta através de aberturas naturais e, principalmente, ferimentos. Temperaturas altas e umidade relativa amena favorecem o seu desenvolvimento. Torna-se mais agressivo quando a planta encontra-se predisposta, principalmente onde se verifica estresse hídrico, falta ou excesso de água, deficiência de cálcio, falta de poda de limpeza, não proteção após a poda, nos ferimentos naturais das bifurcações e quando da permanência no solo de tecidos vegetais da planta. A doença ocorre em vários países produtores de manga no mundo, como Índia, Paquistão, Austrália, Egito, África do Sul, El Salvador, Porto Rico, Barbados e México causando grandes prejuízos. No Brasil, alta incidência foi evidenciada, principalmente, em Petrolina-PE, em 1990. Atualmente, a doença ocorre em todas as áreas irrigadas da região Nordeste e em outras culturas de importância socioeconômica, como: videira, abacateiro, goiabeira, citrus, coqueiro, tamareira e bananeira. Ocorrência em mangueira tem sido verificada também nos Estados do Piauí, Rio Grande do Norte, Minas Gerais, São Paulo, Goiás e no Distrito Federal. A sintomatologia da morte descendente em planta adulta é caracterizada pela presença de podridões secas, que iniciam nos ponteiros da copa, principalmente na panícula da frutificação anterior, progredindo para os ramos, atingindo as gemas vegetativas, que reagem com a produção de exsudados gomosos de coloração clara a escura. Em seguida, observa-se morte de ramos com folhas de coloração palha e com pecíolo necrosado. A penetração nas folhas também pode ocorrer através dos bordos, causando necrose de cor palha com halo escuro. Nos ramos podados e sem proteção, a podridão inicia-se pelo ferimento, avançando de forma progressiva e contínua, podendo, também, se observar necrose e abortamento de flores e frutos. Nesses casos, o fungo penetra através do pedúnculo, causando desidratação, tornando-o ressequido e quebradiço, provocando, portanto, queda prematura dos frutos ou apodrecimento escuro sobre a polpa, apresentando, inicialmente, uma fenda variando de marrom escuro a preto. Nos ramos mais grossos e no tronco, a infecção acontece de fora para dentro do lenho, iniciando nas rachaduras naturais do tronco e das bifurcações e sob o córtex, onde são observadas lesões escuras, que progridem para o interior do lenho, causando anelamento do órgão afetado, sobrevivendo a morte da planta. Essa forma de infecção exige bastante atenção, uma vez que, quando os sintomas são exteriorizados, a infecção sob o córtex já está bastante avançada, e no tronco, pode ser fatal para a planta. O sintoma em muda é evidenciado de várias formas,

dependendo da condução recebida no viveiro. Este fungo não é sistêmico, portanto sua infecção é localizada e progressiva, destruindo célula por célula, até penetrar no interior do lenho. Segundo levantamentos da predisponibilidade da planta ao fungo na região e estudos de proteção e controle realizados, verificou-se que os cuidados com a sanidade do pomar em relação a esse fungo necessitam ser preventivos e em conjunto utilizando-se controle cultural como podas de limpeza; desinfestar as ferramentas de poda; eliminar todas as plantas mortas ou que apresentam a doença em estágio avançado; irrigar adequadamente o pomar; evitar submeter a planta a estresse hídrico ou nutricional prolongado; químico pela pulverizações com thiabendazole (240mL/100L) ou benomyl (100g/100L) nos períodos críticos da cultura; tronco e bifurcações da planta devem ser pincelados com thiabendazole ou benomyl + um espalhante adesivo a partir de dois anos de idade da planta ou antes do aparecimento de rachaduras.

## Oídio

Doença também conhecida como oídio pulverulento, míldio pulverulento ou cinza, é causada pelo fungo *Erysiphe polygoni* (*Oidium mangiferae*), que sobrevive na atmosfera e nos tecidos vivos da planta. Sua disseminação se dá pelo vento e insetos, principalmente pelos polinizadores, como a mosca doméstica, parasitando as células epidérmicas de onde retira as substâncias nutritivas de que necessita para se desenvolver. É favorecido por ambientes secos e temperaturas amenas com o ótimo entre 20 e 25°C. Torna-se mais agressivo quando se verifica perda de água nos tecidos da planta, causada por forte calor e grande queda de umidade. Os esporos do fungo podem germinar tanto em condições de alta umidade como na ausência de água livre. Os maiores índices de germinação ocorrem nos níveis de umidade relativa de 20-65%. As chuvas não são necessárias para o desenvolvimento do oídio, pelo contrário, as precipitações fortes são desfavoráveis à doença, uma vez que as estruturas do fungo encontram-se praticamente expostas no tecido vegetal. A doença ocorre em vários países produtores de manga, como: Índia, Austrália, África do Sul, Israel e México. No Brasil, a doença encontra-se amplamente difundida nos pomares das regiões produtoras do Centro-Sul e Nordeste. Nesta última região, nas áreas semi-áridas irrigadas, a doença pode ocorrer durante todo o ano, devido às condições climáticas favoráveis e estáveis o ano inteiro. A planta infectada é caracterizada pela presença das estruturas do fungo (micélio, conidióforo e conídio) sobre a superfície vegetal, visível a olho nu, na forma de intenso crescimento pulverulento de cor branca que, em seguida, deixa a área afetada com aspecto ferruginoso. Os sintomas são observados nas folhas, inflorescências e frutos novos. Nas folhas, podem causar manchas, deformações, escurecimento e queda. Nas inflorescências, causam abortamento de flores

prejudicando a frutificação. Em frutos, sua presença é marcante sobre os pedúnculos, os quais ficam mais finos e quebradiços, favorecendo à queda dos mesmos, sobretudo quando sob ação de ventos fortes. No seu controle, resultados positivos vêm sendo obtidos nos tratamentos com enxofre, na concentração de 0,2%, intercalados com produtos sistêmicos como tebucunazole a 0,05% e triadimenol a 0,1%, com intervalos de quinze dias. Deve-se efetuar quatro pulverizações, sendo duas antes da abertura das flores e duas na formação dos frutos, evitando-se a aplicação nas horas mais quentes do dia, pois pela manhã, período mais fresco, há uma melhor retenção na planta, dos produtos aplicados.

### **Malformação (embonecamento) floral e vegetativo**

Esta doença, também conhecida por anomalia, deformação ou vassoura de bruxa é causada por *Fusarium subglutinans* onde sua ocorrência foi registrada pela primeira vez no ano de 1891, na Índia. Inicialmente, pensou-se ser causada por vírus, depois, por distúrbios fisiológicos, ácaros ou deficiência de alguns micronutrientes. Em 1966 foi mencionado o *F. moniliforme* como agente causal, contudo, em 1977, foi comprovado que o agente etiológico era o *F. oxysporum*. Em 1992, no Congresso Internacional de Manga realizado na Venezuela, este fungo foi mais uma vez apontado como responsável pela infecção, tendo o ácaro das gemas (*Eriophyes mangifera*) como agravante e disseminador, e recentemente identificou-se o agente como sendo o *F. subglutinans*. O fungo sobrevive na planta, nos tecidos vivos ou mortos, principalmente nos órgãos infectados. Sua disseminação ocorre por ácaro, insetos e instrumentos de poda. Penetra na planta por ferimentos e é inoculado quando a seiva da planta infectada é transferida para a seiva da planta sadia. Temperaturas amenas favorecem seu desenvolvimento e a menor incidência da anomalia ocorre em variedades de floração tardia. Torna-se evidente nos períodos em que a planta emite suas brotações e/ou inflorescências. A idade das plantas também parece influir na propagação da doença, as de cinco a dez anos de idade são as mais afetadas. O índice de ocorrência decresce à medida que a planta vai envelhecendo. A doença ocorre em vários países produtores de manga, causando prejuízos na Índia, Egito, Israel, Paquistão, África do Sul, Estados Unidos e México. No Brasil, sua presença é constatada nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Pernambuco, Bahia, Goiás, e no Distrito Federal. Plantas infectadas com a estirpe do fungo da malformação podem manifestar ou não sintomas. O fungo afeta as inflorescências e as brotações vegetativas da mangueira, aumentando os níveis endógenos das substâncias reguladoras do crescimento, principalmente as giberelinas. O desequilíbrio provocado por esse aumento determina o desenvolvimento de brotações florais e vegetativas malformadas. Esta hipótese vem sendo confirmada, pelos

resultados positivos alcançados no controle da doença, mediante a pulverização com substâncias como ácido naftaleno-acético, que compensam esse desequilíbrio. O sintoma caracterizado da malformação floral é a aparência que a inflorescência adquire de um cacho compacto, pela massa de flores estéreis, com eixo primário mais curto e ramificações secundárias da panícula. O número de flores é alterado, três a quatro vezes mais, assim como as de seus tipos. As flores hemafroditas são substituídas por flores masculinas. Em consequência, as inflorescências afetadas geralmente não produzem frutos e, quando produzem, podem perdê-los prematuramente. A inflorescência apresenta, inicialmente, um crescimento vigoroso, para, em seguida, murchar, convergindo-se numa massa negra, que permanece nas plantas por longo tempo. A malformação vegetativa pode ser observado em planta adulta, porém é mais freqüente em mudas no viveiro, onde é observado superbrotamento das gemas terminais e axilares ou auxiliares na extremidade do ramo principal e dos secundários, em virtude da inibição da dominância apical. Estudos de pesquisa mostram resultados positivos quando são adotadas várias medidas de controle integrado como porceder vistorias periódicas do pomar, formação de mudas com material sadio, fazer a desinfestação dos instrumentos de poda, eliminar ramos e mudas doentes, utilizar variedades como a Haden com resistência a esta doença, utilização de produtos à base de enxofre molhável e quinomethionate, pulverizações com benomyl ou com outros produtos destinados ao controle de outras doenças, como oídio e podridão seca, pode diminuir as causas da malformação.

### **Antracnose**

O fungo causal da antracnose *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*) pode penetrar na planta através das aberturas naturais, ou por ferimentos, podendo incidir nos órgãos da planta e permanecer inerte até que as condições favoráveis de alta temperatura e alta umidade relativa ocorram. A intensidade da doença varia conforme o período de permanência com condições climáticas ideais (temperatura >25°C e umidade relativa >90%), e se constituir numa das mais importantes doenças da mangueira na pré e pós-colheita. O fungo sobrevive em ramos secos, frutos velhos no pomar, hospedeiros silvestres (nativos ou plantas daninhas) e outras culturas hospedeiras, como mamoeiro, abacateiro e cajueiro. É disseminado, principalmente, pelo vento. Encontra-se distribuído no mundo com registro de grandes prejuízos na Índia, Filipinas, Austrália, África, América do Sul e Caribe. Os danos são menos expressivos a nível de Brasil apenas nas regiões semi-áridas do Nordeste. No Médio São Francisco, por exemplo, com umidade relativa do ar, geralmente baixa, em torno de 60%, a doença ocorre periodicamente apenas quando a umidade se eleva um pouco mais,



contribuindo para a depreciação de frutos, porém, em níveis não significativos. A antracnose ocorre em ramos, folhas, frutos e inflorescências. Os frutos podem apresentar manchas ou lesões escuras um pouco deprimidas por toda sua superfície, desde o pedúnculo, e com aspecto úmido. A casca pode se romper e os frutos infectados chegam ao mercado, geralmente apodrecidos. Quando ocorre em frutos novos, estes podem cair prematuramente ou pode o fungo permanecer em latência até que amadureçam. As inflorescências afetadas enegrecem e secam prejudicando a frutificação. As folhas afetadas ficam manchadas de marrom, de forma oval ou irregular e tamanho variável. As lesões aparecem no ápice, margem ou centro da folha, podendo esta se romper quando a incidência da doença é muito alta. Os ramos são os primeiros a serem infectados, apresentando áreas escuras, que secam do ápice à base, com possível ocorrência de desfolha. Seu controle depende muito das condições climáticas. Primeiramente, o produtor deve adotar o sistema de inspeção freqüente no pomar, quando as condições de temperatura e umidade forem favoráveis à doença, principalmente nos períodos de floração, frutificação e colheita, de modo a estabelecer um controle adequado utilizando espaçamento maior entre copas; podas de limpeza; eliminação de restos culturais; e pulverizações com fungicidas a base de cobre, mancozeb e benomyl e para frutos na pós-colheita imersão destes em suspensão de thiabendazole a 0,01%.

### **Seca da mangueira ou mal do Recife**

É uma das mais graves enfermidades da mangueira, podendo provocar sua morte em qualquer idade da planta e não tem controle quando a infecção se inicia pelo sistema radicular. O fungo causal *Ceratocystis fimbriata* sobrevive no solo, ramos secos e em várias espécies vegetais. É disseminado por uma pequena broca (*Hypocryphalus mangiferae*), que só é vetor quando o fungo se encontra no pomar. Este inseto é comumente encontrado em pomar de manga, sendo hospedeiro natural do fungo. É disseminado, também, através do solo aderido em implementos agrícolas, por água de irrigação e através de mudas levando a doença para outros pomares e regiões. Condições climáticas que o favorecem são, principalmente, períodos de maior precipitação e calor. A doença foi constatada pela primeira vez em Jardinópolis (SP), em 1940. Presume-se, porém, que nessa época, a doença já ocorria no Recife, onde foi designada de "Mal-do-Recife" e, posteriormente, na Bahia, Rio de Janeiro, Goiás e Distrito Federal, onde a doença passou a ser chamada "Murcha ou seca-da-mangueira". Ocorre, também, nas culturas de café, fumo, mamona, seringueira, cacau, figo, batata-doce, crotalária, feijão, guandu, *Cassia fistula* e *Cassia negra*. É uma doença específica do Brasil na cultura da manga. Já foi, também, constada em outras culturas nos EUA, Colômbia, Venezuela, Guatemala e Costa Rica.

Hoje, no Brasil, sua ocorrência é generalizada no Estado de São Paulo, dizimando pomares e colocando em risco outras regiões produtoras, devido ao fornecimento de mudas ali produzidas. O Submédio São Francisco, em Pernambuco, por exemplo, atual pólo da mangicultura brasileira, é um dos receptores dessas mudas, passando, portanto, por ameaças constantes quanto à introdução desse problema em seus pomares. O fungo não tem ação sistêmica na planta e progride lentamente, célula por célula. A doença é caracterizada pelo bloqueio da circulação de seiva, o que só é externado na fase adulta da planta, quando na infecção via sistema radicular. Dessa forma, uma muda adquirida infectada pode apresentar os sintomas após quatro anos. A infecção pode acontecer de duas formas: através da copa e das raízes. Quando através da copa, a seca da planta inicia-se pelos galhos finos da parte externa, progredindo lentamente em direção ao tronco, até atingi-lo, matando toda a planta. O fungo só consegue infectar a copa se for introduzido. Os sintomas são amarelecimento, murcha e seca dos galhos, que geralmente têm início num ramo da extremidade da copa. O fungo nessa fase já contaminou o ramo, causando sua morte e já foi disseminado para outros ramos vizinhos. O ramo afetado perde sua cor normal, escurecendo e exsudando goma, geralmente pelos orifícios de ferimentos causados pela broca. Em cortes transversais ou longitudinais nos ramos infectados, observam-se manchas azuladas ou marrons no interior dos tecidos do lenho. Com o progresso da doença o tronco principal é afetado, atingindo todas as bifurcações, causando morte dos ramos e de toda a planta. Quando a infecção inicia-se através das raízes, o fungo vai progredindo lentamente em direção ao tronco. Na maioria das vezes, isto acontece sem que nenhum sintoma seja externado, levando anos para atingir as bifurcações. Quando neste estágio, observa-se a seca de ramos e morte rápida da planta. Em cortes longitudinais no tronco, também são observadas manchas escuras no interior do lenho, como também exsudados gomosos. Os sintomas da seca da mangueira podem ser confundidos com os causados por *Botryodiplodia theobromae* e vice-versa. A diferença está na infecção de fora para dentro do lenho, causada pelo último, e de dentro do lenho para fora, quando causada pelo primeiro. O controle preventivo mais coerente é através da exclusão, impedindo que a doença entre em áreas ou regiões isentas do problema. Também são recomendadas aquisição de mudas de locais ou regiões onde não ocorra a doença; eliminação da planta infectada; pincelamento do local de poda com pasta cúprica + carbaril a 0,2%; eliminação do inseto vetor com inseticidas específicos. Estudos de resistência têm apontado as cultivares Carabao e Manga D'agua. A variedade Espada é um pouco tolerante e a Coquinho, bastante suscetível.

## **MARACUJAZEIRO**

O maracujazeiro apresenta cerca de 60 espécies do gênero *Passiflorae*, sendo uma das mais cultivadas a *P. edulis*. Os maiores produtores mundiais de maracujá encontra-se na América do Sul, sendo o Brasil dentre dos países produtores como Colômbia, Peru e Equador, o maior produtor mundial, destacando-se o Pará (43%) como maior Estado produtor desta fruta, seguido da Bahia (17,7%), Sergipe (10%) e Ceará (8%). Esta cultura possui propriedades medicinais, sendo utilizada no tratamento de insônia, verminoses e calmante, como fonte de vitamina A, B<sub>2</sub> e C, glicídeos e ferro, podendo ser comercializada *in natura* e na forma de doces, sucos, pudins, sorvetes, entre outros. Esta cultura esta exposta a diversas enfermidades de ordem bióticas e abióticas, onde as bióticas podem ser provocadas por fungos, bactérias e vírus, as quais dependendo das condições edafoclimáticas e suscetibilidade da espécie podem ocasionar grandes perdas de produção ou até mesmo impossibilitar o cultivo em determinadas áreas.

### **Antracnose**

É uma doença que causa perdas severas quando ocorre entre colheita e comercialização da fruta, em todas as regiões produtoras do país. Causa rápida deterioração do fruto durante o transporte, principalmente quando a temperatura encontra-se por volta dos 26-28°C, favorecendo ao fungo *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*) responsável pela doença. Também apresenta-se sobre folhas e ramos, causando sobre as folhas manchas claras pequenas com aspecto oleoso inicialmente, em seguida estas manchas evoluem tornando-se pardo escuras de formato irregular, abrangendo grandes porções das mesmas, que resulta em queda de folha e provoca um desfolhamento na planta. No centro dessas lesões, desenvolvem-se áreas acinzentadas ocorrendo rachaduras, observando-se formações mais ou menos concêntricas de pontos escuros que representam a frutificação do patógeno. Dependendo da intensidade da doença sobre as folhas, acontece uma grande queda de folhas podendo ocasionar morte dos ponteiros, flores abortam e os frutos pequenos ou ainda em formação caem prematuramente. Os ramos apresentam manchas alongadas no sentido longitudinal que evoluem para cancrios expondo os tecidos do lenho, resultando no secamento e morte de ponteiros. Facilmente são visualizados sobre os tecidos infectados, pontos pequenos escuros semelhante aos das folhas. Já nos frutos em desenvolvimento, as manchas são de aspecto oleoso evoluindo a pardacenta e nos desenvolvidos as manchas oleosas são maiores, tornando-se em seguida necróticas, deprimidas de cor escura. Grande área do fruto enruga, dando a este uma aparência encarquilhada. O agente causal é facilmente disseminado através de ventos e respingos de chuva, assim como pelas sementes contaminadas. É favorecido por temperaturas entre 26 a 28°C, alta umidade relativa na presença de chuvas freqüentes e abundantes,

sobrevivendo em restos culturais e sobre os tecidos infectados. O controle indicado é através do uso de mudas sadias; eliminação de restos culturais; e aplicação de fungicidas a base de cobre e ditiocarbamatos.

### **Cladosporiose ou verrugose**

*Cladosporium herbarum* é o fungo causador desta doença sendo importante por preferir tecidos jovens em desenvolvimento. Ocorre sobre toda a parte aérea da planta de maracujazeiro, prejudicando o desenvolvimento da mesma e reflete diretamente na produção. Temperaturas moderadas (22°C), condições de clima seco, assim como plantas cultivadas em condições adversas (desfavoráveis), tornam-se mais suscetíveis ao patógeno. Este é disseminado por ventos, respingos de chuvas, mudas contaminadas, sobrevivendo em restos culturais. No Brasil encontra-se disseminado nos Estados de Pernambuco, Rio de Janeiro e São Paulo. Afeta folhas, ramos e frutos, exibindo pequenas manchas circulares, translúcidas sobre as folhas e com o desenvolvimento da lesão e em condições favoráveis de alta umidade relativa ficam cobertas por uma massa acinzentada representando os esporos do fungo. Frutos e ramos ocorre manchas similares as das folhas, porém nos frutos com o desenvolvimento das mesmas, o tecido torna-se corticoso e saliente, rompendo a epiderme e formando pústulas de coloração amarelo claro, que cobre o fruto depreciando-o para a comercialização, embora não afete a parte interna dos frutos. Nos ramos formam cancrios alongados e estes tornam-se fracos, quebrando-se facilmente pela ação de vento mais forte. São recomendadas como medidas de controle a utilização de mudas sadias na implantação de um novo pomar. Quando ocorre em pomares já implantados, deve-se realizar poda de limpeza e pulverizações com fungicidas a base de cobre ou ainda ditiocarbamatos como maneb ou zineb.

### **Murcha de *Fusarium***

Esta doença é de grande expressão econômica pois uma vez detectada sobre a hospedeira, leva a morte pois não existe um controle eficiente para evitar a morte da planta. A doença, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*, pode ocorrer em qualquer fase de desenvolvimento da planta. Quando jovem observa-se nas plantas mudança de coloração das folhas de um verde lustroso normal para um verde mais pálido seguido de murchamento e desfolha e nas adultas amarelecimento de folhas novas, seguindo de um colapso total em um ou dois dias e morte da planta. Procedendo-se um corte longitudinal ou transversal no caule, verifica-se uma descoloração marrom a marrom avermelhado dos vasos condutores de água e nutrientes. O fungo penetra preferencialmente por ferimentos provocados

nas raízes, depois atinge os tecidos lenhosos até os vasos do xilema. Ocorre em todo o campo ou concentra-se em áreas isoladas (reboleira), sendo encontrado em campos de cultivo assim como em áreas recém desbravadas. O fungo pode sobreviver no solo em forma de clamidosporos por muitos anos, sendo disseminado através de sementes e mudas infectadas, água de superfície e contato direto entre raízes de plantas doentes com plantas saudáveis. O controle é realizado com a utilização de variedades resistentes de maracujazeiro como porta enxerto tendo como exemplo as espécies *P. alata*, *P. quadrangularis*, *P. macrocarpa*, *P. incarnata*, além de evitar danos ao sistema radicular das plantas realizando o controle de nematóides e ervas daninhas, assim como queima das plantas afetadas, incluindo as circunvizinhas, mesmo que aparentemente estejam saudáveis.

### **Septoriose**

O fungo *Septoria passiflorae* é considerado de grande importância em vários países produtores de maracujá, porém no Brasil a ocorrência da doença incitada por este patógeno é de baixa frequência. Ocorre em viveiros e campo causando desfolha e inibe o crescimento das plantas, tornando-se mais frequente quando as condições climáticas predominantes são de clima quente e úmido. Os sintomas são visualizados principalmente sobre as folhas como manchas marrons, com diâmetro em torno de 3-5mm, levemente arredondadas, exibindo em seu contorno um halo amarelado. Sob condições de elevada umidade relativa, estas lesões coalescem podendo ocasionar queda de folhas, levando ao desfolhamento e, conseqüentemente, morte da planta. Manchas similares ocorrem ocasionalmente sobre ramos e nos frutos as lesões apresentam-se marrons claras, podendo coalescerem e ocuparem grandes áreas dos frutos, prejudicando o seu desenvolvimento ou maturação. Sobre as lesões, verifica-se pontuações pretas que representam os picnídios do fungo. Os esporos são facilmente disseminados pelo vento, sendo favorecido por temperaturas amenas e umidade relativa elevada. Recomenda-se como forma de controle a utilização de poda de limpeza; redução da densidade de plantio; e uso de fungicidas como mancozeb ou oxiclóreto de cobre em pulverizações.

### **Alternarioses**

As manchas de *Alternaria* no maracujazeiro são provocadas pelos fungos *A. alternata* e *A. passiflorae*, tendo sido encontrada em várias regiões produtoras do país, ocasionando perdas severas, principalmente em períodos de alta umidade relativa e temperaturas elevadas, sendo disseminados através de ventos e chuvas, sobrevivendo saprofiticamente em restos culturais. A doença ocorre sobre folhas, ramos e frutos provocando pequenas manchas

circulares com anéis concêntricos, circundadas por um halo amarelado e quando a infecção é severa pode causar grande desfolhamento na planta. Nos ramos os sintomas são semelhantes as folhas, sendo observado mais próximo ao pecíolo das folhas, podendo ocasionar seca e morte de ramos sob condições favoráveis ao patógeno. As manchas nos frutos apresentam-se ligeiramente circulares, cor pardo avermelhada, as quais podem tomar uma parte do fruto, depreciando a qualidade dos mesmos para a comercialização. Normalmente acontece sobre os frutos em fase adiantada de desenvolvimento. Para o controle recomenda-se reduzir a densidade de plantio; poda de ramos afetados; pulverizações de fungicidas protetores como mancozeb e oxiclureto de cobre.

### **Bacteriose**

A mancha bacteriana provocada por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* ocorre em todo o país, tendo sido descrita pela primeira vez por Pereira no Brasil em 1968, responsável por grandes perdas no maracujazeiro. As lesões são facilmente visualizadas sobre as folhas como pequenas manchas translúcidas, de aspecto oleoso, verde escuras, bem delimitadas evoluindo para manchas marrons, sob diversos formatos, com tamanho médio de 3-4mm, podendo coalescer e com isso tomar grande área do limbo foliar, ocasiona seca e desintegração do mesmo, causando severa desfolha e morte da planta. A infecção pode estender-se ao pecíolo e ramos. Se a bactéria penetra pelo pecíolo, provoca a queda da folha e pode ocorrer o avanço da infecção através dos vasos do pecíolo e ramos, os quais podem apresentar caneluras longitudinais, causando seca do ápice para a base dos mesmos. Em frutos observa-se pequenas manchas oleosas, pardas, com contornos esverdeados, margens bem definidas, circulares ou irregulares, podendo penetrar no interior do fruto atingindo as sementes. A disseminação da bactéria é realizada através de ventos, mudas contaminadas, sementes, sendo favorecida por chuvas, temperatura em torno dos 35°C e umidade relativa elevada e sobrevive em sementes infectadas. As medidas de controle são de caráter preventivo através do tratamento de sementes; plantar mudas sadias; arrancar e destruir as plantas doentes; e desinfestar ferramentas.

### **Endurecimento dos frutos**

A doença é provocada por um vírus pertencente ao gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*, *Passion fruit woodiness virus* – PWV, sendo considerada a virose mais importante do maracujazeiro, pois reduz a produtividade, valor comercial dos frutos e o período produtivo da cultura. Descrita pela primeira vez por Noble em 1928, porém na Austrália já era conhecida desde 1891. O maracujá-roxo, *P. edulis* é altamente suscetível,

podendo exibir grande número de frutos deformados e impróprios a comercialização. O vírus é facilmente transmitido de forma não persistente por espécies de afídeos e por meios mecânicos especialmente tesoura de poda. Muitas cultivares da família Leguminosae e espécies de *Passiflorae* são hospedeiras deste vírus, sendo a abundância destas, assim como alta população dos vetores, condições favoráveis ao patógeno e com isso ao desenvolvimento da epidemia. Uma vez a planta infectada não tem forma eficiente de controle, apenas recomenda-se a utilização de mudas sadias oriundas de viveiros localizados em áreas isentas do vírus, bem como eliminação dos hospedeiros que servem de reservatórios do vírus e híbridos tolerantes. O principal sintoma consiste na formação de frutos pequenos, deformados, com um espessamento anormal e endurecimento do pericarpo, causando uma redução da sua cavidade central, com uma pequena cavidade de polpa. As folhas mostram bolhosidades, mosaico, manchas anelares, rugosidade e deformações. Plantas doentes apresentam retardamento do crescimento.

## VIDEIRA

No Nordeste, o cultivo da videira é hoje uma realidade no semi-árido brasileiro. Com aproximadamente dez mil hectares no Vale do São Francisco, continua em expansão e desta vez investindo em uvas sem sementes e uvas para vinhos, destacando a qualidade do Botchele fabricado na região, onde a potencialidade para o cultivo da videira tem sido comprovada por iniciativas pública e privada. Contudo, o grande avanço da área plantada, a exemplo do bipolo Petrolina-PE/Juazeiro-BA tem favorecido a ocorrência de doenças como Oídio, Míldio, Antracnose, e o surgimento de outras doenças como “Morte Descendente” e o cancro da videira.

### Podridão seca

O *Lasiodyplodia theobromae* (= *Botryodyplodia theobromae*) é o agente da doença “Podridão seca, também conhecida por “Morte descendente” sendo considerado um fungo muito agressivo nas fruteiras, principalmente em regiões semi-áridas. No Vale do São Francisco, este é no momento, um dos maiores problemas fitossanitários da videira, devido aos altos níveis de infecção que pode causar. Este patógeno ocorre comumente nas regiões tropicais da África, Ásia e América, sendo sua primeira descrição na literatura mundial em 1892 por Patouillard em frutos de cacau. Sua primeira ocorrência foi relatada no Brasil por Tavares *et al.* em 1990. Em outros países, como no Oeste de Bengala, Índia, o *L. Theobromae* é citado como agente de podridão pós-colheita, provocando perdas na ordem de 25%. O aumento de sua incidência em áreas irrigadas da região Nordeste brasileira, desde 1990, tem sido motivo de grande preocupação, principalmente nas áreas do Submédio São Francisco, onde vem afetando não só a uva, mas também a manga, abacate, goiaba, citrus, coco, tâmara, banana e acerola, o que tem aumentado o potencial de inóculo do fungo nos pomares de uva adjacentes a outras culturas hospedeiras. Em outras regiões brasileiras, o *L. theobromae* já foi citado também em amendoim, cana-de-açúcar, café, fumo, mamão, mamona, algodão e seringueira. Sua sintomatologia pode ser observada externamente e através de várias formas quando a planta de videira infectada apresentar sintomas associados ou independentes, como por exemplo, queima ou seca de ponteiros e folhas; necrose de cor escura; manchas escuras geralmente longitudinais e salteadas, medindo de 0,5 a 2cm na extensão de ramos produtivos; diminuição do vigor ou crescimento vegetativo; diminuição da produtividade, perda de turgescência e morte. Sob o córtex, pode ser observado uma coloração marrom que estende-se pelo floema, caracterizando morte de células, e que se desenvolve em todas as



direções, ou seja, para cima, para baixo até a raiz e na lateral, até causar o anelamento e, conseqüente morte da planta, podendo ser observado em qualquer parte do tronco. A penetração do fungo em sua maioria, ocorre através dos ferimentos causados à planta ou através das aberturas naturais do tecido vegetal. Como esse fungo não é sistêmico, ou seja, não é disseminado pela seiva no interior da planta, a infecção é localizada e progressiva, destruindo célula por célula, até penetrar no interior do lenho. Sobrevive principalmente em restos de cultura e plantas hospedeiras (mangueira, goiabeira, abacateiro, coqueiro, bananeira, limoeiro, entre outras), em tecidos vegetais infectados. Sua disseminação faz-se principalmente, através do vento. As condições favoráveis são temperaturas altas, em torno de 27-33°C, umidade relativa do ar baixa, menor que 60%; a não proteção química das partes podadas da planta; os ferimentos; a nutrição desbalanceada e estresse hídrico. As medidas de controle precisam ser, necessariamente preventivas em virtude das condições fitotécnicas predispondo a planta à infecção. A pesquisa também revela que as medidas de controle químico por si só não funcionam no controle deste patógeno, sendo indispensável o manejo integrado. Pulverizar a planta, mesmo quando em repouso, com produtos do grupo dos benzimidazois alternando com fungicidas a base de cobre; manter a superfície do solo do pomar sem restos da cultura, mesmo que sadios, uma vez que esse fungo coloniza também além dos órgãos da planta, os tecidos e mantém-se vivo, mesmo quando o tecido se decompõe. Com relação a variedades resistentes, ainda não se tem germoplasma de videira com tais características, portanto, faz-se necessário um empenho neste sentido a fim de melhorar a resistência das variedades comerciais.

### **Míldio**

A primeira ocorrência dessa doença foi nos Estados Unidos em 1834, depois Europa, África, Ásia, Austrália e América do Sul. No Brasil, ela ocorre na maioria dos pomares vitícolas do país. No Vale do São Francisco, sua ocorrência é mais acentuada no primeiro semestre do ano, quando as condições climáticas são favoráveis ao desenvolvimento do fungo, devido a ocorrência de chuvas. Esse patógeno é de difícil controle, principalmente quando ocorre durante a fase de floração. Os sintomas ocorrem em todas as partes verdes da planta. Nas folhas, inicialmente, podem ser observadas na face ventral manchas pequenas arredondadas, de bordas indefinidas e de aspecto encharcado. Na face dorsal as manchas correspondem à frutificação do fungo *Plasmopara viticola*, de cor esbranquiçada, que evoluem para pardo-avermelhada. Por fim as lesões tornam-se necróticas e irregulares e podem coalescer, formando grandes áreas mortas, com conseqüente seca e queda das folhas. Observa-se, também a paralisação do desenvolvimento dos cachos e bagas infectados, apresentando sintomas semelhantes aos descritos

nas folhas. Nos cachos, observam-se, ainda, a seca e queda de flores, podridão cinzenta a azulada nas bagas ainda verdes. Estas endurecem e, posteriormente, enegrecem. Nas bagas em fase de maturação, a penetração do fungo dá-se pelo pedúnculo, causando a paralisação da passagem de seiva e água. As bagas vão perdendo água através de sua cutícula, formando áreas deprimidas, que, em seguida, tornam-se murchas e escurecidas. Todas as fases fenológicas da planta são sensíveis a essa doença, principalmente todo o período da fase de crescimento vegetativo e início da fase reprodutiva. Nessas fases, os tecidos são mais tenros, facilitando a penetração e colonização do fungo. Este, ao externar, já possui suas toxinas agindo no interior da planta, dificultando assim o controle. Apesar de ser diagnosticado como um parasita obrigatório, o micélio pode sobreviver saprofiticamente, de um ano para outro, nos tecidos vegetais infectados. Quanto a disseminação, os esporos do fungo são propagados principalmente pelo vento e pela água, por meio de material infectado transportado de um local para outro. As condições de temperaturas em torno de 18 a 25°C, umidade relativa do ar acima de 70%, e a presença de chuvas constantes, são condições ideais para o desenvolvimento desse fungo. Sua penetração na planta ocorre através das aberturas naturais. Quando a umidade do solo ultrapassar 20% da capacidade de campo, pode ocorrer infecção mesmo que a umidade relativa do ar seja baixa (60%) e nos intervalos favoráveis de temperaturas. Os danos de necrose irreversíveis e o desfolhamento acarretam prejuízos na produtividade, pela redução da área fotossintética e, conseqüentemente, diminuição da produção de carboidratos, além dos danos diretos em frutos afetados, que são perdidos ainda na fase de pré-colheita. O míldio pode resultar em perdas totais para o viticultor, se não controlado preventivamente. O manejo cultural deve ser realizado a cada período de repouso onde convém retirar o córtex sem causar ferimentos a planta e retirar do solo todo o material como restos da cultura deixados por ocasião da poda. O controle químicos é recomendado sendo utilizados produtos sistêmicos como folpet, metalaxyl, tiofanato metílico + clorotalonil e protetores a base de cobre.

## **Oídio**

A doença ocorre em todas as regiões vitícolas do país, sendo que sua importância econômica é muito mais expressiva na região semi-árida do Nordeste brasileiro, onde causa danos consideráveis devido às constantes condições climáticas favoráveis ao patógeno. Quando da infecção precoce, esta interfere na produtividade e na formação e desenvolvimento dos frutos, conforme observações de campo. As manchas causadas nos frutos são irreversíveis, tornando-os impróprios para comercialização. A infecção acontece em toda a parte aérea da planta, principalmente nos órgãos tenros e

suculentos. Nas folhas, aparecem manchas de cor branca e tamanho pequeno, que mais tarde adquirem uma aparência pulverulenta. Folhas jovens, quando severamente afetadas, tornam-se torcidas, de cor marrom e que eventualmente caem. Os maiores danos são observados nos cachos e brotos. Nos cachos afetados, no início do desenvolvimento, ocorre aborto das inflorescências, resultando numa baixa frutificação ou perda total da produção. Quando infectados, na fase de desenvolvimento do fruto, provoca rachaduras das bagas, devido a perda de elasticidade da membrana que envolve o fruto. Provoca, também, em bagas verdes e maduras, manchas externas irreversíveis, semelhante à ferrugem. O estudo epidemiológico do oídio revela conhecimentos que são fundamentais para melhor direcionar seu manejo e controle. Sua sobrevivência ou conservação de um ano para o outro, dá-se por meio do micélio do *Oidium tuckeri*, que fica nas gemas e escamas dos sarmentos e por meio de ascosporos produzidos pelo fungo *Uncinula necator*. É disseminado principalmente pelo vento, face a grande produção de esporos na superfície vegetal. O desenvolvimento desse patógeno pode ocorrer em intervalos de temperatura entre 7-33°C, sendo destacado a faixa entre 23-27°C, como a mais favorável. Na região do Vale do São Francisco, a temperatura média de 27°C oferece condições satisfatórias para ocorrência desta doença durante o ano todo. O controle do oídio deve ser adotado de forma preventiva no período do ano em que as condições climáticas são mais favoráveis, envolvendo o cultural com a remoção de restos culturais; químico com pulverizações com pirozophos, fenarimol, tiofanato metílico, alternados com fungicidas a base de enxofre; biológico com o uso de espécies de *Trichoderma*; e genético com uso de variedades resistentes como Isabel, Battero de Beirouth; Himrod Seedless; H-4-49-69; Sauvignon Blanc; Feher Szapas; Semillon; Baco Blanc; Seara Nova; Tibouren; Aramon; Dattier de Saitn Valler; Museatde Saint Vallier e Reliance.

### **Mofa cinzento**

Em condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento do fungo *Botrytis cinerea* responsável por esta doença, as perdas chegam a mais de 50% nas variedades suscetíveis. Além da redução na colheita, são consideráveis os prejuízos indiretos em razão do fungo desenvolver-se às custas do açúcar, tanino e nitrogênio solúveis na uva. Danos nos viveiros são também elevados. A podridão cinzenta afeta todos os órgãos da parreira de forma significativa em regiões com alta umidade relativa (70%) e temperaturas por volta dos 25°C, deteriorando os frutos na pré e/ou pós-colheita, principalmente em variedades de uva viníferas brancas. No Vale do São Francisco, essa doença só ocorre em pomares mais densos com pouca aeração e muito sombreado. A sobrevivência de um ano para o outro ocorre

através da formação de estruturas de resistência denominada escleródios, assim como também em outros hospedeiros suscetíveis como: eucalipto, fava, feijão-comum, roseira, alface, cebola, crisântemo, cenoura, maçã, pepino, fumo, tomateiro, repolho e muitos outros. É disseminado pelo vento, respingos de chuva e insetos. A intensidade dos sintomas podem ir de baixa a alta, causando apodrecimento e até perda total dos cachos. A presença do patógeno na planta acontece ainda na fase de floração, permanecendo em estado de latência até a maturação dos frutos, quando acontece sua penetração. Portanto, seu controle é preventivo, devendo ser iniciado na fase de floração, seguido de mais dois tratamentos: um durante o desenvolvimento dos cachos e um outro no início do amadurecimento das bagas. Os fungicidas utilizados vinclozolin, iprodione ou benomyl, nas doses de 200 g; 200 g e 100 g/100 L d'água, respectivamente. Na pós-colheita, os frutos são frequentemente afetados, principalmente, quando das oscilações de temperaturas e umidade relativa. Nos cachos observa-se uma descoloração na pele das bagas, que ficam flácidas e adquirem uma cor cinza, apodrecendo em seguida. Quando a infecção é precoce, em frutos ainda verdes, a baga fica azeda, podendo cair do cacho. Nas folhas, a doença pode se manifestar formando margens extensas de cor cinza esverdeada, que torna-se de cor castanha provocando a seca completa da mesma. Em ambiente com umidade relativa em torno de 80%, aparece na superfície dos órgãos afetados, uma abundante crescimento de cor cinza, constituída pelo micélio do patógeno. No campo, algumas vezes, os sintomas quando em fase mais avançada podem ser confundidos com o "míldio". Por esta razão, é aconselhável o exame microscópico das estruturas do patógeno em laboratório, para uma diagnose mais precisa.

## **Antracnose**

Esta é uma das mais importantes doenças da cultura da videira em regiões onde se tem alta umidade relativa do ar, chuvas abundantes, ventos frios e temperaturas entre 15 e 18°C, causada por *Elsinoe ampelina* (*Sphaceloma ampelinum*). Ocorre no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo. Em condições favoráveis ao seu desenvolvimento pode ser responsável por menor produtividade da planta e por perdas diretas no fruto. No Nordeste brasileiro, as áreas irrigadas produtoras de uva, oferecem boas condições ao desenvolvimento desse fungo em função do microclima favorável proporcionado pela irrigação, principalmente no primeiro semestre do ano, quando se tem temperaturas mais amenas. A antracnose pode ser observada em todas as partes aéreas da planta. No limbo da folha são observadas manchas pequenas irregulares e arredondadas, de cor pardo escura e levemente deprimida, que com o avanço da necrose pode secar e cair. Nos brotos novos e nas gavinhas, formam-se

manchas necróticas pardo-escuro que aumentam de tamanho e progridem para o centro da lesão aprofundando-se e transformando-se em cancras com bordos levemente salientes. Nas bagas a doença é observada sob a forma de manchas circulares necróticas deprimidas, de cor cinza escuro não centralizadas e um halo avermelhado, sendo conhecida como “olho de passarinho”. São disseminados pelos respingos de água, orvalho, chuvas e da irrigação. O manejo integrado e preventivo é sempre o melhor caminho a seguir a fim de se obter maiores chances de sucesso, minimizando os prejuízos econômicos tais como: recuperação da casca ou córtex do tronco sem causar ferimentos; a limpeza da cultura com retirada de partes infectadas da planta; eliminação dos restos de cultura; aplicação de fungicidas como o clorotalonil, benomyl, mancozeb, tiofanato metílico, entre outros, aplicados alternadamente.

### **Fusariose**

No Brasil, a doença é responsável por morte de plantas, tendo sido constatada em parreirais nos vários Estados produtores. Sua primeira ocorrência natural foi em 1940 no Rio Grande do Sul, mas somente em 1953 o fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *herbemontis* foi isolado e identificado como agente causal. Uma das primeiras referências a fusariose da videira, em outros países foi feita por Rives em 1924 na França e em 1929 na União Soviética. No Rio Grande do Sul, a incidência de fusariose é alta na maioria das variedades cultivada, a exemplo da Herbemot altamente suscetível. O mesmo tem sido observado em Santa Catarina. Nos Estados de Pernambuco, Bahia, Piauí, Minas Gerais e de Mato Grosso, a fusariose pode vir a ser problema, uma vez que tem-se registro de ocorrência desta em 16 amostras de parreirais, entre 359 amostras analisadas no período de 1998 e 1999, nos laboratórios da Embrapa/Semi-Árido. Externamente, a planta infectada pode apresentar vários sintomas como murchas vasculares, redução no crescimento, amarelecimento, seca dos bordos, queda das folhas e escurecimento vascular. Como sintomas principais, tem-se a seca rápida dos bordos das folhas, o escurecimento da região dos vasos condutores e a morte dos ramos, culminando com a morte da planta. As folhas da planta infectada, chegam a cair, e nesta situação, o patógeno emerge do hospedeiro através de lenticelas na superfície da planta, produzindo esporódoquio de coloração salmão ou alaranjada, quando em condições de alta umidade. Este fato pode suportar a hipótese de disseminação aérea de *F. oxysporum* f.sp. *herbemontis*.

### **Cancro bacteriano**

No Brasil, até o ano de 1997, as doenças bacterianas não possuíam expressão na cultura da videira, apenas a formação de galhas havia sido detectada, sem causar grandes prejuízos em parreirais da região Nordeste, Minas Gerais, além de São Paulo. Entretanto, em 1998, foi identificado a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, responsável por morte de plantas e eliminação de pomares do Submédio São Francisco. A ocorrência do cancro bacteriano foi primeiro relatada na Índia. Outras bacterioses da mesma importância econômica e mesmos sintomas também podem estar presentes na região semi-árida, como por exemplo *X. ampelina*, de ocorrência na Grécia, França, Espanha, Itália, Portugal, Turquia e África do Sul e provavelmente, na Áustria, Suíça, Iugoslávia, Bulgária, Tunísia, Ilhas Canárias e Argentina. A bacteriose tem ocorrência generalizada nos pomares vitícolas da região do Submédio São Francisco incidindo principalmente nas variedades de uva sem semente e na Red Globe, provocando maiores prejuízos no primeiro semestre do ano. Os sintomas são de manchas necróticas pequenas (1-2 mm de diâmetro), com ou sem halo ou necrose setorial nas folhas, necrose de formação de cancos nas nervuras, manchas escuras alongadas e irregulares no pecíolo, engaço e nos ramos, evoluindo a cancos. Estes sintomas foram observados, inicialmente, em plantios novos com dois a três anos pós-enxertia e posteriormente em plantios mais velhos, também observando a coalescência para formação de manchas maiores e persistência das folhas infectadas na planta, quando após podas severas. A planta que chega a produzir, além da baixa produção, também pode apresentar sintoma na forma de manchas cloróticas e necróticas nos frutos. Sobrevive na planta afetada reincidindo nos ciclos posteriores, mesmo quando após podas severas. São poucas as informações sobre a doença, inclusive mundialmente. Contudo, as condições climáticas da região semi-árida com sistemas de irrigação, têm favorecido, principalmente no primeiro semestre do ano quando se têm temperaturas entre 25-28°C, umidade relativa entre 54-72% e precipitações pluviométricas entre 306.9-1023.5mm. Doenças de plantas causadas por bactérias são de difícil controle e a maioria das medidas disponíveis até o momento, são de caráter preventivo. Os fungicidas cúpricos e alguns diocarbamatos podem atuar na proteção de plantas à infecção causada por bactérias, os quais podem atuar retardando, inibindo ou bloqueando a multiplicação do patógeno. Em parreirais infectados, o manejo para controle tem sido feito mediante a poda e queima dos ramos infectados e em alguns casos, erradicação de plantas, quando da constatação de altos níveis de infecção, com a concomitante aplicação de produtos à base de cobre.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Agrios, G.N. Plant pathology. 4<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, 1997. 635p.
- Albuquerque, J.A.S.; Soares, J.M.; Tavares, S.C.C.H. Práticas de cultivo para mangueira na região do Submédio São Francisco. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA, 1992. 36p. (EMBRAPA-CPATSA. Circular Técnica, 25).
- Alves, E.J.; Dantas, J.L.L.; Soares Filho, W.S.; Silva, S.O.; Oliveira, MA.; Souza, L.S.; Cintra, F.L.D.; Borges, A.L.; Oliveira, A.M.G.; Oliveira, S.L.; Fancelli, M.; Cordeiro, Z.J.M.; Souza, J.S. (Eds.) Banana para exportação: aspectos técnicos da produção. 2. ed. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1997. 106p. (Publicações Técnicas FRUPEX, 18).
- Batista, A.C. *Ceratocystis fimbriata* ELL & HALST sobre *Mangifera indica* L. Recife: UFRPE, 1960. 46p.
- Bezerra, J.L.; Luz, E.D.M.N. Podridão-do-olho e queda-dos-frutos do coqueiro. In: Luz, E.D.M.N.; Santos, A.F.; Matsuoka, K.; Bezerra, J.L. (Eds.) Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Campinas: Livraria Rural, 2001. p.343-357.
- Camarço, R.F.E.A.; Lima, J.A.A.; Pio-Ribeiro, G. Transmissão e presença em solo do "Papaya lethal yellowing virus". Fitopatologia Brasileira 23: 453-458, 1998.
- Chalfourn, S.M. Doenças da mangueira. Informe Agropecuário 86: 35-37, 1982.
- Chand, R.; Singh, P.N.; Singh, D.; Singh, R. Copper and streptomycin resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 101: 487-491, 1994.
- Cook, A.A. Diseases of tropical and subtropical fruits and nuts. New York: Macmillan Publishing Co., 1975. 317p.
- Cordeiro, Z.J.M. Doenças fúngicas da bananeira: Sigatoka amarela, Sigatoka preta e mal-do-Panamá. Summa Phytopathologica 25: 58-60, 1999.
- Cruz, S.C.; Tavares, S.C.C.H.; Tumerio, V. Mix de *Trichoderma* spp. no controle biológico do Oídio na videira em cultivo orgânico na região semi-árida do vale do São Francisco. Fitopatologia Brasileira 24: 278, 1999 (suplemento).
- Ferreira, J.M.S.; Warwick, D.R.N.; Siqueira, L.A. A cultura do coqueiro no Brasil. 2. ed. Brasília: Embrapa-SPI, 1997. 292p.
- Grigoletti Júnior, A.; Sônego, O.R. Principais doenças fúngicas da videira no Brasil. Rio Grande do Sul: EMBRAPA-CNPUV, 1993. 43p. (EMBRAPA-CNPUV. Circular Técnica, 17).

- Guevara, Y.; Rondon, A.; Solorzano, R. Bacteriosis del mango (*Mangifera indica* L.) en Venezuela. 1. Sintomatología e identificación. *Agronomía Tropical* 30: 65-76, 1980.
- Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Rezende, J.A.M. (Eds.) Manual de fitopatología: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, 774p.
- Kitajima, E.W. Viroses de fruteiras tropicais no Brasil. *Summa Phytopathologica* 25: 78-83, 1999.
- Kumar, J.; Beniwal, S.P.S. Vegetative and floral malformation: two symptoms of the same disease of mango. *Plant Protection Bulletin* 35: 21-33, 1987.
- Malavolta, Jr. V.A.; Almeida, I.M.G.; Sugimori, M.H.; Ribeiro, I.A.; Rodrigues Neto, J.; Pires, E.J.P.; Nogueira, E.M.C. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 23: 211, 1998 (suplemento).
- Manica, I. Cultivares e melhoramento do mamoeiro. In: Mendes, L.G.; Dantas, J.L.L.; Morales, C.F.G. (Eds.). Mamão no Brasil. Cruz das Almas: EUFBA/EMBRAPA-CNPMF, 1996. p.121-144.
- Maranca, G. Cultura do mamão. São Paulo: Nobel, 1992. 108p.
- Medina, J.C.; Bleinroth, E.W.; Martin, Z.J.; Travaglini, D.A.; Okada, M.; Quast, D.G.; Hashizume, T.; Renesto, O.V.; Moretti, V.A. Banana: da cultura ao processamento e comercialização. Campinas: ITAL, 1978. 197p. (ITAL. Série Frutas Tropicais, 3).
- Medina, J.C.; Bleinroth, E.W.; Martins, Z.J.; Quast, D.G.; Hashizume, T.; Figueredo, N.M.S.; Moretti, V.A.; Canto, W.L.; Bicudo Neto, L.C. Manga: da cultura ao processamento e comercialização. Campinas: ITAL, 1981. 399p. (ITAL. Série Frutas Tropicais, 8).
- Medina, J.C.; Garcia, J.L.M.; Lara, J.C.; Tocchini, R.P.; Hshizume, T.; Moretti, V.A.; Canto, W.L. Maracujá: da cultura ao processamento e comercialização. Campinas: ITAL, 1980. 207p. (ITAL. Série Frutas Tropicais, 9).
- Medina, J.C.; Bleinroth, E.W.; Sigrist, J.M.M.; Martin, Z.J.; Nisida, A.L.A.C.; Baldini, V.L.S.; Leite, R.S.S.F.; Garcia, A.E.B. Mamão: cultura, matéria prima, processamento e aspectos econômicos. 2. ed. Campinas: ITAL, 1989. 177p.
- Oliveira, A.M.G.; Farias, A.R.N.; Santos Filho, H.P.; Oliveira, J.R.P.; Dantas, J.L.L.; Santos, L.B.; Oliveira, M.A.; Souza Junior, M.T.; Silva, M.J.; Almeida, O.A.; Nickel, O.; Medina, V.M.; Cordeiro, Z.J.M. (Eds.) Mamão para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 52p. (Publicações Técnicas FRUPEX, 9).



- Pearson, R.G.; Goheen, A.C. Compendium of grape diseases. St. Paul: APS PRESS, 1994.
- Persley, D. Diseases of fruit of crops. 2<sup>nd</sup> ed. Queensland: Queensland Department of Primary Industries, 1993. 115p.
- Persley, D.M.; Pegg, K.G.; Syme, J.R. Fruit and nut crops: a disease management guide. Queensland: Queensland Department of Primary Industries, 1989. 68p.
- Ploetz, R.C.; Zentmyer, G.A.; Nishijima, W.T.; Rohrbach, K.G.; Ohr, H.D. Compendium of tropical fruit diseases. St. Paul: APS Press, 1994. 88p.
- Rezende, J.A.M.; Costa, A.S. Doenças de vírus e micoplasmas de mamoeiro. *Summa Phytopathologica* 19: 73-79, 1993.
- Robbs, C.F.; Rodrigues Neto, J. Enfermidades causadas por bactérias em fruteiras tropicais no Brasil. *Summa Phytopathologica* 25: 73-76, 1999.
- Ruggiero, C.; José, A.R.S.; Volpe, C.A.; Oliveira, J.C.; Durigan, J.F.; Baumgartner, J.G.; Silva, J.R.; Nakamura, K.; Ferreira, M.E.; Kavati, R.; Pereira, V.P. (Eds) Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996. 64p. (Publicações Técnicas FRUPEX, 19).
- Silva, G.S. Podridão das raízes e dos frutos do mamoeiro. In: Luz, E.D.M.N.; Santos, A.F.; Matsuoka, K.; Bezerra, J.L. (Eds.) Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Campinas: Livraria Rural, 2001. p.413-454.
- Snowdon, A.L. A colour atlas of post-harvest disease and disorders of fruits and vegetables. London: Wolfe Scientific, 1990. v.1, 302p.
- Tavares, S.C.C.H.; Amorim, L.R. Levantamento de *Botryodiplodia theobromae* em áreas irrigadas do Trópico semi-árido brasileiro. *Fitopatologia Brasileira* 20: 326, 1995 (suplemento).
- Tavares, S.C.C.H. *Botryodiplodia theobromae* Lat. em mangueira no Submédio São Francisco II - Condições predisponentes - controle. *Revista Brasileira de Fruticultura* 15: 147-152, 1993.
- Tavares, S.C.C.H. Disseminação de *Ceratocystis fimbriata* (Seca da mangueira) em pomares de manga no Semi-Árido do Nordeste Brasileiro. *Fitopatologia Brasileira* 16: 34, 1991.
- Tavares, S.C.C.H. Principais doenças da mangueira no Submédio São Francisco. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA. (EMBRAPA-CPATSA. Circular Técnica) (no prelo).
- Tavares, S.C.C.H.; Menezes, M.; Choudhury, M.M. Infecção da mangueira por *Botryodiplodia theobromae* Lat. na região semi-árida de Pernambuco. *Revista Brasileira de Fruticultura* 13: 163-166, 1991.

Thurston, H.D. Tropical plant diseases. 3<sup>rd</sup> ed. St. Paul: APS Press, 1998.  
200p.

# DIAGNOSE E MANEJO DE DOENÇAS EM CULTIVOS HIDROPÔNICOS

ANDRÉA MARIA ANDRÉ GOMES  
VIVIANE JUREMA LOPES BORGES RODRIGUES

## INTRODUÇÃO

O cultivo hidropônico é realizado na ausência do solo, em substratos isentos de patógenos e em solução nutritiva, onde a ocorrência de doenças é minimizada, mas não eliminada. Neste sistema podem ocorrer doenças fúngicas, bacterianas e viróticas, sendo as causadas por fungos as mais comuns (Martinez & Silva Filho, 1997). As principais doenças atingem principalmente as raízes da planta hospedeira e devem ser evitadas, pois seu controle é dificultado em sistemas que utilizam solução nutritiva. Doenças que atacam a parte aérea podem ser controladas mais facilmente de forma convencional, contudo não há registros de defensivos agrícolas para hidroponia.

As principais culturas produzidas em sistemas hidropônicos são: alface (a mais cultivada), almeirão, agrião, arroz, berinjela, brócolis, cebolinha, chicória, couve, espinafre, feijão-vagem, melão, morango, pepino, pimentão, plantas ornamentais, repolho, rúcula, salsa, tomate, entre outras de menor cultivo (Lopes *et al.*, 2000). A Tabela 9.1 mostra os patógenos já relatados como causadores de doenças em cultivo hidropônico. Essas doenças são de grande importância, pois, são capazes de causar sérios prejuízos no referido sistema.

## FONTES DE INÓCULO PARA CULTIVOS HIDROPÔNICOS

Substrato, semente, muda, inseto vetor, ar/vento e solução nutritiva, são as principais fontes de inóculo em cultivos hidropônicos. O sistema de cultivo em substrato (lã de rocha, espuma fenólica, brita, etc.) é o mais propício para contaminação de plantas, quando comparado com os sistemas hidropônicos recirculantes, pois mesmo na ausência de solo, este é o principal reservatório de patógenos. Espécies de *Pythium* e de *Phytophthora*

e *Rhizoctonia solani*, são exemplos de patógenos veiculados por diferentes substratos. Apesar de existirem poucos relatos a respeito de sementes como fontes de inóculo em sistemas hidropônicos, estas são efetivamente importantes em qualquer cultivo. Fungos (*Septoria lactucae*, *Bremia lactucae*), bactérias (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*) e vírus (LMV – vírus do mosaico da alface) são capazes de causar doenças de parte aérea já nos primeiros estádios de desenvolvimento da planta. Mudanças infectadas podem conter patógenos causadores de doenças de parte aérea, tais como, vírus, espécies de *Erwinia*, *Pythium*, *Phytophthora* e *Fusarium*, sendo os dois primeiros patógenos também veiculados por insetos vetores. *Colletotrichum coccodes*, *Cercospora longissima*, *Septoria lactucae*, *Bremia lactucae*, *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Leveillula taurica*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Stemphylium solani*, *Erwinia* spp. são os principais patógenos veiculados pelo ar. Conídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* disseminados pelo ar/vento foram capazes de infestar a solução nutritiva provocando podridão da raiz e do colo em tomateiro. A solução nutritiva que é considerada livre de patógeno, pode conter bactérias como *Erwinia* sp. e *Ralstonia solanacearum*, e fungos aquáticos como *Pythium* e *Phytophthora* (Lopes et al., 2000).

Tabela 9.1 – Patógenos causadores de doenças de plantas em sistemas hidropônicos.

Patógeno	Cultura
Fungos	
<i>Alternaria solani</i>	tomate
<i>Bremia lactucae</i>	alface
<i>Cercospora longissima</i>	alface
<i>Colletotrichum coccodes</i>	tomate
<i>Didymella lycopersici</i>	tomate
<i>Erysiphe cichoracearum</i>	pepino
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>dianthi</i>	cravo
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	tomate
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-lycopersici</i>	tomate
<i>Leveillula taurica</i>	tomate
<i>Olpidium brassicae</i>	alface
<i>Phytophthora infestans</i>	tomate
<i>Phytophthora nicotianae</i>	tomate
<i>Plasmopara lactucae-radicis</i>	alface
<i>Pythium aphanidermatum</i>	tomate, espinafre

Tabela 9.1 – Continuação ...

Patógeno	Cultura
<i>Pythium debaryanum</i>	tomate
<i>Pythium dissotocum</i>	espinafre
<i>Pythium sylvaticum</i>	tomate
<i>Pythium ultimum</i>	alface, tomate, pepino
<i>Rhizoctonia solani</i>	tomate
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	alface
<i>Septoria lactucae</i>	alface
<i>Spongospora subterranea</i>	tomate
<i>Stemphylium solani</i>	alface
<i>Verticillium albo-atrum</i>	tomate
<i>Verticillium dahliae</i>	tomate
<i>Verticillium tricorpus</i>	tomate
<b>Bactérias</b>	
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	tomate
<i>Erwinia carotovora</i>	tomate
<i>Erwinia</i> spp.	alface
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	alface
<i>Pseudomonas cichorii</i>	alface
<i>Ralstonia solanacearum</i>	tomate
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	tomate
<b>Vírus</b>	
<i>Lettuce mosaic virus</i>	alface
Tospovirus	alface

Fonte: Almeida *et al.* (1999), Davies (1980), Ewart & Chrimes (1980), Lopes *et al.* (2000), Price & Maxwell (1980), Stanghellini & Rasmussen (1994) e Vanachter *et al.* (1983).

## PRINCIPAIS DOENÇAS RADICULARES EM CULTIVO HIDROPÔNICO

As culturas hidropônicas estão sujeitas a diversas doenças que afetam as raízes das plantas. Essas doenças são especialmente importantes, pois o patógeno de uma planta infectada é transmitido para plantas saudáveis, pela solução nutritiva que circula entre o sistema radicular, causando tombamento, murchas, podridão de raiz e colo e podridão mole. Apesar da importância desse sistema na agricultura sustentável, existem poucos trabalhos relacionados à diagnose e epidemiologia de doenças, ficando os mesmos restritos a ocorrência e controle.

### Tombamento de mudas

O tombamento de mudas é importante doença em sistemas hidropônicos, estando relacionado com o estabelecimento da cultura ainda nos berçários, pois ocorrem nos primeiros estádios de desenvolvimento da planta. Como consequência, a densidade desejável de plantio pode ser afetada negativamente, constituindo-se, portanto num sério problema para culturas como tomate, alface, espinafre e pepino, que são suscetíveis a espécies de *Pythium*, tais como: *P. aphanidermatum* e *P. dissotocum* (Lopes *et al.*, 2000); *P. debaryanum* e *P. sylvaticum* (Vanachter *et al.*, 1983) e; *P. ultimum* (Funck-Jensen & Hackenhull, 1983).

Os sintomas causados por *Pythium* spp. podem ser observados no caule, próximo a região do colo. Inicialmente as manchas apresentam-se encharcadas tornando-se de coloração escura e progridem para lesões deprimidas também de coloração escura, provocando o fendilhamento ou constrição do caule. O enfraquecimento do caule pode levar ao tombamento da plântula que é, então, colonizada e decomposta pelo fungo. Podem ocorrer sintomas nas raízes que ficam com coloração escurecida e em processo de apodrecimento.

Espécies de *Pythium* possuem hifas não septadas, finas e delgadas, que se ramificam intensamente, formando um micélio branco e esparso. Além da parte vegetativa, apresentam estruturas reprodutivas assexuadas, como esporângios e os esporangiósporos, e estruturas reprodutivas sexuadas, como anterídios, oogônio e oósporos. Na reprodução assexuada, as hifas produzem os esporângios intercalar ou apicalmente, sendo seu formato variável de lobulado a globoso. Os esporângios formam vesículas no interior das quais diferenciam-se esporângios biflagelados, denominados zoósporos, sendo essa fase importante para diferenciar dos gêneros *Pythium* e *Phytophthora*.

Sob condições ambientais favoráveis, este microrganismo se desenvolve através da formação de hifas, esporângios, zoósporos e escleródios e, sob condições adversas, conseguem garantir sua sobrevivência através de estruturas de resistência, como oósporos e esclerócios. *Pythium* é disseminado através de zoósporos, que devido à presença de flagelos, pode se locomover na água no sistema hidropônico recirculante.

O processo de infecção ocorre quando as hifas penetram o tecido vegetal de modo direto ou através de ferimentos. A partir desse estágio, a colonização do tecido através de pressões mecânicas, toxinas e enzimas pectinolíticas produzidas pelo patógeno, favorece o seu desenvolvimento inter e intracelularmente no tecido do hospedeiro formando novas estruturas vegetativas e reprodutivas, o que caracteriza a sua reprodução.

Algumas condições ambientais favorecem a doença sendo a mais importante a presença de alta umidade, pois favorece a proliferação do patógeno, que normalmente vive em ambiente aquático. Algumas espécies tais como, *P. aphanidermatum* desenvolvem-se melhor em temperaturas

mais altas (acima de 30°C) enquanto outras, tais como *P. ultimum* e *P. debaryanum*, são favorecidas pelas baixas temperaturas (menores que 20°C) (McCarter, 1991).

### **Murcha bacteriana**

A murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*, é uma das mais importantes doenças de plantas no mundo. A bactéria já foi relatada causando perdas em tomateiro cultivado em sistemas hidropônicos. É aeróbia, Gram negativa, bastonetiforme, possuindo um tufo de flagelos polares.

O sintoma inicial da doença é a murcha das folhas mais novas, nas horas mais quentes do dia. Em condições favoráveis ao desenvolvimento da doença, como alta temperatura e umidade, a murcha atinge toda a planta tornando-se irreversível e causando a sua morte. A intensidade dos sintomas varia com o isolado do patógeno e cultivar. Em condições desfavoráveis ao desenvolvimento da doença pode ocorrer infecção latente ou as plantas infectadas podem apresentar amarelecimento e subdesenvolvimento sem a ocorrência de murcha. É comum a formação de raízes adventícias nos caules de plantas afetadas. Internamente, além da descoloração e colapso dos vasos do xilema a nível macroscópico, ocorrem tiloses, dissolução de substâncias pécticas na lamela média e degradação da celulose nas paredes celulares. O sinal característico da murcha é a exsudação bacteriana a partir do tecido vascular em cortes de órgãos infectados (Goto, 1992). A observação do fluxo bacteriano pode ser visto a olho nu, quando uma seção da planta infectada é mergulhada em uma recipiente transparente com água limpa (teste do copo) (Lopes & Quezado-Soares, 1997).

A disseminação de *R. solanacearum* ocorre através da solução nutritiva, contato entre raízes, transmissão mecânica por diversos tratos culturais, mudas infectadas, sementes, insetos e homem. A sobrevivência e disseminação da bactéria são favorecidas por condições de alta umidade.

A penetração de *R. solanacearum* no hospedeiro ocorre através de ferimentos ou aberturas naturais, principalmente nas raízes, obstruindo os vasos transportadores de água e seiva, provocando o sintoma externo de murcha. Após a penetração, a bactéria coloniza os vasos do xilema, obstruindo-os e dificultando o fluxo de água. A colonização também provoca degradação das paredes e células do parênquima adjacente, originando cavidades no floema, medula e tecido cortical, principalmente em órgãos suculentos (Kurozawa & Pavan, 1997).

### **Murcha-de-fusário**

A murcha-de-fusário, causada por *Fusarium oxysporum* Schlech. f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen é uma das mais sérias doenças do tomateiro. Esta doença pode se manifestar em quaisquer estádios de desenvolvimento, mas é mais comum em plantas no início de florescimento e frutificação.

Sintomas nas folhas manifestam-se por amarelecimento forte, nas mais velhas, progredindo para as mais novas. Esse sintoma pode inicialmente ocorrer num lado da planta ou metade da folha. Os folíolos amarelos murcham e secam, mas as folhas ficam presas ao caule. Os sintomas internos são caracterizados pelo escurecimento dos vasos lenhosos da folha e do caule.

Este fungo produz macroconídios hialinos, alantóides, com 2 a 4 septos, de paredes finas e microconídios hialinos, elípticos, com uma ou duas células. Produz ainda clamidosporos de parede espessa e lisa e esporodóquios resultantes da aglomeração de conidióforos.

A disseminação pode ocorrer pela solução nutritiva, vento, tratos culturais, sementes e mudas contaminadas. Quando o patógeno entra em contato com as raízes de plantas de tomateiro, as estruturas de resistência podem germinar sob estímulo de exsudatos produzidos pela planta, dando início à infecção. A penetração ocorre através da raiz principal, radículas e pêlos absorventes ou por ferimentos, sendo a colonização desenvolvida com o crescimento intercelular das hifas em direção aos vasos do xilema. O patógeno permanece confinado ao xilema e, a partir daí, distribui-se por toda a planta. Com a evolução da doença, tem início a obstrução e o escurecimento dos vasos. Essa obstrução é consequência do acúmulo de micélio, esporos, gomas e tiloses, e a constrição do vaso é provocada pela proliferação das células adjacentes que compõem o tecido parenquimatoso. Os sintomas de murcha surgem em consequência deste bloqueio, impedindo a absorção da água pelo sistema radicular da planta. Nos casos em que a planta consegue sobreviver ao ataque do patógeno, o fungo pode colonizá-la sistemicamente, comprometendo seu desenvolvimento e infectando as sementes. O diagnóstico faz-se retirando as folhas com sintomas típicos da doença nas quais aparecem vasos com escurecimento característico e diferente do normal (Moraes, 1997). O desenvolvimento da doença é favorecido por temperaturas entre 21 e 33°C, sendo o ótimo a de 28°C (Jones, 1991).



## Podridão da raiz e do colo

O fungo *Fusarium oxysporum* Schlech. f.sp. *radicis-lycopersici* Jarvis & Shoem. é o agente causal da podridão da coroa e da raiz em tomateiro cultivado em hidroponia. Este patógeno pode atacar plantas desde seu estágio inicial de desenvolvimento até o estágio adulto. As plantas jovens, de modo geral, oferecem menor resistência ao ataque do patógeno do que as mais velhas e têm sua produtividade sensivelmente reduzida.

Os sintomas de podridão do sistema radicular têm início com o escurecimento das raízes mais novas e progridem para as raízes mais velhas. Este escurecimento é gradual, começando com leve tonalidade marrom ou marrom-avermelhada, acentuando-se à medida que a doença progride. No final do processo, as raízes atacadas apresentam-se de coloração marrom escura ou totalmente negra. O sintoma de escurecimento é acompanhado pelo processo de decomposição; as raízes totalmente escurecidas, de modo geral, desintegram-se quando submetidas a leves pressões. Os sintomas em raízes individualizadas podem ter início pela extremidade, expressando-se também através de escurecimento.

Na podridão do colo, as lesões apresentam-se no caule, geralmente deprimidas, de coloração marrom, sendo que estruturas do fungo (hifas, escleródios) podem estar associadas a elas. Em caules tenros, o desenvolvimento da lesão pode levar ao enfraquecimento da região atacada, tornando a planta suscetível ao tombamento. É comum, também, a ocorrência de estrangulamento da planta.

*Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* possui dois tipos de esporos assexuados, os micro e macroconídios, sendo os primeiros ovalados, uni ou bicelulados e formados em grande quantidade, nas extremidades de microconidióforos. Os macroconídios são fusiformes, multiseptados, origina-se a partir de conidióforos emergentes de esporodóquios e são, em média, quatro vezes maiores que os microconídios. Clamidosporos também são produzidos abundantemente pelas hifas; variam de globosos a ovais, apresentam parede lisa ou rugosa e são formados no ápice ou podem ser intercalares em relação à hifa.

A disseminação das estruturas fúngicas pode ocorrer através da solução nutritiva. As raízes da planta hospedeira estimulam a germinação de estruturas dos fungos ou o crescimento de hifas, iniciando o processo de infecção. A penetração ocorre através de ferimentos naturais e artificiais. As hifas crescem inter e intracelularmente e, sob condições de alta umidade e temperatura entre 25 e 35°C, promovem a reprodução do patógeno, formando-se novas hifas e estruturas reprodutivas.

A colonização dos tecidos é auxiliada pela ação de substâncias químicas do tipo ácidos orgânicos, toxinas e enzimas, todas produzidas pelo patógeno.

A atuação conjunta de mecanismos químicos e mecânicos promove a morte das células e, posteriormente, a decomposição do tecido (Paulus, 1991).

### **Podridão mole**

A espécie *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Bergey *et al.* é responsável por sérias perdas econômicas nas culturas do tomateiro e alface em cultivo hidropônico. Os isolados da bactéria são anaeróbios facultativos, Gram negativos, bastonetiforme, com bastonetes peritríquios e altamente móveis.

O sintoma inicial de podridão mole é o aparecimento de pequenas lesões encharcadas, que aumentam rapidamente e causam extensiva maceração (Goto, 1992) e apodrecimento do tecido parenquimatoso do órgão afetado; no entanto, sintomas iniciais podem ser completamente diferentes, especialmente dependendo do crescimento da planta (Stanghellini & Meneley, 1975). A disseminação ocorre através da solução nutritiva contaminada e insetos.

A incidência da doença aumenta bastante quando plantas hospedeiras são feridas em função de práticas culturais, contato de plantas entre si, ou por insetos (Goto, 1992). Quando a bactéria penetra o órgão vegetal, produz pectinases que degradam enzimaticamente a lamela média, fazendo com que o tecido perca sua rigidez, tornando-se mole (Goodman *et al.*, 1986). Subseqüentes fermentações e concomitante invasão do tecido em colapso por saprófitas ocasionam o desprendimento de gases com odor desagradável (Romeiro, 1995). Estas bactérias dependem em grande parte de fatores ecológicos como temperatura e concentração de oxigênio para iniciar a infecção, bem como para a produção e severidade dos sintomas (Hayward & Mariano, 1997). Além das enzimas pectinolíticas, celulasas e proteases podem também estar envolvidas.

## **PRINCIPAIS DOENÇAS DE PARTE AÉREA EM CULTIVO HIDROPÔNICO**

As doenças de parte aérea apresentam-se inicialmente na cultura oriunda de sementes contaminadas, de mudas doentes ou da entrada de esporos de fungos, colônias de bactérias e insetos vetores de viroses na estrutura de proteção. Uma vez presentes, encontram condições ótimas de desenvolvimento devido à alta umidade do ambiente e a baixa ventilação do sistema fechado, condições climáticas normais neste tipo de cultivo (Lopes *et al.*, 2000).

## Requeima

A requeima, causada por *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary, é uma doença altamente destrutiva à cultura do tomateiro, pela rapidez na colonização de toda a parte aérea da planta e na disseminação do patógeno, estando relacionada à persistência de baixas temperaturas e alta umidade.

O fungo ataca toda a parte aérea da planta, mas em geral, a doença inicia-se pelos tecidos situados em sua metade superior. Nos folíolos, os primeiros sintomas surgem como manchas irregulares, de tecido encharcado verde-escuro, que pode aumentar rapidamente de tamanho e tomar grandes áreas. Com a evolução da doença, essas áreas passam a ter coloração pardo-escuro com uma estreita faixa de tecido túrgido entre o tecido necrosado e o sadio. A coalescência das manchas pode destruir a maioria das folhas em pouco tempo. Sintomas nos ramos, pecíolos e ráquis são pardo-escuros no início e pardo-claros no estágio mais desenvolvido da doença, podendo haver anelamento dos mesmos, o que acarreta a morte da parte superior. Nos frutos, em qualquer estágio, as lesões são do tipo duras, de cor pardo-escuras, profundas e de superfície irregular. Em ambiente úmido, sobre a superfície afetada podem ser visualizados os sinais da doença, representados pelo surgimento de um micélio branco-cinza (Kurozawa & Pavan, 1997).

O fungo produz esporângios hialinos, com formato de limão e papilados. Os esporangióforos são bem desenvolvidos, com ramificação simpodial, que emergem através dos estômatos num número variável de 3 a 5. Os esporângios são formados durante o período de alta umidade relativa (91-100%) e de temperaturas ótimas entre 18-22°C. Em condições úmidas, podem germinar diretamente ou produzir zoósporos biflagelados. Cada zoósporo pode nadar na solução nutritiva, sobre o tecido da planta, encistar, germinar e penetrar iniciando um novo ciclo (Stevenson, 1991) Contudo em ambiente protegido, a agressividade é normalmente menor, pois a temperatura diurna interna sempre está acima da temperatura externa. Neste caso, o sintoma pode ser diferente do apresentado em campo, onde a lesão na superfície inferior das folhas pode não aparecer. A temperatura diurna mais elevada também desfavorece o desenvolvimento da doença (Moraes, 1997). A disseminação do patógeno ocorre principalmente pela solução nutritiva, ar/vento e insetos.

## Cercosporiose

Na cultura da alface, quando as plantas atingem a maturação, tornam-se muito suscetíveis à cercosporiose, causada por *Cercospora longissima* (Cugini) Sac., limitando a produção.

*Cercospora longissima* possui hifa septada, delgada e hialina, mas posteriormente adquire pigmentação escura. Em cultura, o micélio maduro geralmente varia de verde escuro à marrom escuro. Os conidióforos são anfígenos, fasciculados, com coloração marrom olivácea, não ramificados e septados, suportando conídios sobre seu ápice. Os conídios são grandes e conspicuos, hialinos, com formato cilíndrico a obclavado com base mais alargada e ápice mais fino. Eles variam de 11 a 170 µm de comprimento e 7,5 a 3,8 µm de largura.

A infecção ocorre nas folhas mais velhas e baixas. As lesões têm tamanhos variados, tornando-se irregulares ou angulares com coloração que varia de marrom claro até marrom escuro circundadas por tecido clorótico. As lesões podem coalescer atingindo extensas áreas do tecido foliar levando a morte da planta quando a doença apresenta alta severidade. A disseminação ocorre principalmente por meio dos conídios e é excessivamente dependente do período de molhamento foliar. A germinação dos conídios ocorre apenas na presença de alta umidade ou sob condições atmosféricas quase saturadas. A duração de molhamento das folhas por mais de 24 horas propicia o desenvolvimento do tubo germinativo e favorece a penetração através dos estômatos, não necessitando de apressórios. Após a germinação, o micélio ramifica-se muitas vezes, facilitando a colonização intercelular no tecido do hospedeiro. Em temperatura ótima de 25°C, os tecidos suscetíveis são rapidamente colonizados pelo avanço das hifas e os sintomas poderão aparecer dentro de três dias após a inoculação (Raid, 1997).

## Outras doenças

O míldio da alface, causado por *Bremia lactucae* Regel, é uma doença que ocorre em condições ambientais de alta umidade e temperatura amena a baixa. São sintomas deste fungo, manchas cloróticas nas folhas, de tamanho variável, que evoluem para necróticas de coloração parda. Na face inferior das áreas afetadas, pode-se observar os sinais da doença, com frutificações do fungo de aspecto branco, constituídas de esporangióforos e esporângios (Pavan & Kurozawa, 1997).

A doença decorrente da infecção de *Septoria lactucae* Passerini, a septoriose, destaca-se também em importância na cultura da alface, pois as lesões provocadas nas folhas depreciam o valor comercial do produto. Os

sintomas apresentam-se com contorno irregular sobre o tecido foliar que inicialmente possui aspecto desidratado, torna-se pardacento, com numerosos pontos de cor escura, os picnídios (corpos de frutificação). O fungo produz conídios filiformes, multiseptados e hialinos no interior de picnídios. A penetração ocorre geralmente via estômatos (Pavan & Kurozawa, 1997).

A bacteriose causada por *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. em alface, provoca manchas necróticas isoladas no centro ou bordos do limbo foliar, podendo alcançar quase toda a nervura central. As lesões inicialmente apresentam-se encharcada e com coloração escura, o tecido foliar pode murchar e apodrecer. O sistema radicular também é afetado e pode ficar reduzido ou evoluir para podridão acompanhado de morte das folhas mais baixas. Este sintoma, não ocorre em plantios convencionais (Almeida *et al.*, 1999). *P. cichorii* é uma bactéria Gram negativa, bastonetiforme, e em culturas contendo o meio de King B apresentam pigmento fluorescente (Hildebrand *et al.*, 1988).

## **MANEJO DE DOENÇAS**

Em cultivos hidropônicos, nos quais existe uma baixa população de microrganismos competidores, quando um patógeno se estabelece infectando a raiz, o controle é freqüentemente difícil, mas pode ser alcançado algumas vezes. A escolha de uma estratégia de controle vai depender da identificação precisa do patógeno causador da podridão (Stanghellini & Rasmussen, 1994). Existem vários métodos de controle, dentre eles: métodos biológicos, culturais, físicos e químicos.

### **Métodos biológicos**

#### **Uso de cultivares resistentes**

A primeira linha de defesa contra um fitopatógeno é o uso de cultivares resistentes. A identificação precisa do patógeno, ao nível de espécie, é imprescindível na seleção de cultivares apropriadas. Infelizmente, poucas cultivares são resistentes a *Fusarium* spp. enquanto que para *Plasmopara lactucae-radice* elas estão disponíveis (Stanghellini & Rasmussen, 1994).

#### **Uso de microrganismos antagonistas**

O uso de microrganismos antagonistas, particularmente em lã de rocha, tem sido o objetivo de recentes pesquisas (Eparvier *et al.*, 1991; Lemanceau

& Alabouvette, 1991), e os resultados dessas pesquisas parecem promissores. Entretanto, a maioria dos produtos biológicos não tem registro para uso em sistemas hidropônicos comerciais. O único produto registrado é o Mycostop à base de *Streptomyces griseoviridis*. Este produto é mais eficiente contra espécies de *Fusarium* (Stanghellini & Rasmussen, 1994). O isolado Pf15 de *Pseudomonas fluorescens* quando introduzido na solução nutritiva, em condições controladas, aumentou significativamente a produção de frutos de pepino em, aproximadamente, 600% e reduziu o desenvolvimento de *P. aphanidermatum* (Rankin & Paulitz, 1994). A utilização de agentes de biocontrole, como tratamento profilático, oferece uma vantagem competitiva já que nos sistemas hidropônicos há uma baixa população microbiana, favorecendo, assim, o estabelecimento de agentes de biocontrole. Também, nesses sistemas, os cultivos são feitos em ambientes controlados, eliminando a variabilidade que ocorre em condições de campo (Melo & Faull, 2000).

## **Métodos culturais e físicos**

### **Sanitização**

A remoção de todas as plantas ou restos culturais infectados, bem como, quanto a desinfestação de equipamentos e substratos reciclado, é imprescindível para a manutenção de um sistema livre de patógenos. Isto é importante no berçário, devendo estar localizado num lugar de fácil acesso, separado fisicamente da área de produção e não deve usar a mesma solução nutritiva empregada na produção (Stanghellini & Rasmussen, 1994).

### **Tratamento da solução nutritiva infestada**

Numerosos métodos têm sido propostos para a eliminação de patógenos oriundos de soluções nutritivas infestadas. Tais métodos incluem filtração, ozonização, irradiação ultravioleta e inativação térmica (Ewart & Chrimes, 1980; Goldberg & Stanghellini, 1992; Runia *et al.*, 1988; Stanghellini *et al.*, 1984).

#### **Filtração da solução nutritiva**

Na Europa, Japão e USA existem no mercado filtros de membrana, finos o suficiente para reter bactérias. Tais filtros são contidos em cartuchos, que podem tratar cerca de 12 m<sup>3</sup> de solução por dia. Periodicamente os filtros devem ser limpos com alta pressão ou produtos químicos adequados. Sua vida útil varia entre 3 e 4 anos (Martinez & Silva Filho, 1997; Goldberg & Stanghellini, 1991). A ultrafiltração mostrou-se efetiva para *F. oxysporum*

f.sp. *lycopersici*, *Verticillium albo-atrum* e *P. aphanidermatum* (Lopes *et al.*, 2000).

#### Irradiação com luz ultravioleta

Lâmpadas de ultravioleta devem ser instaladas em algum ponto de passagem da solução nutritiva. Uma lâmpada de 2,5 kW pode tratar 10 m<sup>3</sup> de solução por hora e tem uma vida útil de 8000 horas. Por se tratar de radiação ionizante, as lâmpadas de ultravioleta devem ser protegidas, de modo a não causar problemas a pessoas que manuseiem o sistema (Martinez & Silva Filho, 1997; Stanghellini *et al.*, 1984). A radiação da solução nutritiva com ultravioleta tem se mostrado eficiente para o controle de patógenos como *P. aphanidermatum* e *P. cinnamomi*. Entretanto, este tipo de radiação pode não reduzir a população de outros fungos. É preciso, portanto, aplicar a dose de radiação adequada para cada espécie de fungo, para obtenção de resultados satisfatórios. Além disso, a destruição de quelato de ferro após a radiação com ultravioleta leva a planta à clorose foliar (Lopes *et al.*, 2000).

#### Pasteurização

Consiste em aquecer a solução nutritiva a 95-105°C em um período de 30 segundos. A solução deve permanecer nessa temperatura por 10 a 30 segundos e em seguida ser resfriada à temperatura ambiente em tempo igual ao gasto para o aquecimento. O equipamento pasteurizador deve ser colocado no canal de retorno da solução nutritiva ao tanque de armazenamento (Martinez & Silva Filho, 1997).

#### Ozonização

O ozonizador pode ser colocado entre a tubulação de retorno e o tanque de armazenamento da solução. Neste caso, além da destruição dos microrganismos, há a reposição de oxigênio para a solução (Martinez & Silva Filho, 1997). O borbulhamento de ozônio na solução nutritiva inibe o crescimento de *P. nicotianae*, *V. dahliae*, *V. albo-atrum* e *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Entretanto, destruição de quelatos de ferro também pode ocorrer pelo tratamento com ozônio (Lopes *et al.*, 2000).

## Calor

A esterilização da solução de nutrientes pelo calor, antes de sua recirculação, apresentou resultados inconsistentes, podendo ainda precipitar o cálcio na solução (Lopes *et al.*, 2000).

Embora alguns destes métodos tenham demonstrado serem eficientes experimentalmente, a aplicação bem sucedida para grandes sistemas comerciais é freqüentemente de custo proibitivo. Grandes sistemas comerciais requerem solução nutritiva corrente, freqüentemente excedendo 1.000 L/minuto. A esterilização de grandes volumes de solução nutritiva, particularmente em sistemas fechados onde não há timer, é praticamente impossível (Stanghellini & Rasmussen, 1994).

## Manipulação do ambiente

Os fatores ambientais mais importantes conhecidos por governar o ciclo de vida de patógenos que infectam raízes e ciclos da doença são temperatura e umidade. A hidroponia proporciona um ambiente saturado constante. Assim, o manejo da umidade na zona da raiz terá um impacto mínimo nos patógenos. Entretanto, a temperatura da solução nutritiva pode ser manipulada. Se as necessidades de temperatura dos patógenos de raiz são conhecidas, as temperaturas da solução nutritiva podem ser aumentadas ou baixadas para retardar o desenvolvimento do patógeno. Por exemplo, espinafre, pepino e tomate são atacados por *P. aphanidermatum*. Este fungo é mais destrutivo em temperaturas acima de 25°C. Da mesma forma *P. lactucae-radicis*, um patógeno de raízes de alface, é favorecido por temperaturas acima de 20°C. Assim, baixando a temperatura da solução nutritiva resultará em controle econômico destes dois patógenos de raiz. Em contrapartida, *Phytophthora cryptogea*, um patógeno de raiz de tomate, é favorecido por baixas temperaturas a 25°C (Kennedy & Peg, 1990; Kennedy *et al.*, 1993). Estes exemplos ilustram a necessidade da identificação precisa do agente causal da doença.

## Métodos químicos

### Fungicidas

A adição de fungicidas na solução nutritiva recirculante é obviamente um método eficiente no controle da doença. Contudo, nenhum fungicida é registrado para o uso em sistemas hidropônicos. As razões para a falta de produtos registrados são numerosas: i) a maioria dos fungicidas tem um



período de carência entre a aplicação e a colheita, e a maioria dos cultivos hidropônicos comerciais colhem todo dia; ii) a área limitada de hidroponia não garante o custo de registro e; iii) a probabilidade de desenvolvimento de resistência do patógeno é muito alta (Stanghellini & Rasmussen, 1994). Em estudos realizados por Bates & Stanghellini (1984), o fungicida metalaxil foi eficiente na prevenção da podridão de raiz do espinafre; contudo este produto químico não tem registro atualmente para uso em hortaliças em estufa.

### Outros biocidas

A suplementação da solução nutritiva com silicato de potássio (Chérif & Bélanger, 1992) e quitosan (El Ghaouth *et al.*, 1994) tem sido recentemente relatado por controlar certos patógenos infectando raiz em hidroponia. Os resultados destes estudos preliminares parecem promissores, mas nenhum está atualmente registrado para uso comercial. A incorporação de silicato de potássio na solução de nutrientes reduz a severidade de *P. ultimum* em pepino. O acúmulo de silício na parede das células da planta provavelmente reduz a penetração das hifas do fungo e estimula os mecanismos de defesa do hospedeiro. A adição de silício à solução hidropônica como silicato de potássio a 100 ppm proporcionou aumento da resistência de plantas de pepino ao oídio, causado por *Erysiphe cichoracearum* (Lopes *et al.*, 2000). Em adição aos dois produtos químicos citados acima, surfactantes também exibem promessa no controle de doenças de raiz causado por fungos zoospóricos. Em 1980, Tomlinson & Faithfull demonstraram controle comercial eficiente da doença “big vein” da alface, a qual é causada por um vírus veiculado pelo fungo *Olpidium brassicae*. Zoósporos de *O. brassicae*, *Pythium* e *Phytophthora*, são rapidamente mortos, via dissolução da membrana que encapsula os zoósporos, quando expostos aos surfactantes (Stanghellini & Tomlinson, 1987). Avaliações da eficácia dos surfactantes para o controle da podridão de raiz de pepino e tomate causado por *P. aphanidermatum* e duas espécies de *Phytophthora*, respectivamente, estão atualmente em progresso. Resultados preliminares indicam completa supressão da dispersão do zoósporo num sistema de lã de rocha recirculante (Stanghellini & Rasmussen, 1994). A adição à solução nutritiva de agentes tensoativos não iônicos, como Agral 20 mg/L, proporcionou o controle de patógenos que produzem zoósporos. Estes resultados necessitam de estudos complementares nas condições brasileiras, já que foram obtidos em países de clima temperado (Lopes *et al.*, 2000). O aumento para 4 mg/L da concentração de cobre na solução, no sistema NFT, resultou no controle de algumas doenças fúngicas. Deve-se levar em conta que este nível de cobre pode ser fitotóxico a algumas espécies ou cultivares (Lopes *et al.*, 2000).

## BIBLIOGRAFIA

- Almeida, I.M.G.; Malavolta Jr., V.A.; Malavolta, V.M.A. Colo preto da alface causado por *Pseudomonas cichorii*. O Biológico 61: 1-4, 1999.
- Bates, M.L.; Stanghellini, M.E. Root rot of hydroponically grown spinach caused by *Pythium aphanidermatum* and *P. dissotocum*. Plant Disease 68: 989-991, 1984.
- Chérif, M.; Bélanger, R.R. Use of potassium silicate amendments in recirculating nutrient solutions to suppress *Pythium ultimum* on long English cucumber. Plant Disease 76: 1008-1011, 1992.
- Davies, J.M.L. Disease in NFT. Acta Horticulturae 98: 299-305, 1980.
- El Ghaouth, A.; Arul, J.; Grenier, J.; Benhamou, N.; Asselin, A.; Belanger, R. Effect of chitosan on cucumber plants: supression of *pythium aphanidermatum* and induction of defense reactions. Phytopathology 84: 313-320, 1994.
- Eparvier, A.; Lemanceau, P.; Alabouvette, C. Population dynamics of non-pathogenic *Fusarium* and fluorescent *Pseudomonas* strains in rockwool, a substratum for soilless culture. FEMS Microbiology of Ecology 86: 177-184, 1991.
- Ewart, J.M.; Chrimes, R.J. Effects of chlorine and ultra-violet light in disease control in NFT. Acta Horticulturae 98: 317-323, 1980.
- Funk-Jensen, D.; Hackenhull, J. The influence of some factors on the severity of *Pythium* root rot of lettuce in soilless (hydroponic) growing systems. Acta Horticulturae 33: 129-136, 1983.
- Goldberg, N.P.; Stanghellini, M.E. The potential use of a bacteria as biological control agent for *Pythium* in hydroponics. Phytopathology 81: 1345, 1991.
- Goldberg, N.P.; Stanghellini, M.E.; Rasmussen, S.L. Filtration as a method for controlling *Pythium* root rot of hydroponically grown cucumbers. Plant Disease 76: 777-779, 1992.
- Goodman, R.N.; Kiraly, Z.; Wood, K.R. The biochemistry and physiology of plant disease. Columbia: University of Missouri Press, 1986. 433p.
- Goto, M. Fundamentals of bacterial plant pathology. San Diego: Academic Press, 1992. 324p.
- Hayward, A.C.; Mariano, R.L.R. Mecanismos de virulência e patogenicidade de procariotos em plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas 5: 199-234, 1997.

- Hildebrand, D.C.; Schroth, M.N.; Sands, D.C. *Pseudomonas*. In: Shaad, N.W. (Ed.) Plant pathogenic bacteria. St. Paul: APS Press, 1988. p. 60-80.
- Jones, J.P. Fusarium wilt. In: Jones, J.B.; Jones, J.P.; Stall, R.E.; Zitter, T.A. (Eds.). Compendium of tomato diseases. St. Paul: APS Press, 1991. p.15.
- Kennedy, R.; Peg, G. F. *Phytophthora cryptogea* root rot of tomato in rockwool nutrient culture. II. Effect of root zone temperature on infection, sporulation and symptom development. Annals of Applied Biology 117: 537-551, 1990.
- Kennedy, R.; Peg, G. F.; Welham, S.J. *Phytophthora cryptogea* root rot of tomato in rockwool nutrient culture. III. Effect of root zone temperature on growth and yield of winter-grown plants Annals of Applied 123: 563-578, 1993.
- Kurozawa, C.; Pavan, M.A. Doenças do tomateiro. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Resende, J.A.M.(Eds.). Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.690-719.
- Lemanceau, P.; Alabouvette, C. Biological control of Fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. Crop Protection 10: 279-286, 1991.
- Lopes, C.A.; Quezado-Soares, A.M. Doenças bacterianas das hortaliças: diagnose e controle. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1997. 70p.
- Lopes, C.A.; Zambolim, L.; Makishima, N. Doenças em cultivos hidropônicos e medidas de controle. In: Zambolim, L.; Vale, F. X. R.; Costa, H. (Eds.) Controle de doenças de plantas - hortaliças. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. p.621-636.
- Martinez, H. E. P.; Silva Filho, J.B. Introdução ao cultivo hidropônico de plantas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. 52 p.
- McCarter, S.M. *Pythium* Diseases. In: Jones, J.B.; Jones, J.P.; Stall, R.E.; Zitter, T.A. (Eds.). Compendium of tomato diseases. St. Paul: APS Press, 1991. p.20-21.
- Melo, I. S.; Faull, J. L. Tombamento de plântulas e controle biológico de *Rhizoctonia solani* e *Pythium* spp. In: Melo, I. S.; Azevedo, J.L. (Eds.) Controle biológico. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p.237-262.
- Moraes, C.A.G. Hidroponia: como cultivar tomates em sistema NFT (Técnica do fluxo laminar de nutrientes). Jundiaí: DISQ Editora, 1997. 146p.

- Paulus, A.O. Fusarium crown and root rot. . In: Jones, J.B.; Jones, J.P.; Stall, R.E.; Zitter, T.A. (Eds.). Compedium of tomato diseases. St. Paul: APS Press, 1991. p.14.
- Pavan, M.A.; Kurozawa, C. Doenças da alface. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Resende, J.A.M. (Eds.). Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.18-25.
- Price, T.V.; Maxwell, M.K. Studies of disease problems and their control in hidroponics in Australia. Acta Horticulturae 98: 307-332, 1980.
- Raid, R.N. Cercospora leaf spot. In: Davis, R.M.; Subbarao, K.V.; Raid, R.N.; Kurt, E.A. Compedium of lettuce diseases. St. Paul: APS Press, 1997. p.16-17.
- Rankin, L.; Paulitz, T.C. Evaluation of rhizosphere bacteria for biological control of *Pythium* root rot of greenhouse cucumbers in hydroponic culture. Plant Disease 78: 447-451, 1994.
- Romeiro, R.S. Bactérias fitopatogênicas. Viçosa: Imprensa Universitária - UFV, 1995. 283p.
- Runia, W.Th.; Van Os, E.A.; Bollen, G.J. Disinfection of drainwater from soilless cultures by heat treatment. Netherlands Journal of Agricultural Science 36: 231-238, 1988.
- Stanghellini, M.E.; Stowell, L.J.; Bates, M.L. Control of root rot of spinach caused by *Pythium aphanidermatum* in a recirculating hydroponic system by ultraviolet irradiation. Plant Disease 8: 1075-1076, 1984.
- Stanghellini, M.E.; Rasmussen, S.L. Hydroponics – a solution for zoosporic pathogens. Plant Disease 78: 1129-1138, 1994.
- Stanghellini, M.E.; Tomlinson, J.A. Inhibitory and lytic effects of a nonionic surfactant on various asexual stages in the life cycle of *Pythium* and *Phytophthora* species. Phytopathology 77: 112-114, 1987.
- Stanghellini, M.E.; Meneley, J.C. Identification of soft rot *Erwinia* associated with blackleg of potato in Arizona. Phytopathology 65: 86-87, 1975.
- Stevenson, W.R. Late Blight. In: Jones, J.B.; Jones, J.P.; Stall, R.E.; Zitter, T.A. Compedium of tomato diseases. St. Paul: APS Press, 1991. p.17-18.
- Tomlinson, J.A.; Faithfull, E.M. Studies of the control of lettuce big- vein disease in recirculated nutrient solutions. Acta Horticulturae 98:325-331, 1980.
- Vanachter, A.; Van Wambeke, E.; Van Assche, C. Potential danger for infection and spread of root diseases of tomatoes in hydroponics. Acta Horticulturae 133: 293-297, 1983.

# BIOTECNOLOGIA E PROTEÇÃO DE PLANTAS

LUCIANE VILELA RESENDE  
MAIRON MOURA DA SILVA

## INTRODUÇÃO

Desde o início da domesticação das plantas ou da agricultura propriamente dita, a 12.000 anos atrás, tem se observado modificações de diversas maneiras, tanto nas espécies cultivadas como no ambiente. Estas modificações vieram por meio da seleção de características convenientemente específicas, provocando alterações nos processos reprodutivos, bioquímicos e fisiológicos das espécies, ora cultivadas. Isto ocasionou no surgimento de plantas mais produtivas, mais uniformes genotípica e fenotípicamente, implementando o cultivo de determinadas variedades, em grande escala. O exemplo mais marcante dessas modificações se deu por volta de 1950, com a chamada “Revolução verde”. A Revolução verde baseou-se na alta produtividade das cultivares, em função do elevado uso de insumos. Borlaug (1970) obteve variedades de trigo de porte anão, resistentes ao acamamento e capazes de responder a altos teores de adubação. Essas variedades, amplamente cultivadas, possuem pouca biomassa, porém produzem uma grande quantidade de grãos. Em termos fisiológicos, isto representa uma baixa relação fonte-dreno para fotoassimilados, isto é, a redução da área foliar não supri totalmente as necessidades das plantas, deixando-as mais suscetíveis ao ataque de pragas e patógenos, menos competitivas em relação as plantas ditas daninhas, bem como a variações no ambiente (Zadoks, 1997). A associação desses dois fatores, ou seja, da “padronização” das espécies cultivadas, reduzindo a variabilidade genética e a modificação dos ecossistemas naturais proporcionou uma extrema vulnerabilidade às plantas cultivadas, deixando-as mais sensíveis à ação de agentes externos. Alterações drásticas também foram sentidas no ambiente em função das práticas de cultivo cada vez mais modernas e mais agressivas ao meio, e da abertura de novas fronteiras agrícola, culminando na destruição dos ecossistemas naturais.

Estudos tem mostrado que danos provocados por pragas e patógenos atingem tamanha dimensão, chegando a limitar o cultivo de determinadas espécies em determinadas regiões. Os prejuízos causados por pragas e ervas daninhas representam aproximadamente 15 e 7%, respectivamente, da produção mundial (Farah, 1997), enquanto que o ataque de fitopatógenos reduz o potencial de produção nos países desenvolvidos em média de 15 a 20%. Casos isolados ao longo da história da agricultura mostram quadros alarmantes de perdas que chegam até 100% (Zambolim *et al.*, 2000). Esses fatos levaram e continuam levando o homem a uma constante busca por novas tecnologias voltadas para uma efetiva proteção das culturas ao longo do desenvolvimento da agricultura.

As primeiras medidas de proteção de plantas foram adotadas por produtores, através de uma seleção empírica de indivíduos mais tolerantes ou remanescentes de epidemias. As sementes destes indivíduos eram coletadas e utilizadas na próxima safra. No século XIX, agricultores britânicos e alemães passaram a cultivar batata a partir de sementes em função da degenerescência, hoje sabemos, causada por vírus. Com isso eles conseguiram eliminar várias viroses e ao mesmo tempo criaram novos genótipos (Vanderplanck 1968). Após o redescobrimto das leis de Mendel no início do século XX, a seleção tornou-se mais consciente, com amplas bases científicas, porém em alguns casos, não menos empírica, a exemplo do relato de Vanderplanck (1968), sobre a obtenção do milho resistente a *Puccinia polysora* Underw. no Oeste Africano por produtores, por volta de 1950, a partir da seleção das melhores espigas. Atualmente, aproximadamente 50% das doenças importantes são controladas por variedades resistentes. A maioria das cultivares apresentam somente resistência horizontal, sendo necessário o uso de outras práticas de controle para manter baixa a população do patógeno (Zambolim *et al.*, 2000). O uso de variedades resistentes tem se mostrado como o mais efetivo método de controle de pragas e doenças.

Outras medidas de controle constituem-se nas técnicas culturais que envolvem rotação de culturas, destruição de plantas doentes e capinas. Porém, o uso de pesticidas tornou-se massificado, em função dos resultados imediatos e crescente nos países em desenvolvimento, ao contrário dos países desenvolvidos, onde observa-se anualmente uma redução no uso devidoas fortes pressões sociais (Castro, 1992). No entanto os danos ao ambiente tem sido consideráveis.

Os conhecimentos obtidos nos últimos anos possibilitou o surgimento da Biotecnologia proporcionando grandes avanços no tocante à proteção de plantas. Biotecnologia, refere-se a qualquer técnica que utilize organismos vivos ou suas partes para fazer ou modificar produtos, melhorar plantas e animais, ou desenvolver microorganismos para fins específicos (Ramalho *et*

al., 2000). O termo geral, Biotecnologia também é usado para incluir as aplicações dos atuais métodos científicos e técnicas de modificações, bem como melhoramento de sistemas biológicos em plantas, animais, microorganismos ou cultura de células (Lewin, 2000; Mantell *et al.*, 1994). Essas tecnologias permitiram uma ampla exploração do conhecimento, até mesmo de forma revolucionária e especulativa.

No âmbito da proteção de plantas, a biotecnologia tem sido utilizada tanto no aspecto da cultura de tecidos vegetais, como no campo da tecnologia do DNA recombinante (r-DNA) ou engenharia genética. Dentro deste último, a transformação genética avançou significativamente em função do desenvolvimento da cultura de tecidos (Brasileiro & Dusi, 1999). A incorporação de genes via transformação genética, depende da cultura de células, tecidos ou órgãos para a regeneração de plantas *in vitro* (Ferreira *et al.*, 1999).

## **APLICAÇÕES DA BIOTECNOLOGIA NA PROTEÇÃO DE PLANTAS**

### **Controle biológico de pragas**

Devido aos problemas que surgem com o uso de pesticidas aumenta a necessidade de incentivos a um manejo mais racional dos agroecossistemas, com emprego de práticas integradas, incluindo a resistência genética de cultivares, o uso de elementos sadios de propagação vegetal, e o controle biológico natural e aplicado.

O uso de inseticidas microbianos encontra-se regulamentado em diversos países, inclusive no Brasil. Tais medidas normativas, prescritas por entidades governamentais inclui o registro dos bionseticidas e acham-se ligados à segurança oferecida aos usuários, impactos ao meio ambiente e implicações na saúde pública. Algumas dessas exigências vêm limitando o emprego dos defensivos biológicos, inclusive aqueles obtidos através da manipulação genética.

O primeiro registro em 1950, de um produto alternativo utilizado no controle biológico de insetos, foi a base de uma bactéria do gênero *Bacillus* (*B. popilliae*). Posteriormente em 1960, surgiram os primeiros estudos utilizando *B. thuringiensis*, que em função das possibilidades de contaminação das culturas, mutações e da potencialidade de contaminação de mamíferos, retardou sua liberação para fins comerciais. Atualmente vários produtos a base de *B. thuringiensis* são usados em todo o mundo (Castro 1992). No Brasil, o mais conhecido é o Dipel.

Os fungos também preenchem um importante papel no biocontrole de insetos, principalmente aqueles dotados de aparelho bucal sugador (Hemiptera, Homoptera). Estudos tem mostrado que os fungos com maior potencial para controle biológico aplicado, tanto o clássico (patógenos exóticos à região) como o aumentativo (patógenos nativos na região), são os Hifomicetos. Destacam-se os gêneros *Metarrhizium* spp., *Beauveria* spp., *Nomurea riley* spp. e *Verticillum lecanii*, classificados dentre as Moniliáceas e, *Cladosporium* spp., como única Dermatiácea (Robbs & Bittencourt, 1998).

## **Cultura de tecidos**

Contribuições importantes da cultura de tecidos tem sido oferecidas à proteção de plantas, principalmente na área da fitopatologia. O desenvolvimento de diferentes técnicas de cultivo “in vitro” tem permitido estudos nas relações hospedeiro-patógeno, recuperação de planta livres de vírus e outros agentes causadores de doenças, estudo dos mecanismos de patogenicidade ao nível celular e a obtenção de plantas resistentes a diferentes doenças. Dentre algumas técnicas utilizadas podemos citar: fusão de protoplastos, cultura de meristemas ou ápices caulinares, variação somaclonal, dentre outras.

## **Protoplastos**

A regeneração de plantas a partir de protoplastos vem sendo amplamente empregada na cultura de tecidos. Estes são células das quais se remove a parede celular através de processos mecânicos ou enzimáticos (Lisei de Sá *et al.*, 2000). Os primeiros protoplastos foram obtidos em 1892 por Klercker, utilizando um processo mecânico (Carneiro *et al.*, 1998), porém apenas na década de 60, foram desenvolvidos métodos enzimáticos eficientes no isolamento de protoplastos. Cocking (1960), usou enzimas pectocelulolíticas para obtenção de protoplastos em grandes quantidades, o que abriu as perspectivas para o uso deste sistema em pesquisa. O isolamento e o cultivo de protoplastos é utilizado para estudar as relações entre hospedeiros e patógenos, sobretudo, no sistema vírus-célula. Neste sistema a infecção se inicia com a entrada da partícula viral na célula hospedeira através de ferimentos na parede celular. O processo de infecção é de baixa eficiência, o que dificulta os estudos de multiplicação viral em plantas. No entanto, em condições adequadas grandes quantidade de protoplastos podem ser infectados por inoculação na presença de determinadas substâncias como poli-L-ornitina ou similares (Takebe, 1977), ou polietilenoglicol (PEG) (Cassels & Barlass, 1978). Essa técnica tem sido utilizada para estudos de



replicação e das propriedades biológicas em vírus de plantas (Harrison e Mayo, 1983; Motoyishi, 1985). Protoplastos de cevada foram utilizados para estudos da síntese, acúmulo e encapsidação de partículas do *Brome Mosaic vírus* (Loesh-Fries & Hall, 1980). Spencer & Kimmins, (1969) verificaram em calos de cenoura e fumo, que o movimento das partículas virais de uma célula para outra se dá através de estruturas denominadas de plasmodesmas, e Van Lent *et al.* (1990) localizaram duas proteínas de movimento nestas estruturas em vírus do mosaico severo do caupi.

A cultura de protoplastos também tem sido utilizada nos estudos de relações entre fungos e células hospedeiras (Earle & Graven, 1982) bem como na obtenção de plantas resistentes a fungos, bactérias e vírus (Duval *et al.*, 1998).

A transformação de plantas a partir de protoplastos, tem se mostrado vantajosa, pois as plantas transformadas não apresentam quimeras, por serem obtidas de um único protoplasto. Além disso, a seleção da planta transformada é realizada após o início da cultura, reduzindo a probabilidade de obtenção de falsos transformantes. Os protoplastos têm sido usados na transformação de plantas, tanto via *Agrobacterium tumefaciens* (Carneiro *et al.*, 1998), como por eletroporação (Reich & Aragão, 1998). Como desvantagem tem-se a dificuldade de obtenção de uma nova planta a partir de um protoplasto (Brasileiro & Dusi, 1999; Brasileiro & Cançado, 2000).

### **Fusão de protoplastos**

No início do século XX, foi constatado que células desprovidas de parede celular, quando em soluções com sais de cálcio podiam entrar em contato e eventualmente se fundir. Esse processo foi denominado de fusão de protoplastos (Ramalho *et al.*, 2000) e é amplamente utilizado na obtenção de híbridos interespecíficos entre espécies selvagens e cultivadas, geralmente autoincompatíveis sexualmente. As espécies selvagens tem sido utilizadas para introgressão de genes de resistência a pragas e patógenos em espécies cultivadas. Em batata, espécies selvagens de *solanum* são empregadas para introduzir resistência ao vírus do enrolamento da folha (Helgeson *et al.*, 1986); em *Lycopersicon*, genes para resistência a insetos (Barbara *et al.*, 1995; Barona *et al.*, 1989; Schuster & Stone, 1979), vírus (Hassan *et al.*, 1984; Pilowsky & Cohen, 1990) e nematóides (Yaghoobi *et al.*, 1995).

No Brasil esta técnica é empregada com sucesso no melhoramento genético do fungo *Metarhizium anisopliae*, utilizado no controle biológico de insetos (Azevedo, 1997).

Para que ocorra a fusão dos protoplastos, é necessário o uso de choque elétrico, eletrofusão, ou agentes químicos como o polietilenoglicol-PEG (Vieira, 1997). No caso da eletrofusão, submetem-se os protoplastos a um

campo de corrente elétrica alternada de alta frequência em hemiférios positivos e negativos, criando uma força de atração entre células adjacentes. Após o alinhamento, ocorre a fusão em função de poros que surgem na membrana plasmática, provocados por pulsos de corrente contínua (Carneiro & Concoi, 1990).

No caso de agentes químicos, utiliza-se soluções salinas com altas concentrações de polycations (PEG, PVA ou DEAE-dextran) que em contato com os protoplastos aumentam a permeabilidade da membrana citoplasmática devido a interação das cargas positivas com as cargas negativas do DNA e da membrana, facilitando a entrada do DNA na célula. Diversas espécies vegetais já foram transformadas por essa técnica, porém a frequência de transformação é relativamente baixa (1/1.000 a 1/10.000). A maior limitação no uso dessa técnica consiste na obrigatoriedade do uso de protoplastos (Aldwinckle *et al.*, 1982; Brasileiro & Dusi, 1999).

Em busca de alternativas de controle às principais doenças do maracujazeiro (*Xanthomonas*, murcha do *Fusarium* e morte precoce), verificou-se que as espécies selvagens *Passiflora gilberti*, *P. macrocarpa*, *Passiflora* sp. (maracujá-de-cobra), *P. nitida* e *P. quadrangularis*, apresentavam fontes de resistência. Baseado nesses resultados, Barbosa & Vieira (1997) obtiveram quatro híbridos somáticos de maracujazeiro por meio da fusão de protoplastos, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (+) *P. amethystina*; *P. edulis* f. *flvicarpa* (+) *P. alata*; *P. edulis* f. *flavicarpa* (+) *P. cincinnata* e *P. edulis* f. *flavicarpa* (+) *P. gilberti*. Tendo em vista a auto-incompatibilidade no maracujazeiro, a fusão de protoplastos representa uma alternativa para introgressão de genes (Vieira, 1997).

### **Variação somaclonal**

São variações genéticas espontâneas, encontradas em plantas regeneradas *in vitro*, em função de estresse provocado por este tipo de cultivo, gerando distúrbios durante a divisão celular. As variações somaclonais podem ser de natureza genética, ou seja, herdáveis, ou não herdáveis, nesse caso, ditas epigenéticas (Lisei de Sá *et al.*, 2000; Ramalho *et al.*, 2000). Variações somaclonais induzidas ou espontâneas vem sendo amplamente explorada para obtenção de cultivares resistentes à patógenos. Como exemplos, pode-se citar a cana-de-açúcar, cujas respostas foram diferenciais a incidência de *Helminthosporium sacchari* (Heinz *et al.*, 1977), e a doenças viróticas (Mantell *et al.*, 1994). Plantas resistentes à *Fusarium oxysporium* e *Ralstonia solanacearum* foram obtidas em variantes somaclonais de tomateiro (Toyoda *et al.*, 1989) e aipo (Heath-Pagliuso *et al.*, 1988).

Na seleção para resistência por esta técnica, o patógeno é inoculado junto com o explante, ou em casos da patogenicidade ser mediada por toxinas, esta pode ser isolada e adicionada ao meio (Scowcroft *et al.*, 1983).

### **Cultura de meristemas ou ápices caulinares**

Em muitas espécies de plantas que são propagadas vegetativamente por meio de técnicas convencionais como estaquia e enxertia, o cultivo de meristemas é uma das maneiras mais eficientes para livrar plantas de microorganismos patogênicos endógenos como vírus, micoplasmas, fungos e bactérias, causadores da degenerescência das cultivares (Kerbaudy, 1997). Os patógenos, principalmente vírus, não conseguem infectar os tecidos meristemáticos devido à rápida multiplicação celular. Além do mais o sistema vascular destas regiões, não se encontra completamente desenvolvido, o que dificulta o transporte de vírus para essas partes (Pasqual *et al.*, 1998).

Esta técnica é mais efetiva e mais empregada na eliminação de viroses, em função do fato de não existirem produtos químicos para o controle de vírus. É largamente utilizada na limpeza clonal de batata (*Solanum tuberosum*) para eliminação dos principais vírus (PVY, PVX, PVS e PLRV) e viróides (virose do broto afilado- PSTV) (Pasqual *et al.*, 1998); de alho (*Allium sativum*), batata-doce (*Ipomea batatas*) e mandioca (*Manihot esculenta*) (Duval *et al.*, 1998); de morangueiro (*Fragaria x ananassa*) (Kerbaudy, 1997); na citricultura, através de microenxertia (Pasqual *et al.*, 1998; Styer & Chin, 1983).

A obtenção de plantas livres de fungos é empregada na cultura do abacaxizeiro para controle da gomose causada por *F. moniliforme* (Pescador & Koller, 1992); da bananeira para controle do mal-do-panamá (*F. oxysporum* f.sp. *cubense*), sigatoka amarela (*Mycosphaerella musicola*) e Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) (Krikorian & Cronauer, 1984).

### **Engenharia genética**

A Engenharia genética refere-se a introdução de genes entre espécies não relacionadas, pertencentes a gêneros diferentes e até mesmo reinos diferentes. Com o desenvolvimento desta área tornou-se possível a criação de combinações gênicas inexistentes na natureza e principalmente a transferência de genes entre indivíduos isolados reprodutivamente. Essas combinações resultaram nos transgênicos, também chamados de organismos geneticamente modificados (OGM). Técnicas de biologia molecular, cultura de tecidos e transferência de genes, culminou com o desenvolvimento da

transformação genética de plantas. Esta prática consiste na introdução controlada de um gene no genoma de uma planta e sua posterior expressão. As plantas transgênicas são atualmente consideradas como fonte adicional de variabilidade a ser incorporada aos programas de melhoramento. Apesar de apenas recentemente ter atingido o apogeu a transformação genética se constitui numa prática a muito tempo realizada pelo homem. Um exemplo é a seleção de sementes maiores para o plantio ou a utilização das mutações que ocorrem casualmente em plantas e animais, como observado em bananeiras (Farah, 1997).

No campo da proteção de plantas, a engenharia genética manipula genes responsáveis pela síntese dos multicomponentes de defesa presente nas espécies. As respostas são acúmulo de proteínas relacionadas com patogenicidade, fitoalexinas, fenóis e proteínas da parede celular. Várias estratégias tem sido adotadas na manipulação desses genes, para posterior transferência à espécie receptora (Tabela 10.1).

### **Metodologias de transformação de plantas**

Para se obter uma planta transgênica, o primeiro passo consiste na identificação no doador, do gene que confere a característica de interesse, seguido da localização e isolamento deste, dos demais genes do genoma do doador. Em seguida deve se adotar uma metodologia eficiente para proceder a transformação.

Na transformação genética apenas um fragmento definido de DNA é introduzido no genoma do hospedeiro, ou genoma receptor, sendo a ele integrado. Com esse processo é possível que características agronômicas como resistência a doenças, pragas, herbicidas e tolerância a estresse abióticos possam ser introduzidos em plantas cultivadas (Brasileiro & Dusi, 1999).

As técnicas de transformação genética de plantas podem ser agrupadas em duas categorias: transferência indireta e direta de genes. Na primeira utiliza-se um vetor como *Agrobacterium tumefaciens* e *A. rhizogenes*. A transformação direta de DNA é baseada em métodos físicos ou químicos geralmente adaptados de outros já estabelecidos para transformação de células. Nessa destacam-se transformação com polietilenoglicol (PEG), eletroporação e aceleração de partículas (Chilton *et al.*, 1977; Chilton *et al.*, 1982).

Tabela 10.1 – Estratégias utilizadas para obtenção de transgênicos para proteção de plantas [modificado de Brasileiro & Dusi (1999)].

Modificação	Estratégia Utilizada	Cultura	Produto do Gene	Característica
Resistência a viroses	RNAs satélites	<i>Nicotiana tabacum</i>	RNA satélite	resistência ao CMV
	Seqüências anti-senso	<i>N. tabacum</i>	Anti-senso da CP de PVX	resistência ao vírus
	Capa protéica	<i>Solanum tuberosum</i>	Capa protéica de PVX, PVY e PLRV	resistência ao vírus
Resistência a fungo	Expressão de quitinases, $\beta$ -gluconase e osmotinas	<i>N. tabacum</i>	Quitinase de <i>Serratia marcescens</i>	resistência a <i>Alternaria longipes</i>
Resistência a herbicidas	Mutação	<i>L. esculentum</i>	Acetolacto sintase mutada	resistência ao chlorsulfuron
	Superexpressão	<i>Petunia hybrida</i>	EPSP sintase	resistência ao glyphosate
	Detoxificação do herbicida	<i>L. esculentum</i>	fosfotricina acetil transferase	resistência ao phosphinotricin
Resistência a insetos	Inibidores de proteinases	<i>N. tabacum</i>	Inibidor de tripsina do caupi	resistência a larvas de <i>Heliothis virescens</i>
	Toxinas bacterianas	<i>Gossypium hirsutum</i>	Endotoxina de Bt	resistência a insetos

#### Transformação indireta

A *A. tumefaciens* provoca na planta a proliferação descontrolada das células formando um tumor, desviando o metabolismo da planta hospedeira, de tal forma que as células infectadas passam a sintetizar substâncias. Aparentemente, essas substâncias não interessam à planta mas são fundamentais para a bactéria, pois fornecem a energia requerida para seu crescimento. A capacidade de induzir tumor é controlada pela informação genética presente em um plasmídeo que a *A. tumefaciens* carrega, o qual é conhecido como plasmídeo Ti (*Tumor inducing*, isto é, plasmídeo indutor de tumor). Esse plasmídeo possui a propriedade única de injetar um segmento de seu DNA, o T-DNA, nas células da planta hospedeira da bactéria. Durante o processo de infecção, o T-DNA, é desprendido do plasmídeo e dirige-se para o núcleo da célula hospedeira, integrando-se ao cromossomo. Em seguida o T-DNA passa a se duplicar com o cromossomo da célula hospedeira. O T-DNA possui genes que codificam enzimas responsáveis pela síntese de opinas, que são aminoácidos ou carboidratos modificados utilizados como fonte de energia para a agrobactéria (Brasileiro & Dusi, 1999; Brasileiro & Lacorte, 2000).

Para evitar a formação do tumor nas plantas transgênicas, os genes responsáveis são retirados do T-DNA e substituídos pelo gene que se pretende transferir para a planta. O plasmídeo Ti, carregando o T-DNA modificado é dito “desarmado” e pode agora ser utilizado como vetor. Porém, torna-se difícil determinar se a transferência do T-DNA realmente ocorreu, pois as células passam a se comportar da mesma maneira que as células não transformadas. Para contornar essa dificuldade outro gene que funcione como marcador é inserido no T-DNA modificado (Brasileiro & Lacorte, 2000). Um exemplo são os genes que conferem resistência a antibióticos, permitindo assim a seleção de células modificadas (Farah, 1997).

Um protocolo generalizado de transformação consiste no cultivo de um explante com uma linhagem desarmada de *Agrobacterium*, contendo um vetor com o(s) gene(s) a ser(em) introduzido(s), por um período de tempo variável (de 2 horas a 3 dias). A escolha do melhor explante é feita em função da sua capacidade de regeneração *in vitro*. Durante o cultivo ocorrerá a indução dos genes da região *vir*, assim como a ligação entre a bactéria e a célula vegetal, no local de ferimento do explante, com subsequente transferência do T-DNA para o genoma vegetal. Em seguida, o explante é transferido para um meio de cultura apropriado, para a indução de calos e/ou gemas, contendo antibióticos (cefotaxima, ampicilina ou carbenicilina), para eliminar as células de *Agrobacterium* indesejáveis. O meio deverá conter também um agente de seleção (antibiótico ou herbicida) que será responsável pela inibição do crescimento das células não transformadas. Nas semanas seguintes, os tecidos transformados (resistentes ao agente de seleção) crescem, e ocorre a diferenciação de brotos, que são então excisados e transferidos para meio de indução de raízes. Durante todos os estágios posteriores, uma pressão de seleção deve ser mantida no tecido em regeneração, para que sejam gerados apenas transformantes verdadeiros. Porém, podem ocorrer ‘escapes’, ou seja, plantas transgênicas que são regeneradas, apesar da presença do agente de seleção (Wilmink & Dons, 1993).

Após o enraizamento, as plantas potencialmente transgênicas são aclimatadas e transferidas para casa de vegetação para posterior análise molecular e de segregação (Brasileiro & Dusi, 1999).

#### Transformação direta

Os métodos de transformação direta têm como objetivo comum quebrar a barreira da parede celular e da membrana plasmática para livre penetração do

DNA na célula. Esses métodos podem utilizar protoplastos ou células e tecidos vegetais intactos. Técnicas como o uso do polietilenoglicol (PEG) e d eletroporação aumentam a permeabilidade da membrana (Brasileiro & Cançado, 2000; Brasileiro & Dusi, 1999).

A transformação por biobalística também é conhecida como bombardeamento ou *gene gun*. O método consiste na precipitação do DNA a ser transferido na superfície de diminutas partículas de tungstênio ou de ouro (1 a 4µm de diâmetro), e lançamento no tecido alvo. As micropartículas são aceleradas em direção ao tecido-alvo por meio de uma onda de choque, geralmente gerada por uma descarga de gás hélio à alta pressão. Os microporos causados pelo bombardeamento não chegam a causar lesões ou danos sérios nas células e uma porção dos microprojétiés carregando o DNA atingirá o núcleo das células causando a transformação e/ou regeneração a partir de protoplastos (Brasileiro & Cançado, 2000; Sanford, 2001).

Esta estratégia potencialmete permite a transformação de qualquer espécie vegetal ou genótipo, sendo considerada reativamente simples, rápida e não envolve maiores investimentos em infra-estrutura e equipamentos (Brasileiro & Cançado, 2000).

### **Estratégias adotadas na proteção de plantas**

#### **Patógenos**

A interação planta-patógeno pode ser dividida em dois tipos básicos: compatível, onde o patógeno invade o tecido vegetal, se multiplica e provoca doença na planta; e incompatível, ou seja, o patógeno ao invadir o tecido vegetal encontra as defesas da planta que são rapidamente ativadas, impedindo sua multiplicação e produzindo resistência. Neste caso é fundamental uma interação gene a gene entre a planta e o patógeno (Flor, 1947), para ocorrer a ativação do mecanismo de defesa e resistência da planta.

As principais fases da interação planta patógeno são: 1) reconhecimento genético entre planta e o hospedeiro, 2) processo de transdução de sinal, 3) ativação de genes, 4) ativação do mecanismo de resistência (Cordeiro & Grossi de Sá, 1999; Zambolim, 2000). Os patógenos são classificados em dois tipos: virulentos e avirulentos. Os patógenos virulentos não possuem gene *avr*, cujo produto gênico é reconhecido por uma proteína de resistência da planta. Já os patógenos avirulentos possuem gene *avr*, cujo produto é reconhecido por uma proteína de resistência da planta (Dangl, 1992).

O produto do gene de avirulência (proteína *avr*), pode ser um indutor direto e específico, que vai interagir com o produto do gene de resistência (proteína R). Este ainda, pode ser modificado no metabolismo bacteriano

e/ou vegetal. O produto desta modificação (indutor direto) é que irá interagir com a proteína de resistência. O mecanismo de indução e amplificação da resposta de defesa em plantas é chamado de eliciação. As moléculas que induzem ou amplificam, são chamadas de eliciadoras, e podem ser de origem protéica, lipídica ou polissacarídica (Cordeiro & Grossi de Sá, 1999).

Cerca de 30 genes *avr* já foram caracterizados. O produto do gene *avr* está relacionado não só ao mecanismo de ativação da resistência, como também a especificidade por uma cultivar. Os patógenos avirulentos também sintetizam produtos a partir de genes chamados *hrp*, que estão relacionados com a hipersensibilidade e patogenicidade (Cordeiro & Grossi de Sá, 1999).

As proteínas Hrp estudadas estão relacionadas com quimiotaxia, transporte de moléculas da planta para a bactéria, síntese e exportação de fatores de virulência, eliciação e sistema de secreção tipo III de bactérias fitopatogênicas (Alfano & Collmer, 1996; Baker *et al.*, 1997; Van Gijsegem *et al.*, 1993; Van Gijsegem *et al.*, 1995).

Na interação incompatível a resposta de hipersensibilidade (HR) é definida como uma resposta rápida, induzida no vegetal onde ocorre morte celular, localizada na área de infecção do patógeno avirulento. Morfologicamente, a HR é reconhecida como uma clorose localizada, que aparece 24 horas após a infecção, progredindo para uma lesão necrótica (Wang *et al.*, 1996).

O mecanismo de morte celular programada ocorre em diferentes processos, durante o desenvolvimento, senescência ou durante a HR. Nas etapas iniciais desse processo, a peroxidação lipídica, o acúmulo de oxigênio ativo, o influxo citoplasmático de cálcio e a degradação de DNA, parecem estar presentes. Mutantes que produzem lesões espontâneas, similares à resposta de hipersensibilidade vêm sendo estudados na tentativa de melhor compreender este processo (Levine *et al.*, 1996; Wang *et al.*, 1996). Exemplos de genes de resistência isolados de diferentes plantas são apresentados na Tabela 10.2.



Tabela 10.2 – Genes de resistência com especificidade a diferentes patógenos [modificado de Cordeiro & Grossi Sá (1999)].

Gene de resistência	Planta	Resistência a:
Hm1	milho	Fungo ( <i>Cochliobolus carborum</i> )
N gene	fumo	Vírus ( <i>Tobacco Mosaic Virus</i> )
L6	linho	Fungo ( <i>Melampsora lini</i> )
M	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Fungo ( <i>M. lini</i> )
RPP5	tomate	Fungo
Mi	tomate	Nematóide/inseto
I2	tomate	<i>Fusarium oxysporum</i>
Prf	tomate	Bactéria ( <i>Pseudomonas syingae</i> pv. <i>tomato</i> )
Rpm1	<i>A. thaliana</i>	Bactéria ( <i>P. syingae</i> pv. <i>tomato</i> )
Rps2	<i>A. thaliana</i>	Bactéria ( <i>P. syingae</i> pv. <i>maculicola</i> )
Rps5	<i>A. thaliana</i>	Bactéria ( <i>P. syingae</i> pv. <i>tomato</i> )
Pib	arroz	Fungo ( <i>Magnaporthe grisea</i> )
Cf9	tomate	Fungo ( <i>Cladosporium fulvum</i> )
Cf2	tomate	Fungo ( <i>C. fulvum</i> )
HS1pro1	cana-de-açúcar	Nematóide
Pto	tomate	Bactéria ( <i>P. syingae</i> pv. <i>tomato</i> )
Xa21	arroz	Bactéria ( <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>oryzae</i> )
Fen	tomate	Inseticida

Os mecanismos de defesa de plantas a fungos incluem a síntese de polímeros como cutina, lignina e calose, formando barreiras físicas, síntese de fitoalexinas e síntese de proteínas relacionadas com a patogenicidade (PR) como quitinases, glucanases. Essas proteínas degradam os polissacarídeos estruturais presentes na parede celular de fungos (Joosten & De Wit, 1989). Já foram descritas 3 classes de  $\beta$ -1,3-endoglucanases e 5 classes de endoquitinases. Várias delas tem efeito comprovado na inibição de fungos *in vitro*. Portanto seus genes são candidatos a genes anti-fungicos (Leah *et al.*, 1991). Broglie *et al.* (1991), relata o sucesso da expressão de um gene que codifica para quitinase em feijão, transcrito em fumo e *Brassica napus*, o que resultou na diminuição dos sintomas provocados por *Rhizoctonia solani*. Outros estudos do sucesso da expressão de genes que codificam para quitinases e glucanases em fumo, foram relatados por Jach *et al.* (1995), Lamb *et al.* (1992) e Vierheling *et al.* (1993). Linhagens transgênicas obtidas por Lorito *et al.* (1998) foram altamente tolerantes ou resistentes a *Alternaria alternata*, *A. solani* e *Botrytis cinerea*. O gene que codifica para endoquitinase em *Trichoderma harzianum*, foi transferido para fumo e batata, neste estudo.

Genes que codificam para síntese de proteínas inativadoras de ribossomos (RIP) também são utilizados em transgênicos para aumentar a defesa de plantas a fungos. Esses genes já foram isolados de sementes de cevada e trigo e sintetizam para o RNAr 28S N glicosidase, que dependendo da especificidade leva a inativação de espécies não relacionadas, incluindo

fungos (Jach *et al.*, 1995; Lamb *et al.*, 1992). A expressão do RIP de cevada em plantas transgênicas de fumo conferiu resistência a *R. solani* (Lamb *et al.*, 1992).

As fitoalexinas são metabólitos produzidos pelas espécies vegetais em resposta à infecção causada por fitopatógenos. Diferentes famílias de plantas possuem diferentes classes de fitoalexinas. A produção transgênica de novas fitoalexinas através da transferência interespecífica de genes biossintéticos, constitui-se numa nova estratégia no controle parcial de doenças fúngicas. A expressão de tais genes resulta no acúmulo de fitoalexinas nos tecidos vegetais antes e depois da entrada do patógeno (Hain *et al.*, 1993).

A ação antifúngica e anti bacteriana de proteínas do grupo das tioninas, e de proteínas PR-1 encontradas em plantas de fumo tem sido demonstrada por Alexander *et al.* (1993) e Carmona *et al.* (1993).

Em função da menor complexidade do genoma, da facilidade de purificação e caracterização molecular, a virologia vegetal é a que mais tem se beneficiado da engenharia, genética bem como da biologia molecular (Zerbini *et al.*, 2000). Aplicações como transformação genética, marcadores moleculares e clonagem de genes são amplamente utilizados na obtenção de plantas resistentes a fitovirose.

A criação de plantas resistentes a virose através da engenharia genética se baseou no princípio da proteção cruzada. Neste caso observou-se que o uso de isolados menos agressivos ou não virulentos de determinadas espécies de vírus, protegem as plantas contra a infecção de isolados mais agressivos de vírus relacionados. A proteção cruzada, utilizada com sucesso no controle da tristeza dos Citrus, mostrou que as plantas possuem mecanismos de defesa contra o ataque de fitopatógenos. E no caso de virose, o mecanismo sugere que a presença do vírus ou de uma de suas proteínas na célula hospedeira é suficiente para ativar mecanismos de defesa da planta. Essa estratégia denominada de resistência derivada do patógeno (RDP), impedindo a replicação viral ou produção de qualquer outra proteína viral na planta, começou a ser largamente utilizada com o desenvolvimento da engenharia genética.

A primeira planta transgênica baseada no princípio da RDP, foi para resistência ao vírus do mosaico do fumo (TMV), expressando a proteína da capa protéica (Powell-Abel *et al.*, 1986). Outras proteínas como replicases, proteases e proteína de movimento (Fitchen & Beachy, 1993), também são utilizadas para obtenção de plantas transgênicas resistentes a virose.

Outra estratégia adotada na indução de RDP é o uso do RNA mensageiro transgênico. Neste caso, o nível de proteção obtido tende a ser próximo à imunidade e a plantas é resistente, mesmo quando a concentração de inoculo é elevada, porém o grau de especificidade é maior. Nos casos onde a resistência se deve a presença da proteína, o nível de proteção é menor e

pode ser quebrado quando a concentração do inoculo é elevada, mas o espectro é maior, inclusive para mais de um vírus (Zerbini *et al.*, 2000).

Quando a expressão é da proteína da capa protéica, a resistência se deve ao seu acúmulo no citoplasma, impedindo que o RNA viral seja traduzido pelo ribossomo (Reiman-Phillip & Beachy, 1993). A proteína transgênica impede o processo de desencapsidação da maioria das partículas virais retardando o início da infecção. A resistência pode ser quebrada pela alta concentração de inoculo, em função do grande número de partículas virais expostas para a tradução.

Já na resistência derivada de RNA, Baulcombe (1996), demonstrou que as plantas possuem um sistema interno de degradação de RNAm, que é ativado sempre que RNAs mensageiros endógenos ou transgênicos atinjam um nível excessivo no citoplasma. Esse mecanismo foi denominado de silenciamento gênico transcricional (SGPT) e é altamente específico. Caso o RNAm transgênico exceda o limite, o SGPT atua destruindo este RNA. Assim quando o vírus penetra na célula seu RNA também será degradado pois possui seqüências de nucleotídeos idênticas ou muito semelhantes à do transgene, sendo reconhecido pelo sistema celular de degradação.

Embora a literatura relate uma série de RDPs existentes, apenas dois casos tem sido aplicados a nível comercial. Plantas de *Curcubita pepo* (abobrinha), expressando os genes da proteína da capa protéica de três vírus (ZYMV, WMV-2 e CMV), estão sendo cultivadas nos Estados Unidos (Triticoli *et al.*, 1995) e plantas de mamoeiro (*Carica papaya*) resistentes ao vírus da mancha anelar (PRSV-P), expressando o gene da capa protéica (Lius *et al.*, 1997).

## Insetos

As plantas possuem peptídeos que atuam como inibidores de proteinases, os quais fazem parte do mecanismo de defesa de pragas e patógenos (Richardson, 1991). Tais proteínas podem ser produzidas em tecidos que são vulneráveis ao ataque de insetos, como as sementes ou podem ser induzidos por injúrias mecânicas (Jouanin *et al.*, 1998). O mecanismo de ação de um inibidor de proteinase baseia-se na inibição competitiva dessas proteínas via bloqueio de sua atividade proteolítica. A ingestão de inibidores de proteinases pelos insetos herbívoros interfere no processo de degradação de proteínas no intestino médio, levando a uma deficiência protéica (Silva-Filho & Falco, 2000).

O desenvolvimento das técnicas de biologia molecular, permitindo a manipulação de genes de interesse, aliadas às metodologias de transformação genética de plantas, tem possibilitado o surgimento de um novo conceito no controle de insetos. Os genes que codificam para proteínas com atividade

inseticida tornaram-se uma arma poderosa e com amplo potencial de utilização (Silva-Filho & Falco, 2000).

Resultados *in vitro* baseados na combinação de extratos intestinais com diferentes inibidores de proteínas, mostraram-se efetivos na inibição das proteinases digestivas. A incorporação de inibidores de proteinases em dietas artificiais também mostrou-se eficiente. Desta forma, foram obtidas plantas transgênicas resistentes a pragas via expressão dos genes de inibição de proteinases (Duan *et al.*, 1996; Gatehouse *et al.*, 1997; Hilder *et al.*, 1987). Porém, trabalhos demonstraram que os insetos foram capazes de adaptar-se à presença dos inibidores produzidos pelas plantas (Jongsma & Bolter, 1997).

Na produção de plantas transgênicas expressando inibidores de proteinases devem-se fazer algumas considerações necessárias para o aumento das chances de sucesso. Entre estas, incluem-se os níveis de expressão dos inibidores, sua constante inibição, estabilidade dos inibidores no intestino do inseto e a capacidade de adaptação do inseto aos inibidores via alteração da expressão gênica. Os fatores ambientais secundários também podem interferir na severidade dos sintomas (Broadway & Duffey, 1988).

Estudos também têm sido realizados com intuito de desvendar o funcionamento das  $\alpha$ -amilases e de descobrir proteínas com função inibitória a essas enzimas digestivas de insetos. As  $\alpha$ -amilases são enzimas que catalisam a hidrólise de ligações  $\alpha$ -1,4 do amido, glicogênio e outros carboidratos, sendo essenciais para o crescimento e desenvolvimento de muitos insetos, especialmente daqueles que vivem em sementes e grãos ricos em amido. A introdução de genes que codificam inibidores de  $\alpha$ -amilase em culturas economicamente importantes tem sido utilizada para aumentar a resistência destas culturas a diferentes insetos. Shade *et al.* (1994) verificaram que plantas de ervilha transformadas com o gene que codifica o  $\alpha$ -AII (inibidor das  $\alpha$ -amilases dos bruquídeos) se apresentaram completamente resistentes ao besouro da ervilha *Bruchus pisorum*. Em feijão azuki também observou-se resistência à *Callosobruchus chinensis*, quando utilizou-se esse mesmo gene (Franco *et al.*, 1999).

A obtenção de plantas resistentes a insetos com a utilização de genes que codificam inibidores de enzimas digestivas é uma estratégia bastante promissora e amplamente estudada (Tabela 10.3). Porém, estes inibidores devem ser selecionados levando-se em consideração a fisiologia e a bioquímica de sua digestão pelo inseto. Apesar da polêmica, as leguminosas transgênicas são seguras para alimentação desde que as sementes sejam cozidas ou processadas antes do consumo por seres humanos. Uma vez desnaturados, estes inibidores funcionam como aminoácidos após a digestão, assim como as proteínas de armazenamento (Franco *et al.*, 1999).

Tabela 10.3 – Plantas transgênicas expressando genes para inibidores de proteinases (Franco *et al.*, 1999).

Planta	Genes*	Inseto
Fumo	CpTI	<i>Heliothis virescens</i>
	Pot PI II	<i>Lepdotera</i>
	CpTI	<i>H. virescens</i>
	NaPI	<i>Helicoverpa punctifera</i>
Batata	CpTI	<i>Lacanobia oleracea</i>
Tomate	Pot PI I, Pot PI II	<i>Helicoverpa armigera</i>
Arroz	Pot PI II, CpTI	<i>Teleogryllus commodus</i>
		<i>Sesamia inferens</i>
		<i>Chilo suppressalis</i>
Morango	CpTI	<i>Otiorhynchus sulcatus</i>
Alface	Pot PI II	<i>T. commodus</i>
Canola	OC-I	<i>Coleoptera</i>
	CII	<i>Lepdoptera, Diptera</i>
Maçã	CpTI	<i>Cydia pomonella</i>
Álamo	OC-I	<i>Chrysomela tremulae</i>
	CII	<i>Lepdoptera</i>

\*CII = inibidor de protease serínica de soja; CpTI = inibidor de tripsina de feijão-de-corda; NaPI = inibidor de protease de *Nicotina alata*; OC I = inibidor de cisteína de arroz; PoT PI I = inibidor de proteinase I da batata; Pot PI II = inibidor de proteinase II de batata.

Os extratos da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) têm sido largamente utilizado em muitas plantações, mas a produção para uso comercial ainda é restrita, e o efeito de proteção às plantas dura um curto período de tempo. A proteína inseticida produzida pela bactéria não persiste no meio ambiente nem é prejudicial aos insetos não suscetíveis ou aos vertebrados, possibilitando uma forma segura de proteger as plantas. Pelo fato de a toxina ser codificada por um único gene, o gene Bt, as técnicas modernas de DNA recombinante podem ser usadas para isolar esse gene e transferi-lo para plantas, tornando-as resistentes a determinados insetos. A estratégia que tem sido utilizada é ligar o gene que codifica para a toxina a seqüências promotoras que assegurem sua expressão nas células vegetais e, com o auxílio do T-DNA, introduz-se o gene em plantas que passarão a expressar grandes quantidades dessa proteína, gerando um fragmento ativo tóxico. Esse fragmento provoca a lise de células do epitélio intestinal, causando a morte de larvas. Essa estratégia tem sido utilizada com relativo sucesso em várias espécies vegetais tais como tomate, batata, algodão e fumo. A expressão do gene em todas os tecidos da planta garante proteção mesmo em

regiões de difícil acesso à pulverização de inseticidas, tais como as raízes (Farah, 1997; Lemos, 1997).

Algumas espécies desenvolveram mecanismos naturais de controle de insetos e quando identificados os genes que codificam esses mecanismos, pode-se transferi-los para espécies desprotegidas. Como exemplo pode-se citar a batata, tomate e fava que produzem uma proteína inibidora da tripsina, fundamental no processo de digestão dos insetos e não sendo prejudicial ao homem. Outra estratégia para desenvolver plantas resistentes a insetos é transferindo-se o gene que produz a proteína inibidora para plantas que normalmente não o possuem. Porém, é necessária alta expressão do gene para produção de concentração elevada para proteção satisfatória (Farah, 1997).

#### Herbicidas

A produção de plantas transgênicas tolerantes a herbicidas tornou-se bastante atrativa para a agricultura. Os genes que conferem essa característica podem ser encontrados na natureza, ou podem ser obtidos por meio de indução de mutações. A tolerância poderia ser obtida utilizando-se as seguintes estratégias: 1) estimular a super-produção da enzima na qual o herbicida atua, de forma a gerar quantidade suficiente de enzima que escape a ação inibitória do herbicida; 2) tornar a enzima específica insensível ao herbicida na planta de interesse; 3) introduzir, na planta de interesse, uma enzima com efeito degradante ou desintoxicante, que atue sobre o herbicida (Brasileiro & Dusi, 1999; Farah, 1997).

Pode-se citar como exemplo o glicosato, ingrediente ativo de um produto conhecido comercialmente como Roundup. Este princípio tem amplo espectro de ação e seu efeito tóxico é devido a inibição da enzima EPSP sintetase, que atua da biossíntese de aminoácidos (tirosina, fenilalanina e triptofano). Os animais não apresentam a enzima EPSP sintetase, ou seja, o glicosato não afeta o metabolismo deles. A transferência do gene da enzima EPSP sintetase para plantas elevou o nível da atividade enzimática em 20 vezes, permitindo que as plantas transgênicas suportassem concentrações de herbicida quatro vezes maiores. Porém, essas plantas apresentaram taxa de crescimento retardada. Uma segunda abordagem consiste na transferência do gene isolado de linhagens mutantes de *E. coli* insensíveis ao glicosato. Quando o gene que codifica a enzima mutante da bactéria foi ligado a um promotor introduzido em plantas de fumo e tomate, as plantas transgênicas aumentaram significativamente a tolerância ao herbicida.

Outros genes que conferem tolerância a outros tipos de herbicidas já foram isolados, e a resistência a esses compostos químicos já foi obtida em mais de uma dezena de espécies de plantas. Como exemplo pode-se citar o gene *bar* e *bxn* de *Klebsiella ozenae* cujos produtos inativam os herbicidas

fosfonotricina (PPT) e bromoxinil, respectivamente (Brasileiro & Dusi, 1999).

## **Marcadores moleculares e resistência a pragas e doenças**

Nas últimas décadas, técnicas moleculares tem sido usadas em grande escala em estudos e incorporação de genes de resistência em cultivares comerciais, principalmente a fitopatógenos. Para se obter cultivares resistentes, deve-se primeiramente identificar a fonte de resistência, ou seja o genitor resistente. É comum encontrar genes para resistência principalmente a pragas em germoplasma selvagem. O segundo passo é identificar o genitor suscetível, proceder os cruzamentos para obtenção das populações segregantes ( $F_2$ , retrocruzamentos, linhagens recombinantes, etc.) e em seguida detecta-se os marcadores polimórficos entre os genitores resistente e suscetível, analisando a segregação. Os marcadores fortemente ligados ao gene de resistência, co-segregam com a resistência.

Para estudos de herança monogênica, ou seja quando a resistência é governada apenas por gene, tem sido utilizados marcadores de RAPD, RFLP, AFLP, microssatélites, dentre outros. Para maior detalhamento destas técnicas, consultar Milach (1998); Ferreira & Gratapaglia (1995). A utilização da técnica de análise de Bulks segregantes (Michelmore *et al.*, 1991), associada a RAPD tem facilitado a identificação de marcadores ligados a resistência à doenças. Amostras de DNA de grupos de indivíduos resistentes e grupos de indivíduos suscetíveis da progênie, são amplificadas com vários oligonucleotídeos (*primers*). Os marcadores de RAPD ligados ao gene de resistência mostrar-se-ão intensos no bulk resistente e fracos ou ausentes no suscetível. Apenas estes serão avaliados em toda a progênie.

Marcadores ligados a genes de resistência (genes R) podem ser utilizados para seleção indireta de plantas resistentes. A introdução de genes efetivos contra diferentes raças do patógeno, originária de diversas fontes em uma mesma cultivar (piridamento de genes R) poderia ser feita sem testar uma mesma planta contra vários isolados do patógeno.

Quando a resistência é de caráter quantitativo, os marcadores moleculares são utilizados para elucidar o número e a localização dos locos que controlam a característica quantitativa, denominada de *quantitative trait loci* (QTLs). A análise de QTLs é realizada em populações segregantes obtidas a partir do cruzamento entre genitores contrastantes para a característica em questão. Identifica-se os marcadores polimórficos os quais serão testados nas diferentes classes fenotípicas da população segregante. Esta é inicialmente dividida em classes genotípicas para cada loco marcador.

No que concerne a pragas, na maioria das vezes, a resistência é governada por um ou poucos genes (Khush & Brar, 1991). Já a produção de fitoalexinas, como a 2-tridecanona (isoflavonóide) em *Lycopersicon esculentum* Miller e *L. hirsutum* f. *glabratum* (Nienhuis *et al.*, 1987), é resultado do efeito de numerosos QTLs. Marcadores moleculares como RFLP e SSR (microsatélites), tem sido utilizados para mapear QTLs ligados á resistência a pragas (Lander & Botstein, 1989). Trabalhos associando marcadores moleculares a resistência a pragas foram realizados em tomateiro (Maliapaard *et al.*, 1995; Mutschler *et al.*, 1996; Nienhuis *et al.*, 1987), soja (Chase *et al.*, 2000), trigo (Dweikat, 1997; Nieto-Lopez & Blake, 1994), arroz (Ishii *et al.*, 1994; Nair *et al.*, 1996), milho (Byrne *et al.*, 1996; Schön *et al.*, 1993), batata (Bonierbale *et al.*, 1994; Yencho *et al.*, 1996). .

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com intuito de atender as necessidades da crescente população mundial, sem destruir cada vez mais a ecologia, a biotecnologia se desponta com predições otimistas. É importante frisar que uma das principais vantagens da biotecnologia moderna voltada para a proteção de plantas , é que pode gerar estratégias de melhoramento aplicáveis a diferentes culturas. Plantas transgênicas de mais de 20 espécies já foram produzidas com resistência a mais de 30 viroses. Da mesma forma, plantas protegias contra insetos a partir da endotoxina de *Bacillus thuringiensis* foram obtias para espécies de importância como tomate, milho, batata, algodão, fumo, cana-de-açucar e arroz. Destas o milho, o algodão e a batata transgênicos, estão sendo comercializados.

Porém, o que não se pode esquecer é que as metodologias do melhoramento vegetal clássico serão obrigatoriamente utilizadas com as plantas transgênicas, pois estas terão de ser adaptadas aos seus ambientes de cultivo por métodos tradicionais de melhoramento.



## BIBLIOGRAFIA

- Aldwinckle, T.S.; Ahkong, Q.F.; Bangham, A.D.; Fisher, D.; Lucy, J.A. Effects of poly(ethylene glycol) on liposome and erythrocytes: permeability changes and membrane fusion. *Biochemical and Biophysical Acta* 689: 548-560, 1982.
- Alexander, D.; Goodman, R.M.; Gutrela, M.; Glascock, C.; Weymann, K.; Friedrich, L.; Maddox, D.; Ahlgoy, P.; Luntz, T.; Ward, E.; Ryals, J. Increased tolerance to 2 Oomycete pathogens in transgenic tobacco expressing pathogenesis-related protein-1a. *Proceedings of National Academic Science* 90: 7327-7331, 1993.
- Alfano, J.R.; Collmer, A. Bacterial pathogens in plants: life up against the wall. *The Plant Cell* 8:1683-1698, 1996.
- Azevedo, J.L. Fungos: genética e melhoramento de fungos na biotecnologia. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 1:12-15, 1997.
- Baker, B.; Zambryski, P.; Staskawicz, B.; Dinesh-Kumar, S.P. Signalling in plant-microbe interactions. *Science* 276: 726-733, 1997
- Barbara, E.L.; Lawson, D.W. White, K.K.; Shapiro, J.A.; Cohen, D.E.; Carson, W.G.; Trumble, J.T.; Mutschler, M.A. Acylsugars of wild tomato *Lycopersicon pennellii* alters settling and reduces oviposition of *Bemisia argentifolii* (Homoptera:Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 88: 742-748, 1995.
- Barbosa, L.V.; Vieira, M.L.C. Meiotic behaviour of passionfruit somatic hybrids. *Euphytica* 98: 121-127, 1997.
- Barona, H.G.; Parra, A.S.; Vallejo, C.F.C. Evaluación de especies silvestres de *Lycopersicon* sp., como fuente de resistencia a Scrobipalpuloides absoluta (Meyrick) y su intento de transferencia a *Lycopersicon esculentum* Mill. *Acta Agronomica* 39: 34-45, 1989.
- Baulcombe, D. Mechanisms of pathogen-derived resistance to viruses in transgenic plants. *Plant Cell* 8: 1833-1844, 1999.
- Bonierbale, M.W.; Plaisted, R.L.; Pineda, O.; Tanksley, S.D. QTL analysis of trichome-mediated insect resistance in potato. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 973-987, 1994.
- Borlaug, N.E. Contributions of conventional plant breeding to food production. *Science* 219: 689-693, 1983.
- Brasileiro, A.C.M.; Dusi, D.M.A. Transformação genética de plantas. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S.; Buso, J.A. Cultura de tecidos e transformação de plantas. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1999. v.2, p.679-735.

- Brasileiro, A.C.M.; Lacorte, C. *Agrobacterium*: um sistema natural de transferência de gens para plantas. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 15: 12-15, 2000.
- Broadway, R.M.; Duffey, S.S. The effect of plant protein quality on insect digestive physiology and the toxicity of plant proteinase inhibitors. *Journal of Insect Physiology* 34: 1111-1117, 1988.
- Broglie, K.; Chet, I.; Holliday, M.; Cressman, R.; Biddle, P.; Kjohnston, S. Mauvais, C.J.; Broglie, R. Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. *Science* 254: 1194-1197, 1991.
- Byrne, P.F.; McMullen, M.D.; Snook, M.E.; Musket, T.A.; Theuri, J.M.; Widstrom, N.W.; Wiseman, B.R.; Coe, E.H. Quantitative trait loci and metabolic pathways: genetic control of the concentration of maysin, a corn cornworm resistance factor in maize silks. *Proceedings of National Academic Science* 93: 8820-8825, 1996.
- Carmona, M.J.; Molina, A.; Fernandez, J.A.; Lopez-Fando, J.J.; Garcia-Olmedo, F. Expression of thionin gene from barley in tobacco confers enhanced resistance to bacterial pathogens. *Plant Journal* 3: 457-462, 1993.
- Carneiro, V.T.C.; Conroi, T. Protoplastos de células vegetais. In: Torres, A.C. e Caldas, L.S. *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: EMBRAPA-CNPQ/ABCTP, 1990. p.215-245.
- Carneiro, V.T.C.; Conroi, T.; Barros, L.M.; Matsumoto, K.G. Protoplastos: Cultura e aplicações de células vegetais. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S.; Buso, J.A. *Cultura de Tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v.1, p.413-458.
- Cassels, A.C.; Barlass, M. The initiation of TMV infection in isolated protoplasts by polyethylene glycol. *Virology* 87: 459-462, 1978.
- Chase, K.; Adler, F.R.; Lark, K.G. EPISTAT a computer program for identifying and establishment interactions between pairs of quantitative traits loci. *Theoretical and Applied Genetics* 94: 724-730, 1997.
- Chilton, M.D.; Drummond, M.H.; Merlo, D.J.; Sciaky, D.; Montoya, A.L.; Gordon, M.P.; Nester, E.W. Stable incorporation of plasmid DNA into Higher plant cells: the molecular basis of crown gall tumorigenesis. *Cell* 11: 263-434, 1977.
- Chilton, M.D.; Tepfer, D.A.; Petit, A.; David, C.; Casse-Delbart, F.; Tempé, J. *Agrobacterium rhizogenes* inserts T-DNA into the genomes of host plant root cells. *Nature* 295: 432-434, 1982.
- Cocking, E.C. A method for the isolation of plant protoplasts and vacuoles. *Nature* 187: 962-963, 1960.

- Cordeiro, M.C.R.; Grossi De Sá, M.F. Biotecnologia e resistência a patógenos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 10: 34-39, 1999.
- Dangl, J. Plants just say no to pathogens. *Nature* 394: 525-527, 1998.
- Duan, X.; Li, X.; Xue, Q.; Abo-El-Saad, M.; Xu, D.; Wu, R. Transgenic rice plants harboring an introduced potato proteinase inhibitor II gene are insect resistant. *Nature Biotechnology* 14: 494-498, 1996.
- Duval, C.M.; Caldas, L.S.; Resende, R.O. Aplicações da cultura de tecidos na Fitopatologia. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S.; Buso, J.A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v.1, p.45-68.
- Dweikat, I.; Ohm, H.; Patterson F.; Cambron, S. Identification of RAPD markers for Hessian fly resistance genes in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 94: 419-423, 1997.
- Earle, E.D.; Gracen, V.E. effects of *Helminthosporium* phytotoxins on cereal leaf protoplasts. In: *Congress on Plant Tissue Cell Culture, 5.*, Tokyo – Japan, 1982. *Proceedings...* Tokyo: Japanese Association for Plant Tissue Culture, 1982. p.663-664
- Farah, S.B. *DNA segredos e mistérios*. São Paulo: SARVIER, 1997, 276p.
- Ferreira, M.E.; Grattapaglia, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas*. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 1998, 220p.
- Ferreira, M.E.; Caldas, L.S.; Resende, R.O. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S.; Buso, J.A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v.1, p.21-68.
- Fitchen, J.H.; Beachy, R.N. Genetically engineered protection against viruses in transgenic plants. *Annual Review of Microbiology* 47: 739-763, 1993.
- Flor, H.H. Inheritance of reaction to rust in flax. *Journal of Agricultural Research* 74: 211-263, 1947
- Franco, O.L.; Melo, F.R.; Silva, M.C.M.; Grossi de Sá, M.F. Resistência de plantas a insetos: inibidores de enzimas digestivas e a obtenção de plantas resistentes. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 11: 36-40, 1999.
- Hain, R.; Reif, H.J.; Krause, E.; Langebartels, R.; Kindl, H.; Vornam, B.; Wiese, W.; Schmeltzer, E.; Schreier, P.H.; Stocker, R.H.; Stenzel, K. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature* 361: 153-156, 1993.
- Harrison, B.D.; Mayo, M.A. The use of protoplasts in plant virus. In: Helgeson, J.P.; Deverall, B.D. (Eds.) *Use of tissue culture and protoplast in plant pathology*. New York: Academic Press, 1983. p.69-137.

- Hassan, A.A.; Mazayd, H.M.; Moustafa, S.H.; Nassar, S.H.; Nakhla, M.K.; Sims, W.L. Inheritance of resistance to tomato yellow leaf curl virus derived from *Lycopersicon chesmanii* and *Lycopersicon hirsutum*. HortScience 19: 574-575, 1984.
- Heath-Pagliuso, S. Pullman, J.; Rappaport, L. Somaclonal variation in celery: screening for resistance to *Fusarium oxysporum* ssp. *apii*. Theoretical and Applied Genetics 75: 446-451, 1988.
- Heinz, D.J.; Krishnamurthi, M.; Nickell, L.G. e Marezki, A. Cell, tissue and organ culture in sugarcane. In: Reinert, J.; Bajaj, Y.P.S. Plant cell, tissue and organ culture. Berlin: Springer-Verlag, 1977. p.3-17.
- Helgeson, J.P.; Hunt, G.J.; Haberlach, G.T.; Austin, S. Somatic hybrids between *solanum brevidens* and *Solanum tuberosum*: Expression of a late bright resistance gene and potato leaf roll resistance. Plant Cell Reporters 3: 212-214, 1986.
- Hilder, V.; Gatehouse, A.; Sheerman, S.; Baker, R.; Boulter, D. A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. Nature 330: 160-163, 1987.
- Ishii, T.; Brar, D.S.; Multani, D.S.; Khush, G.S. Molecular tagging of genes for Brown planthopper resistance e carliness introgressed from *Oryza australiensis* into cultivated rice *Oryza sativa*. Genome 37: 217-221, 1994.
- Jach, G.; Gönhardt ; Mundy J.; Logeman J.; Pinsdorf, E.; Leah, R.; Schell, J.; Maas, C. Enhanced quantitative resistance against fungal disease by combinatorial expression of different barley antifungal proteins in transgenic tobacco. The Plant Journal 8: 97-109, 1995.
- Jongsma, M.A.; Bolter, C. The adaptation of insects to plant protease inhibitors. Journal of Insect Physiology 43: 885-895, 1997.
- Joosten, M.H.A.J.; De Wit, P.J.G.M. Identification of several pathogenesis-related proteins in tomato leaves inoculated with *Cladosporium fulvum* (Syn. *Fulvia fulva*) as  $\beta$ -1,3 -glucanase and chitinases. Plant Physiology 89: 945-951, 1989.
- Jouanin, Bonadé-Bottino, M.; Girard, C.; Morrot, G.; Giband, M. Transgenic plants for insecta resistance. Plant Science 131: 111, 1998.
- Kerbauy, G.B. Clonagem de plantas *in vitro*. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento 1: 30-33, 1997.
- Krikorian, A.D.; Cronauer, S.S. Banana. In: Sharp, W.R.; Evans, D.A.; Ammirato, P.V.; Yamada, Y. (Eds.) Handbook of plant cell culture. New York: Macmillan, 1984.p.327-348.

- Lamb, C.J.; Ryals, J.A.; Ward, E.R.; Dixon, R.A. Emerging strategies for enhancing crop resistance to microbial pathogens. *Biotechnology* 10: 1436-1445, 1992.
- Lander, E.S.; Botstein, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199, 1989.
- Leah, R.; Tommerup, H.; Svendsen, I.; Mundy, J. Biochemical and molecular characterization of three barley seed proteins with antifungal properties. *Journal of Biological Chemistry* 266: 1464-1573, 1991.
- Lemos, M.V.F. Novas tecnologias, controle biológico por *Bacillus thuringiensis*. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 2: 12-17, 1997.
- Levine, A.; Pennel, R.I.; Alvarez, M.E.; Palmer, R.; Lamb, C. Calcium-mediated apoptosis in a plant hypersensitive disease resistance response. *Current Biology* 6: 427-437, 1996.
- Lewin, B. *Genes VII*. New York: Oxford University Press, 2000. 990p.
- Lisei de Sá, M.E.; Cançado, G.M.A.; Souza, C.M. Cultivo de plantas *in vitro* e suas aplicações. *Informe Agropecuário* 21(204): 116-123, 2000.
- Lius, S.; Manshardt, R.M.; Fitch, M.M.M.; Slinghtom, J.L.; Sanford, J.C.; Gonsalves, D. Pathogen-derived resistance provides papaya with effective protection against papaya ringspot virus. *Molecular Breeding* 3: 161-168, 1997.
- Loesh-Fries, L.S.; Hall, T.C. Synthesis, accumulation and encapsidation of individual brome mosaic virus RNA components in barley protoplasts. *The Journal of General Virology* 47: 323-332, 1980.
- Lorito, M.; Woo, S.L.; Fernandez, I.G.; Colucci, G.; Harman, G.E.; Pintor-Toro, J.A.; Filippone, E.; Muccifora, S.; Lawrence, C.B.; Zoina, A.; Tuzun, S.; Scala, F. Genes from mycoparasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens. *Proceedings of National Academic Science* 95: 7860-7865, 1998.
- Maliepaard, C.; Bas, N.; VanHeusden, S.; Kos, J.; Pet, G.; Verkerk, R.; Vriclink, R.; Zabel, P.; Lindhout, P. Mapping of QTLs for glandular trichome densities and *Trialeurodes vaporariorum* (greenhouse whitefly) resistance in an F2 from *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. *Heredity* 75: 425-433, 1995.
- Mantell, S.H.; Mathews, J.A.; McKee, R.A. *Princípios de biotecnologia em plantas: uma introdução à engenharia genética em plantas*. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1994. 344p.
- Michelmore, R.W.; Paran, I.; Kesseli, R.V. Identification of makers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect makers in specific genomic regions by using segregating

- populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88: 9828-9832, 1991.
- Milach, S.C.K. Marcadores moleculares em plantas. Porto Alegre: Editora, 1998, 141p.
- Motoyoshi, F. Protoplasts in virology. In: Fowke, L.C.; Constabel, F. (Eds.) *Plant protoplasts*. Boca Raton: CRC Press, 1985. p.119-137.
- Mutscheler, M.A.; Doerge, R.W.; Liv, S.C.; Kuai, J.P.; Liedl, B.E.; Shapiro, J.A. QTL analysis of pest resistance in the wild tomato *Lycopersicon pennellii*: QTL 92s controlling acylsugar level and composition. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 709-718,1996.
- Nair, S.; Kumar, A.; Srivastava, M.N.; Mohan, M. PCR-based DNA markers linked to a gall midge resistance gene, Gm4t, has potential for marker-aided selection in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 660-665,1996.
- Nienhuis, J.; Helentjaris, T.; Slocum, M.; Ruggero, B.; Schaefer, A. Restriction fragment length polymorphism analysis of loci associated with insect resistance in tomato. *Crop Science* 27: 797-803, 1987.
- Nieto-Lopez, R.M.; Blake, T.K. Russian wheat aphid resistance in barley: inheritance and linked molecular markers. *Crop Science* 34: 655-659, 1994.
- Pasqual, M.; Carvalho, G.R.; Hoffmann, A.; Chalfun, N.N.J.; Ramos, J.D. *Cultura de tecidos Tecnologia e Aplicações: aplicações na propagação de plantas*. Lavras: UFLA/FAEPE, 1998.130p.
- Pescador, R.; Koller, O.C. propagação in vitro do bacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) cv. Pérola. *Revista Brasileira de Fruticultura* 14: 738-743, 1986.
- Pilowsky, M.; Cohen, S. tolerance of tomato yellow leaf curl virus derived from *Lycopersicon peruvianum*. *Plant Disease* 74: 248-250,1990.
- Powell-Abel, P.A.; Nelson, R.S.; De, B.; Hoffmann, N.; Rogers, S.; Fraley, R.T.; Beachy, R.N. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science* 232: 738-748, 1986.
- Ramalho, M.A.P.; Santos, J.B.; Pinto, C.A.B. *Genética na agropecuária*. Lavras: Editora UFLA, 2000. 472p.
- Reich, E.L. ; Aragão, F.J.L. Biobalística. In: Brasileiro, A.C.M.; Carneiro, V.T. *Manual de transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998.p.51-64.
- Reimann-Philipp, U.; Beachy, R.N. Coat protein-mediated resistance in transgenic tobacco expressing tobacco mosaic virus coat protein from a

- tissue-specific promoter. *Molecular Plant Microbe Interactions* 6: 323-330, 1993.
- Richardson, M.J. Sed storage protein: the enzyme inhibitors. In: Roger, L.J. (Ed.) *Methods in plant biochemistry*. New York: Academic Press, 1991. v.5, p.259-305.
- Robbs, C.F.; Bittencourt, A.M. Controle biológico de insetos: o controle biológico de insetos nocivos à agricultura com o emprego de fungos imperfeitos ou hifomicetos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 6: 10-12, 1998.
- Sanford, J. The development of biolistic process. *In Vitro Cellular & Development Biology – Plant* 36: 303-308, 2000.
- Schön, C.C.; Lee, M.; Melchinger, A.E.; Guthrie, W.D.; Wood-man, W.L. Mapping and characterization of quantitative traits loci affecting resistance against second-generation european corn borer in maize with the aid of RFLPs. *Heredity* 70: 648-659, 1993.
- Schuster, D.J.; Waddill, V.H. Augustine, J.J.; Volin, R.b. Field comparisons of *Lycopersicon* accesions for resistance to the tomato pinworm and vegetable leafminer. *Journal American for Horticultural Science* 104: 170-172, 1979.
- Scowcroft, W.R.; Larkin, P.J.; Bretell, R.I.S. genetic variation from tissue culture. In: Helgeson, J.P. e Deverall, B.J. (Eds.) *Use of tissue culture and protoplasts in plant pathology*. New York: Academic Press, 1983. p.139-162.
- Shade, R.E.; Schroeder, H.E.; Pueyo, J.J.; Tabe, L.M.; Murdock, L.L.; Higgins, T.J.V.; Chrispeels, M.J. Transgenic pea seeds expressing the  $\alpha$ -amylase inhibitor of the common bean are resistant to bruchid beetles. *Biotechnology* 12: 793-796, 1994
- Silva-Filho, M.C.; Falco, M.C. Interação planta-inseto. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 12: 38-42, 2000.
- Spencer, D.F.; Kimmins, W.C. Presence of plasmodemata in callus cultures of tobacco and carrot. *Canadian Journal of Botany* 47: 2049-2050, 1969.
- Styer, D.J.; Chin, C.K. Meristem and shoot-tip culture for propagation, pathogen elimination, and germplasm preservation. *Horticultural Reviews* 5: 221-227, 1983.
- Takebe, I. Protoplasts in study of plant viruses replication. In: Fraenkel-Conrat, H.; Wagner, R.R. (Eds.) *Comprehensive virology*. New York: Plenum, 1977. p.237-283.
- Toyoda, H.; Shimizu, K. Chatani, K. Kita, N.; Matsuda, Y.; Ouchi, S. selection of bacterial wilt-resistant tomato through tissue culture. *Plant Cell Reports* 8: 317-320, 1989.

- Tricoli, D.M.; Carney, K.J.; Russel, P.F.; McMaster, J.R.; Groff, D.W.; Hadden, K.C.; Himmel, P.T.; Hubbard, J.P.; Boesmore, M.L.; Quemada, H.D. Field evaluation of transgenic squash containing single or multiple virus coat protein gene constructs for resistance to cucumber mosaic virus, watermelon mosaic virus. *Biotechnology* 13: 1458-1465, 1995.
- Vanderplanck, J.E. Disease resistance in plants. New York: Academic Press, 1968. 206p.
- Van Gijsegem, F.; Genin, S.; Boucher, C. Conservation of secretion pathways for pathogenicity determinants of plant and animal bacteria. *Trends in Microbiology* 1: 175-180, 1993
- Van Lent, J.; Wellink, J.; Goldbach, R. Evidence for involvement of the 58K and 48K proteins in the intercellular movement of cowpea mosaic virus. *The Journal of General Virology* 71: 219-223, 1990.
- Vieira, M.L.C. Hibridação somática em plantas: a importância das espécies selvagens como fontes de genes. *Biociência* 3: 36-40, 1997.
- Vierheilig, H.; Alt, M.; Neuhaus, J.; Boller, T.; Wiemken, A. Colonization of transgenic *Nicotiana glauca* plants, expressing different forms of *Nicotiana glauca* chitinase, by the root pathogen *Rhizoctonia solani* and by the mycorrhizal symbiont *Glomus mosseae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 6: 261-264, 1993.
- Wang, H.; Li, J.; Bostock, R.M.; Gilchrist, D.G. Apoptosis: a functional paradigm for programmed plant cell death induced by a host-selective phytotoxin and invoked during development. *The Plant Cell* 8: 375-391, 1996.
- Wilmink, A.; Dons, J.J.M. Selective agents and marker genes for use in transformation of monocotyledonous plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 11: 165-185, 1993.
- Yaghoobi, J.; Kaloshian, I.; Wen, I.; Williamson, V.M. Mapping new nematode resistance locus in *Lycopersicon peruvianum*. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 457-464, 1995.
- Yencho, G.C.; Bonierbale, M.W.; Tingey, W.M.; Plaisted, R.L.; Tanksley, S.D. Molecular markers locate genes for resistance to the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* in hybrid *Solanum tuberosum* x *S. berthaultii* potato progenes. *Entomological Experimental Applied* 81: 141-154, 1996.
- Zadoks, J.C. Modern protection - developments and perspectives. *Fitopatologia Brasileira* 22: 16-25, 1997 (suplemento).
- Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Chaves, G.M.; Chiacchio, F.B. Curso de especialização por tutoria à distância. Brasília: ABEAS, 2000. 85p.



Zerbini, F.M.; Brommonschenkel, S.H.; Vale, L.A.C.; Ambrozevícius, L.P.; Alfenas, A.C. Doenças de plantas e biologia molecular. Informe Agropecuário 21(204): 43-52, 2000.

# DESAFIOS DA BIOTECNOLOGIA APLICADA À PROTEÇÃO DE PLANTAS

GERSON QUIRINO BASTOS

## INTRODUÇÃO

Atualmente, o Estado de Pernambuco detém um elevado potencial de produção primária agrícola, com seus mais de 6.699.920 ha de terras cultivadas (IBGE, 1985), frente à demanda crescente por alimentos, biomassa e matérias-primas na economia contemporânea globalizada. Ante à expectativa e inserção do Nordeste, com uma população aproximada de 42.497.540 habitantes (IBGE, 1994), correspondendo a 28,94% da demografia brasileira, e cerca de 125.200.000 ha de terras agrícolas da Classe I a VI (Pessoa, 1990), num ritmo econômico e político mais efetivo dentro do Mercosul (Brasil-Argentina-Paraguai-Uruguai), certamente Pernambuco fortalecerá ainda mais seu papel desenvolvimentista regional. Ademais, não se pode desconhecer que os próximos desdobramentos do Brasil na participação direta ou indireta com outros blocos econômicos (ALCA, NAFTA, UE, etc.), exigirão muito mais desse Estado e dessa grande e viável Região. E, nesse cenário nacional e internacional, a educação em todos os seus níveis passará a ser um fator decisivo para a formação do capital intelectual gerador de Ciência & Tecnologia (C & T) com perfil próprio, endógeno, auto-sustentável e ajustado à realidade do País.

Sendo assim, a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) deverá ter dobrado sua responsabilidade e vocação político-social do ensino superior em Ciências Agrárias, pois seus qualificados recursos humanos e os diversos *campi* distribuídos num Estado geograficamente com intermediação regional, em muito a condicionam para assumir os novos desafios da tecnologia moderna e da produção agrícola crescente. Principalmente aqueles que impescindem das atividades acadêmicas de pesquisa, ensino e extensão voltadas para as mesorregiões nordestinas caracterizadas como Mata, Agreste e Sertão. O atual nível da tecnologia agrônômica em implantação nos perímetros irrigados do Rio São Francisco, os avanços da pecuária pernambucana de pequeno e grande porte, a expansão da floricultura estadual e a obtenção de um número crescente de

novas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) com a sigla RB (República do Brasil), constituem provas cabais da capacidade da UFRPE como Instituição Federal de Ensino Superior (IFES) e reconhecida componente social na dinâmica desenvolvimentista regional. Seguindo-se essa projeção, seus Programas de Pós-graduação já vêm acumulando, ao longo dos anos, marcas destacadas pela CAPES e CNPq como fomentadores de recursos humanos coadjuvantes para as ações de Pesquisa & Desenvolvimento (P&D) em Pernambuco e no Nordeste. Dentre os mesmos, o Programa de Pós-graduação em Fitossanidade tem sido relevado como vanguardista acadêmico, principalmente agora ao postular os Desafios da Proteção de Plantas na Agricultura Sustentável em sua Semana de Fitossanidade 2001, enfocando, entre outras matérias, a “Biotecnologia e Proteção de Plantas”.

O presente trabalho objetivou sistematizar os conhecimentos disponíveis e acumulados sobre o fitomelhoramento para a proteção fitossanitária das espécies agrícolas, durante nosso exercício profissional da Engenharia Agrônômica aplicada nas lavouras de cana-de-açúcar do Norte e Nordeste do Brasil.

## REVISÃO DE CONCEITOS

Em qualquer campo do saber das civilizações humanas, a conceituação dos termos vigentes numa determinada época, tornou-se o referencial cognitivo mais notório para a história da evolução e da herança social do conhecimento construído entre sucessivas gerações.

Considerando esse princípio, faz-se necessário revisar a terminologia pertinente à biotecnologia para proteção das plantas de espécies agrícolas. No Brasil, o termo biotecnologia é catalogado como um dos mais novos vocábulos nos dicionários nacionais, após um período de domínio coloquial como mais um neologismo criado pela C&T. Em 1998, o dicionário Michaelis conceituou a biotecnologia como “Ramo da tecnologia que se ocupa da aplicação de dados biológicos e de engenharia a problemas relacionados à ajustagem mútua do homem e da máquina” (sic). Uma definição mais atualizada e explicativa foi apresentada recentemente no dicionário Aurélio (2001) pelos seguintes termos: “Biotecnologia – aplicação de métodos e processos biológicos e bioquímicos à produção industrial, farmacêutica, medicinal, etc.”

Enquanto isso, nos Estados Unidos da América do Norte, como a mais influente fonte internacional de geração de tecnologia, já em 1941, a biotecnologia era tida como um termo aplicado à ciência biológica que lidava com a bioengenharia e agora com o DNA recombinante

(“*Biotechnology (1941) – Applied biological science – as bioengineering or recombinant DNA technology*”), segundo o Collegiate Dictionary (1998).

Para fins de nivelamento cultural e espelhado nos inúmeros exemplos de Paulo Freire (19/09/1921 – 02/05/1997) para a educação como forma de libertação dos aculturados ou dominados, considere-se uma outra revisão pontual para o termo. Reconhecendo que no Brasil, o entendimento social comum da palavra *Tecnologia* como sendo um conjunto de conhecimentos, geralmente com base em princípios científicos, aplicados a uma determinada atividade humana, pode-se convencionar e adotar para a presente abordagem a *Biotechnologia* como todo aquele conjunto de conhecimentos aplicado à vida.

## **A DIVERSIDADE DA BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

Na agricultura contemporânea é agronomicamente possível se constatar incontáveis aplicações de práticas biotecnológicas que atendem a contento ao termo anteriormente convencionado. Principalmente quando são consideradas as atividades, métodos e processos de ordem fitossanitária para a proteção das plantas cultivadas contra o ataque de pragas, a incidência de patógenos ou até mesmo no controle das plantas de espécies invasoras de lavouras e concorrentes daquelas espécies agrícolas.

Bastos (2000) discorreu sobre a Tecnologia de Sementes para fins didáticos, destacando que no controle da incidência de pragas, doenças de sementes e espécies vegetais invasoras podem ser adotados tratamentos para desinfestação, desinfecção ou profilaxia das sementes agrícolas de quaisquer classes: genética, básica, registrada, certificada e fiscalizada. Para tanto, relaciona o mesmo autor, há uma grande disponibilidade de métodos físicos, como a termoterapia; métodos químicos, a exemplo do uso de agrotóxicos com receituário agrônomo e métodos biológicos que contemplam várias alternativas, desde do uso de inimigos naturais dos agentes vivos contaminantes até a adoção de cultivares (*cultivated varieties*) resistentes aos mesmos predadores de lavouras e dos produtos agrícolas.

Considerando essa última alternativa biotecnológica citada, observa-se que, historicamente, há um amplo reconhecimento de engenheiros agrônomos, biólogos e agricultores que foi o fitomelhoramento o principal responsável pela evolução da agricultura nos quatro cantos do Mundo. Desde dos primórdios da agricultura primitiva (Lawrence, 1980) até hoje, na mais desenvolvida das agriculturas de quaisquer países ricos, emergentes ou subdesenvolvidos, a seleção de cultivares de maior produtividade (t/ha) e mais resistentes aos fatores bióticos concorrentes da produção agrícola, ampliou significativamente a oferta de alimentos, incrementou a segurança

das reservas alimentares em muitas nações e proporcionou melhores relações vantajosas de custo/benefício para esse item da atividade econômica primária.

Sendo assim, o binômio da Ciência & Tecnologia, representado pela combinação da Genética com o Melhoramento Vegetal, merece um enfoque mais detalhado, mormente agora na antevéspera da incalculável e iminente difusão do conhecimento da genética molecular para obtenção de novos organismos geneticamente modificados (ogms), destinados à agricultura.

## **BIOTECNOLOGIA PELA GENÉTICA APLICADA AO FITOMELHORAMENTO**

Quando Charles Darwin, em 1859, lançou seus princípios básicos da Origem das Espécies, as muitas semelhanças entre tipos diferentes de organismos vivos configuraram a possibilidade de haver uma origem natural comum sob o efeito acumulado da evolução pela seleção da natureza (Mettler & Gregg, 1973). Simultaneamente e por dedução lógica, ficou também caracterizado que a variação por diferenças individuais existentes em cada espécie ou população seria decisiva no processamento natural da eliminação dos indivíduos menos aptos.

Sendo assim, a adaptabilidade das plantas cultivadas ou silvestres pôde também ser explicada principalmente pela capacidade relativa das mesmas em deixar descendências crescentes, herdando, entre os inúmeros atributos, a aptidão de escapar ou resistir a predação de inimigos naturais e às doenças. Cientificamente, foi essa uma das primeiras grandes evidências do conhecimento humano sobre a existência de plantas naturalmente protegidas de pragas e doenças, ou até mesmo dos efeitos alelopáticos das espécies botânicas tidas como concorrentes ou invasoras.

### **Princípios do fitomelhoramento**

Como o fitomelhoramento é uma das mais antigas biotecnologias praticadas na agricultura mundial (Lawrence, 1980), torna-se necessário reavivar parte do conhecimento dos princípios científicos que a fundamentaram. Primeiramente, vale destacar que Gregor Mendel (1822-1884), contemporâneo de Charles Darwin, já em 1865, viria estabelecer suas duas leis da herança genética: a Lei da Segregação e a Lei da Distribuição Independente dos caracteres. Porém foi no final do Século XIX, precisamente em 1900, com a redescoberta das Leis de Mendel e, posteriormente, por ter surgido uma geração seriada de inúmeras outras pesquisas aplicadas à biotecnologia, quando houve então a combinação mais

sedimentada do binômio genética e obtenção de organismos geneticamente modificados.

Num resumo cronológico, a partir de citações de Frey (1966), Metter & Gregg (1973) e Gardner (1977), pode-se referenciar a seguinte evolução inicial do conhecimento viabilizador da biotecnologia agrícola:

- 1865 – Mendel, G. lança suas duas leis da genética;
- 1900 – Correns, C.; De Vries, H. e Tschermak, E, redescobrem simultaneamente, mas de forma independente, as leis mendelianas;
- 1902 – Boveri, T. e Sutton, W.S. demonstraram que havia unidades componentes dos cromossomos;
- 1903 – Johanssen, W. apresentou sua teoria das linhas puras em feijão e criou o termo gen;
- 1905 – Bateson, W. lançou o termo genética por significar “gerar”, na sua origem grega;
- 1909 – Garrod, E. descobriu que os genes produzem enzimas;
- 1931 – Wright, S. difunde seus fundamentos sobre a evolução mendeliana em populações;
- 1947 – Mangelsdorf, P.C. divulgou seus estudos sobre a origem e a evolução do milho;
- 1949 – Anderson, E. abordou o fenômeno da hibridação introgressiva;
- 1952 – Kempthorne, O. sugeriu os delineamentos e modelos de análises e experimentos;
- 1963 – Finlay, K.W. e Wilkinson, G.N. estabelecem a análise de adaptação num programa de fitomelhoramento;
- 1968 – Van Der Plank, J.E. expõe as bases da resistência das plantas às doenças;
- 1980 – Maxwell, F.G. e Jennings, P.R. apresentam uma revisão detalhada sobre o fitomelhoramento para resistência a insetos.

Dessa forma, da genética clássica do final do Século XIX à genética biomolecular desenvolvida até o término do Século XX, muitos progressos foram alcançados para o fitomelhoramento agrícola, destacando-se principalmente aqueles que objetivaram a obtenção e seleção de cultivares mais produtivos e menos suscetíveis aos agentes bióticos contaminantes e predadores da agricultura e de seus produtos. Por esse estado da arte, constata-se que a biotecnologia vegetal pode ser considerada como uma das

mais dinâmicas, versátil e autotransformadora para se conseguir impulsionar a evolução da agricultura mundial e do Brasil.

### **Pioneirismo biotecnológico de Pernambuco com a cana-de-açúcar**

Como a cana-de-açúcar não foi uma espécie botânica originada nas Américas, certamente as primeiras variedades ou cultivares introduzidas pelos espanhóis e portugueses, foram trazidas, respectivamente, das Ilhas Canárias e das Ilhas da Madeira, segundo Magalhães (1953). Pelo mesmo autor, os exemplares do Brasil Colonial tinham simplesmente o nome de Cana que, depois passaram a ser chamados de Crioula ou Cana-da-Terra, porém sem nenhuma caracterização de seus descritores fenotípicos que possibilitassem distinguir se havia ou não uma mistura de genótipos nas populações.

Após mais de dois séculos de exploração da Cana, o Brasil importou de Caiena (Guiana Francesa) uma variedade canavieira que em todo seu período de cultivo, isto é, de 1810 a 1880, ficou conhecida nas regiões canavieiras de Pernambuco e do Nordeste como Cana Caiana (Dantas, 1960). Entretanto, em 1869, surgiu na Bahia e, posteriormente, em Pernambuco a doença com o nome de Gomose nos canaviais, comprometendo a produtividade agrícola e condenando aquela variedade ao desuso por a mesma não ter uma proteção natural contra esta incidência patogênica.

Segundo o Geran (1971), esse problema fitossanitário induziu, no Estado de Pernambuco, a tentativa empírica de obtenção de novas variedades, através da semeadura de cariopses formados em polinização livre da Caiana. Portanto, caracterizando-se como o primeiro passo da biotecnologia agrícola visando a proteção de plantas, pois, das 10 plântulas obtidas por Manoel Cavalcanti, em Vitória de Santo Antão (PE), duas delas se destacaram\_ a Manteiga e a Manoel Cavalcanti\_ como as mais produtivas e resistentes, tendo ambas sido cultivadas comercialmente por mais de 40 anos.

Novamente, em Pernambuco, já em 1913, ainda conforme registro do Geran (1971), a Estação Experimental de Escada (PE) encetou novos estudos biotecnológicos visando a seleção de genótipos mais resistentes à broca da *Diatraea* e ao inseto *Trioriymus sacchari*. E, na Década de 20, segundo a mesma autoria, os novos genótipos de cana-de-açúcar aprovados na Estação Geral de Experimentação de Barreiros (PE) e sucessora da de Escada, foram denominados de EB-4, EB-10, EB-26 e EB-53. Logo os mesmos passaram a ter aceitação comercial nos canaviais, ratificando a vocação de Pernambuco como pioneiro no incremento da produtividade agroindustrial através da exploração da biotecnologia agrícola. A retrocitada referência confirma ainda que, em 1933, surgiram também os primeiros clones canavieiros da

Escola de Agronomia de São Bento (PE), batizadas como SBP 28-27, SBP 28-76 e SBP 28-86. Todas elas obtidas pelo mais ilustre de seus ex-alunos, o engenheiro agrônomo Apolônio Salles, também reconhecido como o construtor da Hidroelétrica de Paulo Afonso (BA).

Resumidamente, constata-se que, em grande parte de transcurso do Século XX, os diversos desafios sobre a proteção de plantas de cana-de-açúcar em Pernambuco foram também confrontados com introduções contínuas, de caráter nacional ou internacional, de novos genótipos mais produtivos e resistentes. Entre os principais problemas surgidos, destacaram-se o mosaico, broca gigante, mal-de-raiz, podridão das estacas, podridão vermelha do colmo, cupins dos rebolos etc. Segundo Dantas (1960), a flutuação censitária das principais variedades comerciais exploradas no Estado, até depois de 1950, podem servir de demonstrativo das tentativas biotecnológicas de introduzir mais material genético objetivando manter ou aumentar a produtividade e também conferir maior proteção natural fitossanitária.

Como marco valioso desse pioneirismo ora retratado, tem-se a variedade RB 72454, liberada em 1982, na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina (EECAC), pelo extinto PLANALSUCAR. Atualmente, essa variedade apresenta-se como uma das mais plantadas em todo Brasil, totalizando cerca de 20,40 % em 1.166.287 ha de canaviais do Centro-sul e Nordeste-leste (IDEA, 1999). Ademais, a mesma tem seus variados graus de resistência às principais doenças dos canaviais, conforme pode ser constatado na Tabela 11.1.

Para uma área de 1.224.420 ha cultivados com cana-de-açúcar no Nordeste, Bastos (1986) registrou que havia um perfil varietal censitário em rápida mutação na Região. Procurando destacar aquelas variedades que estavam como as mais plantadas naquela ocasião ou com elevado potencial agroindustrial, o mesmo autor difundiu, via informação técnica aos produtores, a Tabela 11.2 como referência dos genótipos usuais e suas reações particulares às principais doenças.



Tabela 11.1 – Graus de reação da variedade RB 72454, liberadas em Pernambuco, no ano de 1982, às principais doenças (PLANALSUCAR, 1987).

<b>Doenças</b>	<b>Reações</b>
Carvão	Moderadamente resistente
Escaldadura das folhas	Intermediária
Ferrugem	Resistente
Mancha amarela	Suscetível
Mancha ocular	Resistente
Mancha parda	Suscetível
Mosaico	Resistente
Nematóides	Intermediária
Podridão da casca	Suscetível
Podridão vermelha	Resistente
Raquitismo da soqueira	Intermediária

Tabela 11.2 – Principais variedades canaveiras de Pernambuco, em 1986, com suas reações ao carvão e à ferrugem da cana-de-açúcar (Bastos, 1986).

<b>Doenças</b>	<b>Reações*</b>	<b>Variedades</b>
Carvão	R	CB 45-15, Co 740, Co 997, RB 721012
	I	NA 56-79, RB 72454, SP 71-6163, SP 71-799
	S	H 32-8560, H 52-7209, CP 57-603, MEX 55-250
Ferrugem	R	CB 45-3, Co 331, Co 997, RB 70194, RB 70141, RB 72454
	I	CB 41-76, Co 419, IAC 51-205, IAC 52-150
	S	B 4362, B 51415, RB 725828, SP 70-1143

\*R = resistente; I = intermediária; S = suscetível.

## **Outros exemplos do fitomelhoramento no Brasil**

Em todo o mundo, o binômio representado pela maior produtividade agrícola (t/ha) e resistência aos agentes bióticos contaminantes das lavouras e seus produtos, sempre esteve por trás dos principais objetivos dos programas de melhoramentos de diversos países. O fenômeno da degenerescência varietal condicionando a longevidade de cada genótipo comercial e a dinâmica genética evolutiva da macro e microbiota do ambiente e dos concorrentes da lavoura, condicionaram o fitomelhoramento

como uma biotecnologia dinâmica e contínua para a busca constante das melhores cultivares.

Nakano (1999), ao apresentar uma crônica sobre a proteção vegetal, destacou que o intercâmbio globalizado de mercadorias e produtos agrícolas aumentou as probabilidades de disseminação de pragas e doenças entre países. Segundo ele, o Brasil precisa fortalecer sua Vigilância Sanitária Vegetal, pois há ainda mais de uma centena de pragas potencialmente importantes no Exterior e, felizmente não confirmadas na agricultura nacional. Os exemplos vivenciados historicamente com o surgimento da lagarta rosada do algodoeiro, broca do café, bicho mineiro do café e mosca das frutas não devem ser olvidados tão cedo. Por outro lado, se for também considerado o número de espécies ou raças de patógenos (fungos, bactérias, vírus, nematóides etc.) de outras agriculturas estrangeiras ainda inexistentes no território nacional, há de se reconhecer como imprescindível o controle sanitário de portos, aeroportos e rodovias como mecanismo auxiliar importantíssimo para o fitomelhoramento.

Segundo ainda Nakano (1999), nos últimos 20 anos do Século XX, surgiram no Brasil as seguintes novas pragas indutoras de mudanças nos atuais programas de melhoramento vegetal:

- Bicudo do algodoeiro
- Broca das axilas da soja
- Besouro Idi Amin
- Cochonilha dos capins
- Cochonilha da mangueira
- Larva minadora das folhas dos citros
- Mosca do sorgo
- Percevejo Blissus
- Traça do tomate
- Traça da macieira

Considerando os problemas fitossanitários já existentes na agricultura brasileira, Borém (1999) compilou alguns resultados genéricos do fitomelhoramento bem sucedido pela hibridação artificial de plantas, conforme pôde ser sintetizado na Tabela 11.3.

Tabela 11.3 – Principais espécies agrícolas e algumas de suas variedades ou clones com resistências obtidas pela biotecnologia agrícola (Borém, 1999).

<b>Espécies</b>	<b>Variedades ou clones com resistência</b>
Algodão	IAC-RM3, EPAMIG-4, IAC-22, EPAMIG-3 e IAC-18
Amendoim	IAC-Caiapó, IAC-Jumbo, VRR-245, Acesso 2.117 e IAC-1075
Arroz	BR-IRGA 409 e Metica 1
Aveia	UFRGS 881920 e UFRGS 15
Cacau	TSH 516, TSH 565 e TSH 1188
Café Arábico	Bourbon-Amarelo, Catuaí e Catuaí-Vermelho
Cevada	BR 2 e EMBRAPA 43
Feijão	Aroana 80, Carioca 80, Vargem Roxa, Caraota 260, Piratã 1 e Preto 2449
Mandioca	IM-158, IM-186, EAB-670 e EAB-81
Soja	IPAGRO 21, Renascença, Liderança, IAC-100 e IAC-17

### **Mecanismos fitomelhoristas para proteção fitossanitária de plantas**

Há muito tempo que se tem observado em campo, laboratório e casa de vegetação a existência de uma especialização recíproca entre parasitas e espécies de plantas hospedeiras, pois sempre se constatou diferentes graus de resistência à patogenicidade de um organismo predador. Principalmente, quando se considera as diferentes cultivares ou linhagens de uma espécie agrícola.

Vanderplank (1968), ao lançar seus resultados de pesquisa sobre resistência das plantas às doenças, mencionou o “triângulo da doença” como a integração dos fatores - hospedeiro x patógeno x ambiente - para desencadear uma determinada epifitias. Daí despreende-se como importantes são os genomas da planta hospedeira e de seus agentes bióticos contaminantes ou predadores, pois ambos interagem entre si sob os efeitos das variações edafo-climáticas reinantes nos diversos sistemas de produção agrícola.

Com base nesse conhecimento, faz-se necessário rever como um caráter geneticamente diferenciado para proteção de planta interfere na adaptabilidade da espécie agrícola às condições de cultivo. Pelo fitomelhoramento, é saber comum que os efeitos qualitativos ou quantitativos da resistência podem ter, respectivamente, herança do tipo mono ou oligogênica (um ou poucos genes envolvidos) ou poligênica (vários genes expressando o caráter). Outro fundamento generalizado é que a

expressão gênica para qualquer caráter, inclusive o de resistência a agentes bióticos, pode ser por ação intra-alélica (recessiva, dominante ou semidominante) ou inter-alélica (completamentar, aditiva ou epistática). Agora, considerando-se os estudos de Vanderplank (1968), pode-se levar em conta os dois tipos conhecidos de resistência encontrados nas espécies agrícolas:

a) Resistência específica ou vertical quando a mesma é somente contra alguns biotipos de espécies de pragas ou de patógenos; sendo governada por um ou poucos genes, conferem alto grande resistência específica, porém é de pouca estabilidade e pode se facilmente incorporada em novas cultivares pela adoção dos retrocruzamentos dirigidos;

b) Resistência geral ou horizontal que é expressa igualmente contra todos os biotipos de espécie de pragas ou patógenos; apresenta maior estabilidade por ser controlada por inúmeros genes, impescidindo dos estudos de genética quantitativa e por haver maior dificuldade para sua incorporação nas futuras cultivares.

Para complementar, combinando agora os fundamentos técnicos propostos por Vanderlank (1968) e Maxwell & Jennings (1980), pode-se sintetizar assim os mecanismos de reação em plantas cultivadas:

- Para insetos, os mecanismos podem ser do tipo não-preferência, antibiose ou tolerância aos biotipos de suas espécies;
- Para patógenos, os mecanismos conhecidos são por impedimento do agente causal, alta resistência e por reação intermediária de resistência ou tolerância da planta.

Finalmente, tem-se da genética de populações de seres vivos como plantas, insetos e microorganismos, que a variação genética presente entre os genomas de cada germoplasma se perpetuam pela herança e que as novas recombinações gênicas, migrações, mutações e a seleção exercerão sempre uma influência contínua sobre a evolução artificial ou natural de todo material genético envolvido no fitomelhoramento.

Como essa revisão, depara-se com a clara evidência de que a relação gene/hospedeiro vis-à-vis gene/inseto ou microorganismo é muito dinâmica e instável, tanto na natureza como nos agrossistemas estabelecidos. Portanto, na modernização da biotecnologia aplicada à obtenção de novas cultivares, tal relação também prevalecerá, condicionando os resultados alcançáveis. Pois, sempre haverá para os genes de resistência, nas plantas, naturais ou alienígenas com introgressão, outros genes correspondentes nos agentes bióticos que se destinam a viabilizar suas sobrevivências na infinita relação hospedeiro x predador x ambiente.

## Limiar da biotecnologia agrícola moderna

Nesse início de Século XXI, reconhece-se que a velocidade dos progressos da biologia molecular, em sinergia com a bioquímica e biofísica, decuplicaram as possibilidades de avanços na biotecnologia agrícola moderna. As macromoléculas tiveram suas funções mais delineadas, constatando-se que o ser vivo total é a resultado final dos processos de cada célula que, como menor unidade de vida, contribui na expressão do todo pelos tecidos e órgãos formados, segundo Hobbelink (1990).

A expectativa da obtenção rápida de cultivares promissores com maior proteção contra pragas, doenças, agroquímicos e espécies vegetais concorrentes, em muito potencializa agora a biotecnologia agrícola moderna. O III Milênio abriu um longo e próximo horizonte de avanço técnico-científico, pois, sobre todo o conjunto de conhecimentos da Era Mendeliana, passou-se a produzir modernamente os organismos geneticamente modificados (ogms). Se antes esses organismos eram assim denominados por receber genes ou alelos diferentes, mas da mesma espécie agrícola ou daquelas com gêneros aproximados, agora serão passíveis de receber também genes de outras espécies, até mesmo daquelas mais distanciadas em filo, através da introgressão gênica em laboratório e posterior avaliação agrônômica das cultivares transgênicas obtidas.

Uma prospecção sumária das inúmeras possibilidades criadas pela biotecnologia agrícola moderna pode assim ser apresentada:

- A engenharia genética “*in vivo*” tornou possível a fusão de protoplastos e a produção dos híbridos citoplasmáticos (cíbridos);
- A engenharia genética “*in vitro*” para a produção técnica do DNA recombinante visando a introdução de genes específicos em cultivares comerciais, passou a ser atividade básica para a obtenção dos novos ogms;
- A cultura de tecidos de planta (CTP), explorando os conhecimento sobre a ciência da morfogênese e a totipotência das células vegetais, regenerando novas plantas, é uma prática comum nas escolas superiores, empresas e institutos de pesquisa agropecuária;
- A micropropagação como forma rápida e assexuada de grande multiplicação dos melhores genótipos, fitossanitariamente limpos, passou a ser realidade na produção industrializada das biofábricas de mudas clonadas;
- A produção de variabilidade genética, explorável no fitomelhoramento, a partir das células não diferenciadas nos ciclos de cultura de tecidos e com a regeneração das novas plantas pelo cultivo

de explantes, possibilitou a artificialização da mutação e o incremento da diversidade;

- A descoberta e caracterização de toda a constituição gênica de alguns genomas têm sinalizado positivamente para a identificação da biodiversidade, elaboração de mapas genéticos mais precisos, marcação de blocos controladores de características quantitativas pelos poligenes e a seleção precoce de genótipos desejados.

Sabendo-se que a engenharia genética e a biologia molecular em geral constituem o nível de fronteira mais avançado da biotecnologia (Salles Filho, 1993), a seqüência das fases de trabalho para o desenvolvimento de uma planta geneticamente modificada pode assim ser configurada:

- 1º. passo - identificação do gene responsável pela expressão da característica agrônômica que se deseja incorporar na cultivar, como resistência à praga, doença ou a um agroquímico específico;
- 2º. passo - isolamento genético do gene selecionado em laboratório;
- 3º. passo - clonagem do gene alvo para uso posterior na transgenia;
- 4º. passo - introdução do gene replicado no DNA do genótipo receptor;
- 5º. passo - regeneração de novas plantas a partir de explantes do material genético transformado;
- 6º. passo - realização de retrocruzamentos com genitores selecionados para fixar o novo caráter agrônômico desejado;
- 7º. passo - levantamento geral sobre o ogm, com avaliações fenológicas, morfológicas, genéticas e moleculares;
- 8º. passo - monitoramento sobre os efeitos da toxidade eventualmente presente na nova planta ou causados pelo gene estranho;
- 9º. passo - apresentação formalizada do novo ogm obtido para a Comissão de Tecnologia Nacional de Biossegurança (CTNBio) para autorização oficial dos experimentos de campo;
- 10º. passo - realização de estudos de impacto ambiental e de segurança alimentar dos produtos desse ogm;
- 11º. passo - requerimento da liberação às instituições oficiais para a nova cultivar transgênica, visando sua posterior produção e comercialização como sementes ou mudas fiscalizadas pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAA).

Em que pese as grandes possibilidades técnicas de aproveitamento da transgenia, os resultados até então alcançados podem ser considerados com incipientes e muito distante daqueles índices de aumento de produtividade agrícola historicamente atingido pela genética mendeliana e quantitativa. Senão, comparem-se os poucos exemplos das transgenia no Exterior:

- algodão do tipo Bollgard R, protegido contra diversos insetos por genes provenientes de *Bacillus thuringiensis* (Bt) – USA;
  - batata *New Leaf* R com a mesma transgenia da cultivar anterior;
  - milho Yieldgard R também com a mesma transgenia das cultivares anteriores;
- soja *Roundup Ready* R que geneticamente modificada, apresenta-se como tolerante ao ingrediente ativo herbicida conhecido como glifosate.

## EXPECTATIVA DA TRANSGENIA NO BRASIL

À semelhança das agriculturas praticadas em diversos países, a agricultura brasileira e sua grande importância internacional no mercado globalizado de mercadorias primárias (*commodities*) estão também no limiar da transição entre duas fases marcantes nas tecnologias agrícolas. Antes, as tecnologias eram principalmente viabilizadas pela Matriz Petróleo com o uso e dependência crescente para os agro-químicos propalados pela Revolução Verde. Agora, adentra-se nas tecnologias agrícolas com a predominância da Matriz Biotecnológica Gênica. Entre as conseqüências mais imprevisíveis a serem evitadas, releva-se a dominação da Ciência & Tecnologia transnacional, com seus patentes de cultivares e sementes transgênicas estrangeiras, sobre os destinos, a rentabilidade econômica e a sobrevivência de uma agricultura brasileira hoje muito competitiva.

A biotecnologia agrícola moderna no Brasil prenuncia grandes avanços para o fitomelhoramento nacional de espécies agrícolas se forem vencidas as condições básicas de infra-estrutura nos laboratórios biotecnológicos brasileiros, a formação contínua de recursos humanos especializados em biotecnologia e, como condição *sine qua non*, se for incrementada a dinâmica de seu fitomelhoramento clássico, provedor comum das novas cultivares produtivas que, provavelmente, servirão por muito tempo como veículo eficaz dos futuros genes manipuláveis pela transgenia.

A atualização do acervo legal brasileiro para proteção das cultivares agrícolas (Lei n° 9.456 de 25/04/97), a biossegurança para os ogms (Lei n° 8.974 de 05/01/95), a proteção do direito autoral (Lei n° 9.610 de 19/02/98) e a lei de proteção do meio ambiente (Lei n° 9.605 de 12/02/98), pode ser considerado como o primeiro passo providente e necessário ao País para, definitivamente, entrar e competir em Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) no campo da biotecnologia agrícola moderna.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A par do conhecimento ora exposto nessa sistematização, sobressaem as considerações abaixo sintetizadas.

- A biotecnologia, como um conjunto de conhecimentos, quase sempre embasados em fundamentos científicos, aplicado à vida pode ser considerada como uma atividade humana altamente mutante ao longo das histórias da humanidade e da agricultura.
- A biotecnologia agrícola clássica, com base na Genética Mendeliana, promoveu os mais significativos aumentos de produtividades (t/ha) e de proteção fitossanitário às novas cultivares da época, viabilizando a economicidade, a evolução e a sustentação da agricultura brasileira por todo o Século XX.
- A biotecnologia agrícola moderna, respaldada na biologia molecular integrada com a genética, a biofísica e a bioquímica, constitui um novo, irreversível e imprevisível horizonte desenvolvimentista da agricultura do Século XXI e do III Milênio.
- Pelo estágio avançado da agricultura brasileira em diversas regiões agrícolas, a expansão constante de suas fronteiras agrícolas e o crescimento recordista crescente da produção nacional de grãos, justifica-se a expectativa geral do mundo sobre os passos do Brasil na geração e difusão da biotecnologia agrícola moderna, principalmente aqueles palmilhados para o desenvolvimento das cultivares transgênicas.
- Em Pernambuco, a UFRPE, com seus Programas de Pós-graduação em Ciências Agrárias e detentora do Laboratório de Genoma Tânia Falcão e da Biofábrica de Cana-de-açúcar do Carpina, além de ser participante produtivo no Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar ora desenvolvido pela Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento Sucoalcooleiro (RIDESA), concentra-se um elevado potencial de gerar e difundir biotecnologia agrícola moderna para o Nordeste e, extensivamente, também viável à agricultura de todo Brasil.

## RESUMO

A globalização da economia mundial repassou para a agricultura brasileira o grande desafio de se modernizar para se fazer mais competitiva, auto-sustentável e continuar como forte componente na balança comercial superavitária e significativo setor econômico viabilizador do desenvolvimento do Brasil.



Nesse cenário, a biotecnologia agrícola nacional já gerou novas cultivares para as diversas espécies cultivadas, destacando sempre aquelas de maior produtividade (t/ha), altos rendimentos agroindustrial e, simultaneamente, mais resistentes aos agentes bióticos causadores de pragas, doenças e de competição biológica. Os resultados alcançados na transição entre os Séculos XX e XXI, tiveram como base principal a Genética Mendeliana aplicada ao fitomelhoramento. Considerando a longa listagem das lavouras brasileiras e suas cultivares melhoradas disponíveis, a cana-de-açúcar desponta como a de resultados mais compensadores. Suas inúmeras variedades, obtidas e selecionadas pelo fitomelhoramento canavieiro nacional, tornaram-se imprescindíveis à sustentação e ao incremento da produtividade sucroalcooleira do Brasil, além de terem tido papel destacado na viabilização inicial do Proálcool. Dentre elas, a RB 72454, liberada em Pernambuco, no ano de 1982, pela Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina, por ser atualmente uma das mais cultivadas no Brasil, pode ser considerada como paradigma bem sucedido da biotecnologia agrícola brasileira.

E agora, no limiar da biotecnologia agrícola moderna, embasada principalmente na biotecnologia molecular; na biofísica e bioquímica, surge nesse início de III Milênio, uma multidiversidade de alternativas para a geração de novas cultivares como organismos geneticamente modificados para alguma característica agrônômica vantajosa. Atualmente, a mais promissora e atingível é a resistência às pragas, doenças ou aos agroquímicos da agricultura tecnificada. Sumariamente, reconhece-se a existência de um longo e próximo horizonte de desenvolvimento da biotecnologia agrícola moderna, visando uma maior participação brasileira na economia globalizada e na geração de pesquisa e desenvolvimento com a engenharia genética.

## RECONHECIMENTO

Que o presente trabalho sirva, por sua modesta, porém alvissareira contribuição, como homenagem aos fitomelhoristas canavieiros:

*Rokuro Urata* por ter sido o primeiro oráculo do melhoramento da cana-de-açúcar no Nordeste;

*Liu Shi Pin* como fitopatologista testador das primeiras variedades RB (República do Brasil), em Pernambuco;

*Antônio Maria Rocha Cardoso* que, de Recife (PE) à Maceió (AL), representa o exemplo maior da dedicação à seleção contínua de clones canavieiros para todo o Nordeste e Brasil.

## BIBLIOGRAFIA

- Aurélio. Dicionário da língua portuguesa. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 2001. 790 p.
- Bastos, G.Q. Variedades importadas aumentam riscos de doenças para os canaviais do Nordeste. Carpina: PLANALSUCAR, 1986. 1p. (Informação Técnica).
- Bastos, G.Q. Introdução ao estudo da tecnologia de sementes. Recife: UFRPE, 2000. 84 p. (monografia).
- Borém, A. Hibridação artificial de plantas. Viçosa: Editora Universitária - UFV, 1999. 546 p.
- Collegiate. Dictionary. Springfield: Merriam-Webster Incorporated, 1998. 2.337p.
- Dantas, B.A situação das variedades na zona canavieira de Pernambuco e uma nota histórica sobre as variedades antigas. Recife: Instituto Agrônômico do Nordeste, 1960. p.29-82. (Boletim Técnico, 11).
- Frey, K.J. Plant breeding. Ames: University Press, 1966. 430p.
- Gardner, E.J. Genética. Rio de Janeiro: Editora Interamericana, 1977. 503p.
- GERAN – Grupo de Estudo para Racionalização da Agroindústria Canavieira do Nordeste. Programa regional de pesquisas canavieiras para o Nordeste. Recife: SUDENE, 1970. 43p.
- Hobbelink, H. Biotecnologia. Porto Alegre: Riocell, 1990. 196p.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário de Pernambuco. Rio de Janeiro: IBGE, 1985. 547p.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Anuário estatístico do Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 1994. 1.916p.
- IDEA – Instituto de Desenvolvimento da Agroindústria Ltda. Indicadores de desempenho da agroindústria canavieira. Ribeirão Preto: IDEA, 1999. 117p.
- Lawrence, W.J.C. Melhoramento genético vegetal. São Paulo: USP, 1980. 75p.
- Magalhães, B.D. O açúcar nos primórdios do Brasil Colonial. Rio de Janeiro: IAA, 1953. 204p.
- Maxwell, F.G.; Jennings, P.R. Breeding plants resistant to insects. Washington: John Wiley & Sons, 1980. 681p.
- Mettler, L.E.; Gregg, T.G. Genética de populações e evolução. São Paulo: USP, 1973. 262p.

- Michaelis. Dicionário da língua portuguesa. São Paulo: Melhoramentos, 1998.2227p.
- Nakano, O. A proteção vegetal. Cultivar jan/1999: 46, 1999.
- Pessoa, D. Espaço rural e pobreza no nordeste do Brasil. Recife: Fundação Joaquim Nabuco, 1990. 253p.
- PLANALSUCAR. RB 72454 uma variedade de cana-de-açúcar para todo o Brasil. Piracicaba: IAA/Planalsucar, 1987. 29p. (Boletim Técnico).
- Salles Filho, S.L.M. A dinâmica tecnológica da agricultura: perspectivas da biotecnologia. Campinas: UNICAMP – Instituto de Economia, 1993. 240p. (Tese de Doutorado).
- Vanderplank, J.E. Disease resistance in plants. New York: Academic Press, 1968. 203p.

# BIOLOGIA MOLECULAR COMO FERRAMENTA NA DETECÇÃO DE FITOPATÓGENOS

GAUS SILVESTRE DE ANDRADE LIMA  
IRAILDES PEREIRA ASSUNÇÃO

## INTRODUÇÃO

O termo detecção se refere à constatação de que um dado patógeno ou um produto do mesmo está presente numa amostra proveniente do tecido vegetal, do vetor, do solo ou substrato de plantio, da água utilizada na irrigação, de implementos agrícolas, etc.

A detecção de fitopatógenos pode ser feita diretamente da amostra analisada ou a partir de culturas do agente etiológico. Até recentemente a detecção era feita utilizando-se testes biológicos, sorológicos, morfológicos e bioquímicos. Estes procedimentos nem sempre conduziam a resultados conclusivos, principalmente pelo fato de que espécies muito relacionadas não podiam ser diferenciadas mediante estes parâmetros. Em outros casos o patógeno alcançava níveis populacionais muito baixos no hospedeiro e as técnicas utilizadas não apresentavam sensibilidade suficiente para sua detecção. Há situações ainda mais particulares, como as infecções causadas por *Agrobacterium tumefaciens* e *A. rhizogenes*. Tais bactérias transferem um segmento de DNA que é inserido no cromossomo da hospedeira. No DNA transferido há genes responsáveis pela formação de tumores (hiperplasia). Uma vez que a inserção tenha ocorrido, os sintomas hiperplásticos serão induzidos mesmo na ausência do patógeno. Nesse caso, qualquer tentativa de detecção, com exceção de técnicas voltadas para o DNA bacteriano, são ineficientes.

A detecção de patógenos é de grande importância para a adoção de medidas de controle, assim como para impedir a entrada de patógenos exóticos numa determinada área. Outra aplicação é na avaliação da resistência de plantas a doenças. As plantas que não desenvolverem sintomas após a infecção podem ser checadas para se confirmar a ausência do patógeno. Devido à precisão, sensibilidade, praticidade e versatilidade algumas técnicas de biologia molecular vêm sendo utilizadas

satisfatoriamente com essa finalidade. Destacam-se a reação em cadeia da polimerase (PCR) e a hibridização de ácidos nucléicos. Os princípios gerais destas técnicas, bem como suas aplicações na detecção de fitopatógenos específicos serão discutidas adiante. No momento faremos uma rápida revisão sobre a composição e a estrutura do DNA e do RNA. Isto será indispensável para a compreensão dessas técnicas.

## O ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLÉICO (DNA)

O DNA é um polímero composto de unidades de desoxorribonucleotídeos, que por sua vez são constituídos de três componentes: uma base nitrogenada, um açúcar (a desoxirribose ou 2'-desoxi-D-ribose) e um grupo fosfato ( $\text{PO}_4^-$ ) (Figura 12.1). As bases nitrogenadas são derivadas de dois compostos heterocíclicos relacionados, piridiminas e purinas, sendo duas bases pirimídicas principais: citosina (C) e timina (T), e duas bases púricas principais: adenina (A) e guanina (G) (Figura 12.2).

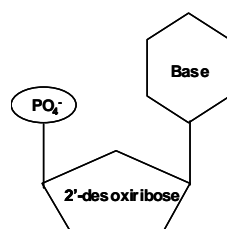


Figura 12.1 – Estrutura geral de um desoxirribonucleotídeo.

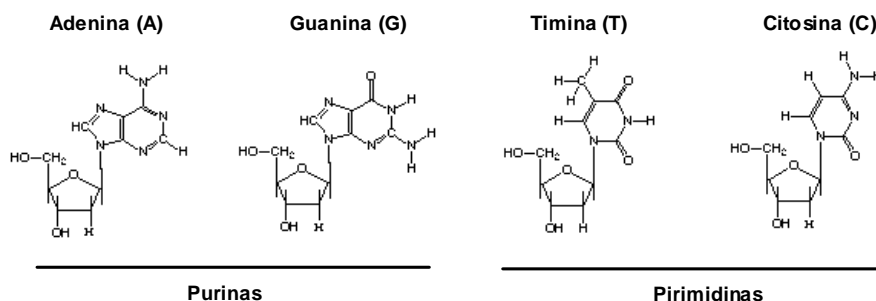


Figura 12.2 – As bases que formam o DNA: citosina (C), timina (T), adenina (A) e Guanina (G).

Na molécula de DNA a base nitrogenada encontra-se ligada ao carbono 1' da pentose, através de uma ligação glicosídica envolvendo o N1 das

pirimidinas ou o N9 das purinas. Por sua vez, a desoxirribose é ligada ao grupo fosfato por meio de uma ligação N-glicosídica no carbono 5'. Os desoxirribonucleotídeos são covalentemente ligados entre si através de ligações fosfodiéster entre o grupo hidroxila 5' da pentose de uma unidade nucleotídica e o grupo hidroxila 3' da pentose do próximo nucleotídeo (Figura 12.3).

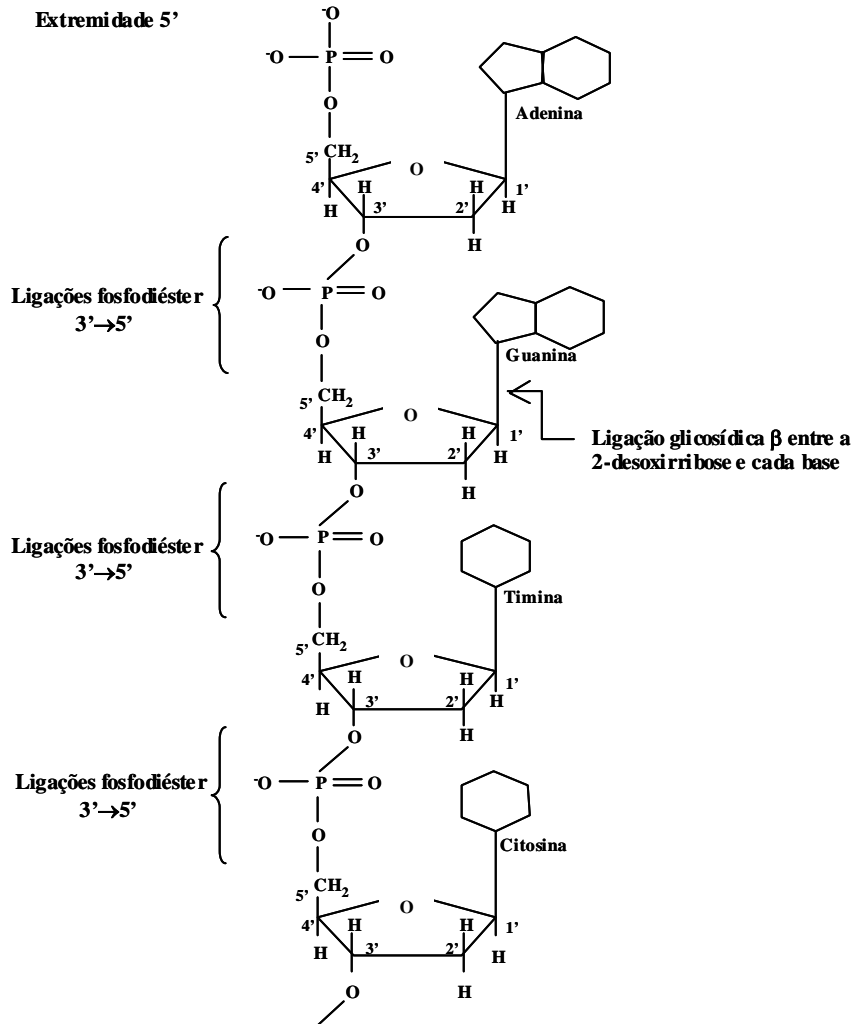


Figura 12.3 – Uma porção de uma cadeia de DNA (Campbell, 2000).

A estrutura secundária do DNA consiste de duas cadeias helicoidais, enroladas ao longo do mesmo eixo para formar uma dupla-hélice de sentido rotacional à direita. Na hélice, as duas cadeias ou fitas são antiparalelas, ou seja; suas ligações fosfodiésteres internucleotídicas ocorrem em direções opostas – uma na direção 5'→3' e a outra na direção 3'→5'. Os anéis aromáticos das bases nitrogenadas são hidrofóbicos e ficam orientados para o interior de tal forma que as moléculas das bases, aproximadamente planares, estão muito próximas e perpendiculares ao longo do eixo da dupla hélice. As bases são pareadas entre as duas fitas da molécula, mediante interações intermoleculares (principalmente pontes de hidrogênio), que mantêm sua estrutura. O esqueleto açúcar-fosfato encontra-se voltado para o exterior da molécula.

Dois características das bases nitrogenadas são importantes: sua estrutura química e o seu tamanho. A presença de grupos ceto (C=O) e amino (C-NH<sub>2</sub>) permite a formação de pontes de hidrogênio entre as bases. Desta forma, T que contém grupos ceto, podem parear com A, que contém grupo amino, através de uma ponte de hidrogênio. Além disso, uma ponte de hidrogênio adicional pode ser formada entre os nitrogênios dos anéis aromáticos em todos os pares. Desta forma, entre T e A são formados duas pontes de hidrogênio e entre C e G são formadas três pontes (Figura 12.4).

Os pares de bases permitidos são sempre uma purina e uma pirimidina, especificamente os pares A-T e G-C. Além disso, as bases de cada par estão suficientemente próximas para que suas superfícies formem pontes de hidrogênio entre si. Os pares AT e GC têm dimensões semelhantes. Assim, os dois pares ocupam o mesmo espaço, permitindo uma dimensão uniforme ao longo da molécula de DNA. Essas características explicam o fato de que, em qualquer seqüência de DNA, a relação molar entre AT e GC seja igual a 1,0. Outros pares de bases são possíveis, mas não possuem o padrão de pontes de hidrogênio correto (por exemplo, A-C ou G-T) ou as dimensões corretas (pares purina-purina ou pirimidina-pirimidina).

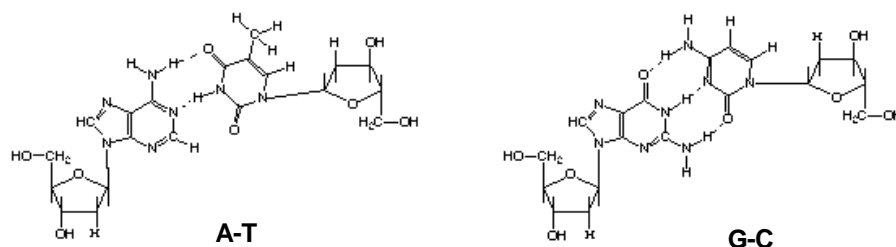


Figura 12.4 – Pontes de hidrogênio formadas entre A e T (duas) e C e G (três).

## O ÁCIDO RIBONUCLÉICO (RNA)

O Assim como o DNA, o RNA é um polímero de nucleotídeos ligados entre si por ligações fosfo-diéster 5'→3'. Há, porém algumas diferenças básicas entre os dois compostos, como pode ser observado na Figura 12.5. No RNA a pentose é uma ribose e a timina é substituída por uma outra base pirimídica, a uracila (U). As outras três bases que ocorrem no DNA também estão presentes no RNA. Adicionalmente, ao contrário do DNA, o RNA é uma molécula formada por uma única cadeia (fita simples), embora os pareamentos C-G e A-U possam ocorrer na mesma cadeia.

Muitos fitovírus e todos os viróides conhecidos têm o genoma formado por RNA. No caso dos fitovírus o RNA pode ser de uma molécula de fita simples ou de fita dupla, enquanto no caso de viróides o RNA é sempre uma molécula de fita simples.

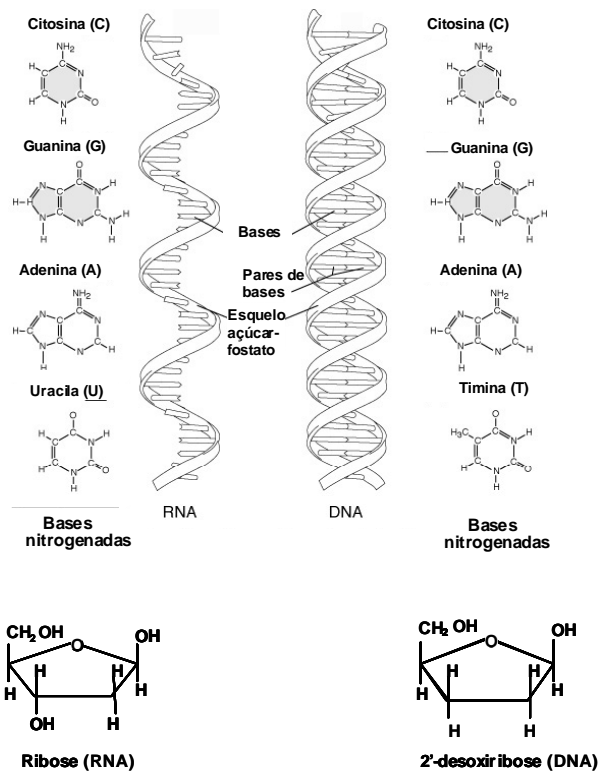


Figura 12.5 – Diferenças fundamentais entre o DNA e o RNA. O RNA é uma molécula de fita simples. No RNA a timina é substituída pela uracila (U) e a pentose é a ribose.



## **TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR EMPREGADAS NA DETECÇÃO DE FITOPATÓGENOS**

Diversas técnicas de biologia molecular têm sido empregadas na detecção de fitopatógenos, merecendo destaque a PCR e a hibridização de ácidos nucleicos. Essas técnicas oferecem grandes vantagens em relação aos métodos convencionais de detecção, principalmente maior precisão, sensibilidade, praticidade e versatilidade. Ao contrário de muitas técnicas convencionais utilizadas na detecção as técnicas baseadas em DNA não sofrem influência do estado fisiológico do hospedeiro ou do patógeno ou ainda das condições ambientais.

### **A reação em cadeia da polimerase (PCR)**

#### **Princípios da PCR**

A PCR é uma técnica baseada na síntese enzimática “in vitro” de milhões de cópias de uma seqüência específica na presença da enzima DNA polimerase. A reação se baseia no anelamento e extensão de um par de oligonucleotídeos (primer), geralmente de 20 a 30 bases, que delimita a seqüência a ser amplificada. Um ciclo de PCR envolve três etapas: desnaturação, anelamento e extensão. Na desnaturação as fitas do DNA são separadas devido ao aumento da temperatura para 92-95 °C. Na etapa de anelamento a temperatura é rapidamente reduzida (35 a 60 °C). Em seguida a temperatura é elevada para 72 °C, para que a enzima realize a extensão (adição de nucleotídeos) do primer, de acordo com a seqüência codificada pela fita molde. Como a quantidade de seqüência alvo dobra a cada ciclo, a amplificação segue em progressão geométrica de maneira que, após 20 ciclos, são produzidas mais de um milhão de seqüências alvo (Figura 12.6) (Ferreira & Grattapaglia, 1996).

A especificidade da PCR é proporcionada pela seqüência dos primers e pela temperatura de anelamento. Nesta fase os primers pareiam com seqüências homólogas do DNA alvo devido à complementariedade de bases. Quanto maior a temperatura mais específica é a reação. Temperaturas mais baixas permitem que pareamentos menos específicos ocorram. Outra importante variável na PCR é o tempo de extensão do primer, pois em geral as polimerases incorporam aproximadamente 1000 nucleotídeos por minuto.

Assim que foi desenvolvida, a PCR era um procedimento muito trabalhoso. As diferentes temperaturas necessárias para cada etapa da reação eram alcançadas utilizando-se três banho maria regulados para diferentes temperaturas. Além disso, cada ciclo requeria que uma nova alíquota da DNA polimerase fosse adicionada, pois quando a temperatura atingia os 94

<sup>0</sup>C a enzima era inativada. O desenvolvimento de um equipamento denominado termociclador e a descoberta de DNA polimerases termoestáveis (resistentes a altas temperaturas) possibilitou a popularização da PCR. No termociclador pode-se programar a temperatura e o tempo de cada etapa e o número de ciclos da PCR.

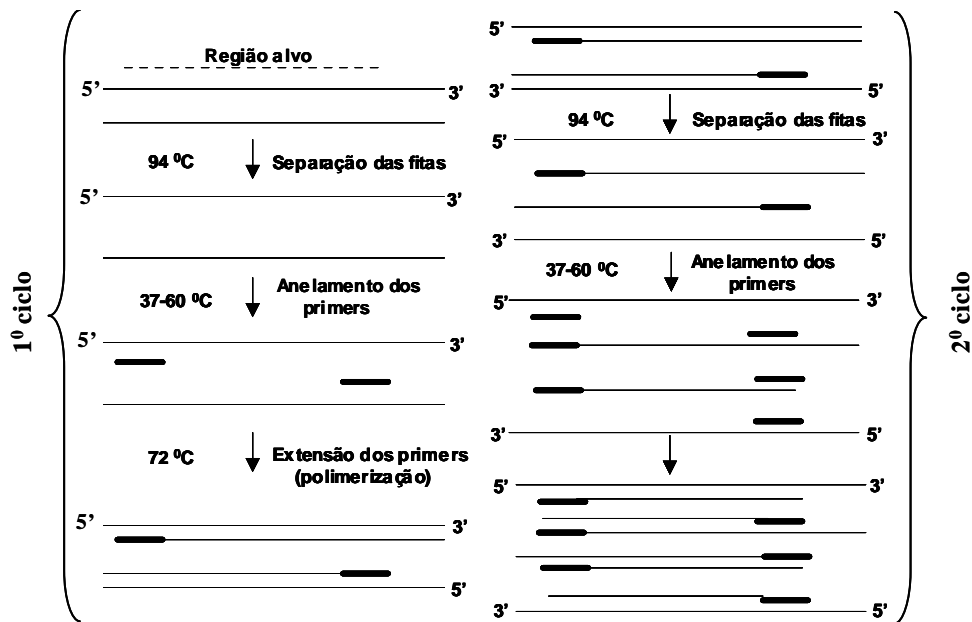


Figura 12.6 – Etapas principais da técnica de PCR. Os passos fundamentais de desnaturação, anelamento e alongamento se repetem a cada ciclo. Ao final do ciclo de cada ciclo o número de cópias da região alvo dobra (Ferreira & Grattapaglia, 1996).

Inicialmente a DNA polimerase termoestável utilizada nas ampliações era purificada de uma bactéria adaptada para viver em ambientes muito quentes, denominada *Thermus aquaticus*. Essa polimerase é conhecida como *Taq* polimerase. Atualmente a enzima comercial é purificada de *Escherichia coli* recombinante expressando o gene que codifica para *Taq* polimerase. Há também outras DNA polimerases termoestáveis provenientes de outros organismos como *Pfu* polimerase de *Pirococcus furiosus* e *Tth* polimerase de *T. thermophilus*.

### Uso da PCR na detecção de fitopatógenos

A utilização da PCR na detecção de fitopatógenos exige que seqüências do genoma de vários isolados da mesma espécie e de espécies relacionadas sejam conhecidas. A disponibilidade dessas seqüências definirá a seqüência de bases dos primers que serão utilizados. De um modo geral deseja-se encontrar uma região do genoma que esteja conservada (região com alta homologia) em todos os isolados de uma dada espécie e que esteja ausente em espécies relacionadas, mas não-patogênicas. Em geral, primers específicos têm de 18 a 28 bases.

A principal vantagem da PCR é sua alta sensibilidade, pois a cada ciclo o número de sequencias alvo dobra. Considerando uma única seqüência alvo no DNA molde e uma PCR composta de 35 ciclos espera-se alcançar, após a reação, um número de aproximadamente 34.359.738.368 moléculas ( $2^{35}$ ). No entanto, essa grande sensibilidade pode se transformar em desvantagem em determinadas ocasiões, pois qualquer contaminação da amostra com o DNA molde pode levar a falsos positivos, portanto o máximo cuidado no manuseio dos componentes da reação deve ser adotado. Um controle absoluto (amostra sem DNA molde) deve ser incluído em todas as análises.

Existem programas de computador que auxiliam o pesquisador a selecionar a seqüência dos primers. Porém, muitas vezes, dentro de uma região conservada há posições (bases) variáveis. Nesses casos pode-se utilizar *primers degenerados*. Estes primers podem conter, nas regiões variáveis, uma base rara, denominada inosina (I), que tem a capacidade de parear com qualquer outra base do DNA. Alternativamente, primers degenerados podem ser obtidos pela mistura de primers praticamente idênticos, diferindo apenas na(s) posição(ões) variável(eis).

A amplificação de um produto de tamanho esperado na amostra avaliada e sua ausência nos controles negativos indica a presença do organismo na amostra da qual o DNA foi extraído. A Tabela 12.1 traz alguns exemplos de patógenos para os quais a PCR ou técnicas derivadas foram empregadas na detecção.

A partir da PCR uma série de outras técnicas, também utilizadas na detecção de fitopatógenos, foi desenvolvida, merecendo destaque RT-PCR, RAPD e PCR multiplex. As duas primeiras serão discutidas ainda neste capítulo.

Tabela 12.1 – Exemplos de fitopatógenos detectados via PCR ou técnicas derivadas.

Patógeno	Fonte do DNA ou RNA	Região de anelamento do primer	Bibliografia
Vírus e viróide			
Closterovírus*	videira	Homólogo a Hsp70	Routh <i>et al.</i> (1998)
Geminivírus	vetor (mosca branca)	Gene da capa protéica	Rosell <i>et al.</i> (1998)
<i>Tomato yellow leaf curl virus</i>	tomate e vetor (mosca branca)	Gene da capa protéica	Atzmon <i>et al.</i> (1998)
Tospovírus*	tomateiro	RNAs: S, M e L	Eiras (1997)
Badnavírus	<i>Ribes</i> sp.	ORF III	Jones <i>et al.</i> (2001)
<i>Citrus tristeza vírus*</i>	vetor (afídeo)	Gene da capa protéica	Mehta <i>et al.</i> (1997)
<i>Apple Steam Grooving Virus*</i>	macieira	Gene da capa protéica	Marinho <i>et al.</i> (1996)
<i>Avocado Sunblotch Viroid*</i>	abateiro	Gene da capa protéica	Schnell <i>et al.</i> (1997)
Fungos			
<i>Plasmiodiophora brassicae</i>	solo e água	rDNA	Faggian <i>et al.</i> (1999)
<i>Diaporthe phaseolorum</i>	soja	ITS	Zhang <i>et al.</i> (1999)
<i>Phomopsis longicolla</i>			
<i>Fusarium culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> <i>F. avenacearum</i>	culturas puras	ITS	Schilling <i>et al.</i> (1996)
<i>Phytophthora infestans</i>	batata e tomate	ITS	Judelson <i>et al.</i> (2000)
<i>Ustilago hordei</i>	esporos	ITS	Willits & Sherwood (1999)
<i>Polymyxa betae</i>	beterraba		Mutasa <i>et al.</i> (1996)
Bactérias			
<i>Clavibacter michiganensis</i>	tomateiro	REP, ERIC, BOX	Lows <i>et al.</i> (1998)
<i>Xanthomonas campestris</i>	gramíneas	ITS	Maes <i>et al.</i> (1996)
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	melancia	RDNA 16S	Walcott & Gitaitis (2000)
<i>Ralstonia solanacearum</i>	tomateiro	rDNA	Seal <i>et al.</i> (1992)
Fitoplasma			
<i>Flavescence dorée</i>	vetor (cigarrinha)	ITS	Tanne <i>et al.</i> (1999)
Fitoplasmas	vários hospedeiros	rDNA	Gudersen & Lee (1996)
Espiroplasma			
Espiroplasma	milho	ITS	Barros <i>et al.</i> (2001)
Nematóide			
<i>Meloidogyne chitwood</i>	batateira	rDNA	Szalanski <i>et al.</i> (2001)

\*Detecção baseada em RT-PCR.

## HIBRIDIZAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS

### Princípios da hibridização de ácidos nucleicos

A hibridização de ácidos nucleicos é uma técnica muito sensível baseada na imobilização do ácido nucleico a ser detectado numa matriz sólida (uma membrana de nitrocelulose ou de náilon, por exemplo) e na formação de híbridos com a sonda utilizada para a detecção. O termo hibridização refere-se ao pareamento, devido à complementaridade de bases, que ocorre entre o ácido nucleico imobilizado e a sonda. A formação de híbridos estáveis pode ocorrer entre duas seqüências de DNA ou RNA complementares, ou entre uma seqüência de DNA e uma de RNA, também complementares (Sequeira, 1992; Lambais, 1995). Diversos patógenos, dos mais variados grupos têm sido detectados por meio da hibridização de ácidos nucleicos. A Tabela 12.2 ilustra alguns exemplos.

Tabela 12.2 – Exemplos de fitopatógenos detectados mediante técnicas de hibridização de ácidos nucleicos.

Patógeno	Fonte do DNA ou RNA	Região de anelamento da sonda	Bibliografia
Vírus			
<i>Indian Peanut Clump Virus</i>	amendoim	Gene da capa protéica	Wesley <i>et al.</i> (1996)
Irlavírus	vários hospedeiros	Várias	Saade <i>et al.</i> (2000)
<i>Bean golden mosaic virus</i>	feijoeiro	Componentes A e B	Gilbertson <i>et al.</i> (1991)
Tospovírus	tomateiro	RNAs: S, M e L	Eiras (1997)
Fungos			
<i>Pythium</i> spp.	cultura pura	ITS	Lévesque <i>et al.</i> (1998)
<i>Phytophthora</i> spp.			
<i>Monilia fructicola</i>	pêssego e nectarina	Regiões repetitivas	Boehm <i>et al.</i> (2001)
Bactérias			
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	batata	ITS	Slack <i>et al.</i> (1996)
Fitoplasmas			
<i>Flavescence dorée</i>	vetor (cigarrinha)	ITS	Tanne <i>et al.</i> (1999)
Fitoplasmas	crisântemo e vetor (cigarrinha)	Várias	Weeb <i>et al.</i> (1999)
Fitoplasmas	vinca e pimenteira	rDNA	Bedendo <i>et al.</i> (1999)
Nematóides			
<i>Meloidogyne chitwood</i>	juvenis	DNA satélite	Castagnone-Sereno <i>et al.</i> (1999)
<i>M. fallax</i>			
<i>Meloidogyne chitwood</i>	batata	rDNA e mtRNA 16S	Szalanski <i>et al.</i> (2001)

As condições de hibridização podem ser ajustadas para dificultar ou facilitar a formação de híbridos, de forma que a sonda hibridize apenas com uma seqüência de alta homologia (>90%) ou possa formar pareamentos estáveis mesmo com moléculas de menor homologia. De que maneira pode-se tornar as condições de hibridização mais ou menos específica? A

temperatura e a concentração de sais presente na solução de hibridização são as variáveis que interferem na especificidade do pareamento. Temperaturas e concentrações de sais elevadas dificultam o pareamento de bases e, portanto, nessas condições apenas seqüências de alta homologia podem formar híbridos estáveis.

Mediante a hibridização de ácidos nucléicos diferenças em um único nucleotídeo podem ser detectadas. Assim como na PCR e ao contrário das técnicas sorológicas que se baseiam em proteínas, que podem sofrer influências das condições fisiológicas do animal no qual o antissoro foi produzido ou das condições ambientais, os métodos baseados na hibridização de ácidos nucléicos detectam a presença de seqüências do genoma e, portanto, não está sujeito a essas influências (Lambais, 1995).

Existem diferentes métodos de detecção baseados na hibridização de ácidos nucléicos. A técnica mais utilizada para a detecção de agentes patogênicos é a de “dot-blot” a qual consiste em ligar permanentemente o material genético extraído a uma membrana de náilon (Figura 12.6). O método consiste no seguinte: as amostras vegetais a serem testadas são maceradas em tampão e depositadas, com auxílio de uma pipeta, numa membrana de náilon. Uma vez na membrana, as amostras assumem um aspecto arredondado (“dot”, que significa ponto em inglês), após a fixação “blotting”, em inglês. Em seguida, a membrana é submetida a uma pré-hibridização, com o objetivo de evitar ligações não específicas entre a sonda e as áreas da membrana que não contenha o material genético alvo. Com esta finalidade são utilizadas uma solução de DNA não homólogo (geralmente se utiliza DNA de esperma de salmão) e uma fonte de proteína (geralmente albumina de soro bovino). Após a pré-hibridização, a membrana é hibridizada numa solução contendo a sonda marcada e NaCl. Frequentemente a hibridização é realizada em temperaturas em torno dos 65 °C em solução de NaCl variando de 0,3 a 0,9 M.

As sondas são obtidas por meio da clonagem de regiões do genoma do patógeno em um plasmídeo. Após a clonagem as sondas devem ser marcadas. Esta marcação pode ser feita utilizando-se isótopos radioativos (<sup>32</sup>P) ou substâncias não radioativas. Atualmente as sondas radioativas são as mais utilizadas. Há algumas estratégias para se marcar uma sonda. A mais comum é denominada “nick translation”. Nessa técnica o plasmídeo recombinante (contendo uma seqüência do genoma do patógeno) é incubado juntamente com uma DNA polimerase, uma DNase e os quatro nucleotídeos que compõem o DNA (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), sendo que o fósforo de um desses nucleotídeos é radioativo. A enzima DNase introduz cortes na molécula de DNA, gerando “gaps” ou “nicks”. A DNA polimerase por sua vez utiliza os nucleotídeos presentes na reação para corrigir esses nicks. Como um desses nucleotídeos é radioativo, o DNA resultante é marcado,

podendo ser detectado posteriormente, pois a radiação deixa uma impressão num filme de raio X. Esse método apresenta uma desvantagem considerável que é o fato de o nível de radioatividade na sonda ser relativamente baixo. Um outro método, que incorpora mais radioatividade à seqüência é denominado “randon priming”. Este procedimento é baseado na PCR e utiliza primers de seis bases de seqüências aleatórias (random). O plasmídeo recombinante é desnaturado (a dupla fita é desfeita) e então são adicionados os primers, a DNA polimerase e os nucleotídeos (um deles marcado com  $^{32}\text{P}$ ). A polimerase sintetiza seqüências complementares à sonda, utilizando os nucleotídeos marcados. Dessa forma muito mais radioatividade é adicionada à seqüência.

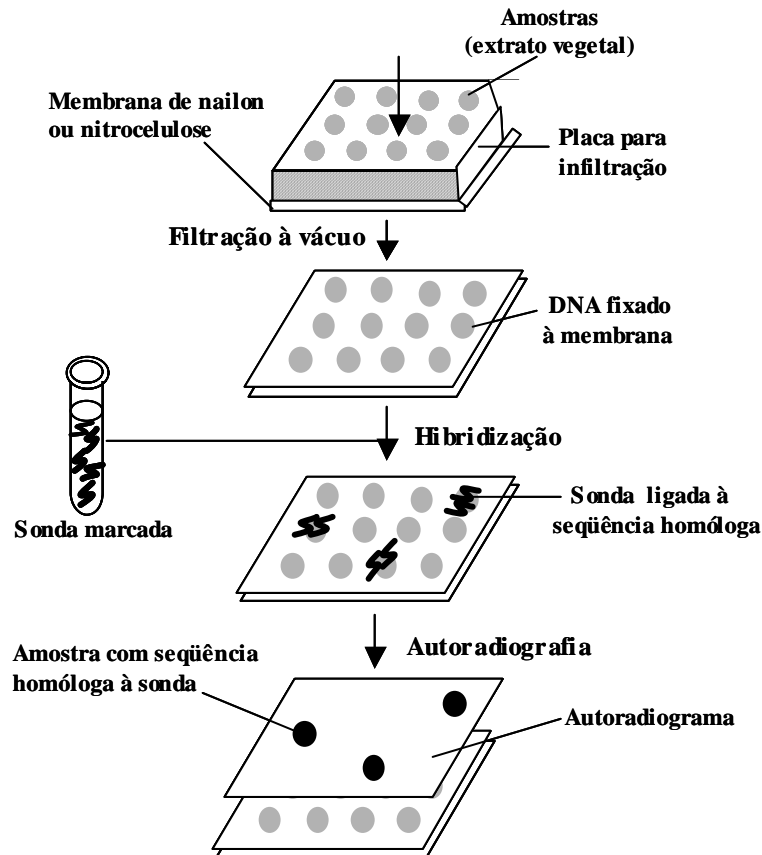


Figura 12.6 – A técnica de “dot-blot”, utilizada para a detecção de patógenos em amostras de tecidos vegetais (adaptado de Lambais *et al.*, 1995).

A utilização de sondas não radioativas segue o mesmo princípio geral, empregando um dos quatro nucleotídeos marcados. Os compostos mais comumente utilizados com esta finalidade são a biotina e a fluoresceína. Sondas marcadas com biotina são detectadas com avidina ou estreptoavidina, enquanto sondas marcadas com fluoresceína são detectadas com um anticorpo contra fluoresceína. É importante ressaltar que os mesmos cuidados que se deve ter no manuseio de nucleotídeos marcados com radioatividade devem ser adotados nos trabalhos com nucleotídeos marcados com biotina ou fluoresceína, pois alguns compostos utilizados na detecção são cancerígenos.

Outra técnica baseada na hibridização de ácidos nucléicos muito utilizada emprega enzimas de restrição. Estas enzimas são empregadas para cortar fragmentos de DNA em determinados pontos, sendo que estes fragmentos podem ter sido produzidos em reações de PCR ou por clonagem gênica. Cada enzima reconhece uma seqüência específica de nucleotídeos e cliva o DNA sempre que essa seqüência ocorre. Como resultado é gerado um conjunto de fragmentos que são separados mediante eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida. Após a coloração com brometo de etídeo, os fragmentos são visualizados na forma de bandas sob luz ultravioleta. Cada patógeno pode apresentar uma ou mais bandas específicas para uma determinada enzima. Esta série de bandas é denominada perfil eletroforético. A execução da técnica é simples e os componentes da reação de digestão são o DNA (fragmento de PCR ou seqüência clonada), a enzima de restrição, o tampão da enzima e água suficiente para completar o volume para 15 a 20  $\mu$ L. Após a incubação o produto da digestão é submetido a eletroforese, resultando nos perfis de fragmentos (Bedendo, 1999). Esta técnica, denominada RFLP (“restriction fragment length polymorphism”) pode ser utilizada para distinguir diferentes espécies de um gênero, ou raças de uma espécie ou até mesmo isolados de um patógeno.

Para o emprego de técnicas que envolvam a hibridização de ácidos nucléicos é necessário que tanto a amostra (DNA ou RNA) quanto à sonda estejam na forma de fita simples. A desnaturação das fitas é um processo muito simples, consistindo geralmente na incubação da membrana em uma solução de NaOH.

Algumas vezes as técnicas de PCR e RFLP são combinadas para se obter resultados mais satisfatórios. Por exemplo, muitas vezes os primers utilizados na PCR direcionam a amplificação de fragmentos de mesmo tamanho a partir do DNA de espécies relacionadas ou de raças de um dado patógeno. Porém em determinadas situações deseja-se determinar exatamente qual a espécie ou a raça que está presente na amostra. Isso pode ser alcançado mediante clivagem do produto de PCR ou da RT-PCR com uma ou mais enzimas de restrição.



### Métodos moleculares na detecção de fungos fitopatogênicos

A detecção de fungos fitopatogênicos por meio da PCR ou da hibridização de ácidos nucleicos em geral se baseia principalmente em regiões codificadoras conservadas evolucionariamente como o rDNA (seqüências de DNA que codificam para os RNAs ribossomais), seqüências que codificam para as proteínas  $\beta$ -tubulina, actina e o fator de alongação  $1\alpha$  ou seqüências não codificadoras do rRNA, denominadas ITS. Nessas situações apenas uma banda é visualizada. A detecção também pode ser alcançada baseando-se em regiões arbitrárias ou repetitivas do genoma. Nesse caso verificam-se várias bandas (*fingerprints*), porém cada espécie ou até taxa infraespecífica apresenta um *fingerprint* característico.

A utilização da PCR para a detecção de fungos diretamente do tecido vegetal, no solo ou na água tem tido uma aplicação restrita na prática. No entanto, tem sido grande sua utilização na geração de marcadores moleculares visando a identificação de fungos a partir de culturas puras (Souto *et al.*, 2000). Como observado nas Tabelas 12.1 e 12.2 há diversos relatos em que primers ou sondas específicos para a região que compreende ITS1, gene 5.8 S e ITS5 do rDNA foram utilizados para a detecção de fungos fitopatogênicos (Figura 12.7).

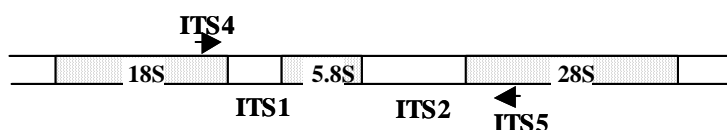


Figura 12.7 – Regiões de anelamento dos primers ITS4 e ITS5 do rDNA nuclear de fungos (adaptado de Souto *et al.*, 2000).

### Métodos moleculares na detecção de fitobactérias

O genoma de organismos procariotos pode apresentar um pequeno percentual de DNA repetitivo. Seqüências repetitivas relacionadas (semelhantes) são denominadas famílias. No caso de bactérias fitopatogênicas três famílias de seqüências repetitivas têm sido estudadas mais detalhadamente, incluindo as seqüências REP (repetitive extragenic polindromic) com 35-40 pb, seqüências ERIC (enterobacterial repetitive intergenic consensus), com 124-127 pb e o elemento BOX com 154 pb. Geralmente tais seqüências localizam-se em posições intergênicas. O número de seqüências e o espaçamento entre elas é característico de cada espécie e pode ser explorado para a detecção de bactérias fitopatogênicas numa

determinada amostra. A detecção é realizada mediante PCR ou sondas complementares às seqüências REP, ERIC ou BOX (Louws *et al.*, 1996).

A técnica de PCR tem se mostrado particularmente útil na detecção de fitobactérias em sementes ou em órgãos de propagação vegetativa. No entanto, a avaliação da sanidade de sementes utilizando-se a PCR apresenta uma grande limitação. Células inviáveis ou isolados não patogênicos podem ser detectados, apesar do fato que em ambas as situações a doença não ocorreria. Para diminuir a probabilidade de se detectar isolados não patogênicos mediante PCR tem se buscado seqüências que estejam presentes apenas nos isolados capazes de causar doenças. Pelo menos para o caso de determinadas fitobactérias resultados satisfatórios têm sido obtidos utilizando-se primers específicos para os genes do cluster (grupo) *hrp*. Tais genes são essenciais para o processo de infecção da planta hospedeira e já foram descritos para várias bactérias gram-negativas como *Ralstonia solanacearum*, *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas campestris* e *Pseudomonas syringae* (Alfano & Collmer, 1997).

### **Uso da PCR na detecção de fitovírus e viróides**

Fitovírus com genoma constituído de DNA podem ser facilmente detectados mediante PCR. Para tanto, DNA total de plantas ou insetos-vetores é extraído e utilizado como molde numa reação de amplificação dirigida por primers específicos para determinadas regiões do DNA viral. É recomendável a inclusão de um controle positivo, que pode ser DNA extraído de uma planta sabidamente infectada ou um clone contendo uma determinada seqüência do vírus considerado. Deve ser preparado também um controle negativo relativo (DNA extraído de planta sadia) e um controle negativo absoluto (reação preparada sem DNA molde). Este último tratamento indicará se algum componente utilizado na reação encontra-se contaminado com o DNA molde.

Até o momento pelo menos duas famílias (*Geminiviridae* e *Caulimoviridae*) e dois gêneros (*Badnavirus* e *Nanovirus*) de fitovírus que apresentam DNA como material genético foram descritos (Van Rogermortel *et al.*, 2000). Em alguns casos, como os membros da família *Geminiviridae* e do gênero *Badnavirus*, a PCR consiste na principal técnica de detecção. Para geminivírus normalmente se utilizam primers degenerados, capazes de direcionar a amplificação de seqüências do genoma de vários membros da família. Para se determinar exatamente a qual espécie pertence o vírus, faz-se necessário sequenciar o produto de PCR clonado (ligado a um plasmídeo) ou não).

Fitovírus cujo genoma é constituído de RNA (grande maioria) e viróides (todos) também podem ser detectados via PCR. No entanto, uma etapa

adicional é requerida. Consiste na obtenção de uma sequência de DNA complementar à molécula de RNA alvo. Essa molécula é denominada cDNA e é sintetizada por uma DNA polimerase dependente de RNA ou transcriptase reversa. Uma vez obtida a molécula de cDNA, se adiciona os primers e a DNA polimerase dependente de DNA. O processo é denominado RT-PCR. As transcriptases reversas comerciais são purificadas de vírus que infectam aves e mamíferos (camundongos).

Viróides e vírus com genoma de RNA também podem ser detectados mediante hibridização, porém os cuidados devem ser redobrados, pois o RNA é muito menos estável que o DNA. A principal preocupação é evitar que enzimas que degradam RNA (RNases) atuem. Frequentemente, a membrana onde a amostra será depositada é previamente tratada com proteinase K, uma protease (enzima que degrada proteínas, inclusive RNases).

### **Métodos moleculares na detecção de fitoplasmas, espiroplasmas e fitonematóides**

Primers ou sondas específicas, que geralmente anelam/hibridizam em regiões conservadas do DNA que codifica para os RNAs ribossomais ou em determinadas regiões do DNA mitocondrial (mtDNA) têm sido identificados e utilizados na detecção de fitoplasmas, espiroplasmas e fitonematóides (Bedendo, 1999; Castagnone-Sereno *et al.*, 1999; Webb *et al.*, 1999; Barros *et al.*, 2001; Szalanski *et al.*, 2001). Alguns exemplos dessas aplicações são listados na Tabela 12.2.

### **Considerações Finais**

A biotecnologia trouxe grandes benefícios para a Fitopatologia. Atualmente a utilização de técnicas moleculares na detecção de fitopatógenos é rotina em vários laboratórios do Brasil. No momento a PCR e a hibridização de ácidos nucleicos são as técnicas mais utilizadas para esse propósito. Ambas as técnicas apresentam vantagens consideráveis em relação aos procedimentos convencionais de detecção. A redução de custos de equipamentos e reagentes e o treinamento de técnicos e pesquisadores nessas áreas poderão tornar o uso dessas técnicas ainda mais difundidas. Outro fator que contribuirá para isso será a substituição de reagentes radioativos ou cacerígenos utilizados atualmente por produtos que apresentem menor risco à saúde humana.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Alfano, J.R.; Collmer, A. The type III (Hrp) secretions pathway of plant pathogenic bacteria: trafficking harpins, Avr proteins, and death. *Journal of Bacteriology* 179:5655-5662, 1997.
- Atzmon, G.; van Oss, H.; Czonesk, H. PCR-amplification of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) DNA from squashes of plants and whitefly vectors: application to the study of TYLCV acquisition and transmission. *European Journal of Plant Pathology* 104:189-194, 1998.
- Barros, T.S.L.; Davis, E.; Resende, R.O.; Dally E.L. Design of a polymerase chain reaction for specific detection of Corn Stunt Spiroplasma. *Plant Disease* 85: 475-480, 2001.
- Bedendo, I.P. Enfezamento vermelho e enfezamento pálido do milho associados a fitoplasma e espiroplasma: sintomatologia, etiologia e técnicas para detecção e identificação destes agentes. *Summa Phytopathologia* 25: 190-196, 1999.
- Bedendo, I.P.; Davis, R.E.; Dally, E.L. Detecção e caracterização de fitoplasmas em plantas de vinca (*Catharanthus roseus*) e de pimenta (*Capsicum frutesces*) através das técnicas de duplo PCR e de RFLP. *Summa Phytopathologia* 25: 197-201, 1999.
- Boehm, E.W.A.; Ma, Z.; Michailides, T.J. Species-specific detection of *Monilinia fructicola* from California stone fruits and flowers. *Phytopathology* 91: 428-439, 2001.
- Castagnone-Sereno, P.; Leroy, F.; Bongiovanni, M.; Zijlstra, C.; Abad, P. Specific diagnosis of two root-knot nematodes, *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*, with satellite DNA probes. *Phytopathology* 89: 380-384, 1999.
- Eiras, M. Detecção de tospovirus através de "Polymerase Chain Reaction" (PCR) e sondas moleculares. Dissertação (mestrado). Universidade de Brasília, 1997.
- Faggian, R.; Bulman, S.R.; Lawrie, A.C.; Porter, I.J. Specific polymerase chain reaction primers for the detection of *Plasmodiophora brassicae* in Soil and Water.. *Phytopathology* 89: 392-397, 1999.
- Ferreira, M.E.; Grattapaglia, D. Introdução ao uso de Marcadores moleculares em análise genética. 2ª Ed. Brasília: CENARGEN, 1996. 220p.
- Gilbertson, R.L.; Faria, J.C.; Hanson, S.F.; Morales, F.J.; Ahlquist, P.; Maxwell, D.P.; Russel, D.R. Cloning of the complete DNA of four bean-infecting geminiviruses and determining their infectivity by electric discharge particle acceleration. *Phytopathology* 81:980-985, 1991.

- Gundersen, D.E.; Lee, I.M. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pair. *Phytopathologia Mediterranea* 35: 144-151, 1996.
- Jones, A.T.; Geering, W.J.M.A.D.W.; Lockhart, B.E.L. A New Badnavirus in *Ribes* species, its detection by PCR, and its close association with gooseberry vein banding disease. *Plant Disease* 85: 417-422, 2001.
- Judelson, H.S; Tooley, P.W. Enhanced polymerase chain reaction methods for detecting and quantifying *Phytophthora infestans* in plants. *Phytopathology* 90: 1112-1119, 2000.
- Lambais, M.R. Biologia molecular e engenharia genética na fitopatologia. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds.) Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.507-538.
- Lévesque, C.A.; Harlton, C.E.; Cock, A.W.A. M. Identification of some oomycetes by reverse dot blot hybridization. *Phytopathology* 88: 213-222, 1998.
- Louws, F.J.; Bell, J.; Medina-Mora, C.M.; Smart, C.D.; Opgenorth, D.; Ishimaru, C.A.; Hausbeck, M.K.; de Bruijn, F.J.; Fulbright, D.W. Rep-PCR-mediated genomic fingerprinting: a rapid and effective method to identify *Clavibacter michiganensis*. *Phytopathology* 88: 862-868. 1998.
- Maes, M.; Garbeva, P.; Kamoen, O. Recognition and detection in seed of the *xanthomonas* pathogens that cause cereal leaf streak using rDNA spacer sequences and polymerase chain reaction. *Phytopathology* 86: 63-69, 1996.
- Marinho, V.L.A.; Kummert, J.; Rufflard, G.; Colinet, D.; Lepoivre, P. Detection of apple stem grooving virus in dormant apple trees with crude extracts as templates for one-step RT-PCR. *Plant Disease* 82: 785-790, 1998.
- Mehta, P.; Brlansky, R.H.; Gowda, S. Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction detection of Citrus Tristeza Virus in Aphids. *Plant Disease* 81: 1066-1069, 1997.
- Mills, D.; Russell, B.W.; Hanus, J.W. Specific Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* by amplification of three unique DNA Sequences Isolated By Subtraction Hybridization. *Phytopathology* 87: 853-861, 1997.
- Mutasa, E.S.; Chwarszczynska, D.M.; Asher, M.J.C. Single-Tube, Nested PCR for the diagnosis of *Polymyxa betae* infection in sugar beet roots and colorimetric analysis of amplified products. *Phytopathology* 86: 493-497. 1996.

- Rosell, R.C.; Torres-Jerez, I.; Brown, J.K. Tracing the geminivirus-whitefly transmission pathway by polymerase chain reaction in whitefly extracts, saliva, hemolymph, and honeydew. *Phytopathology* 89: 239-246, 1999.
- Routh, G.; Yun, P.Z.; Pasquale, S.; Adib, R. Use of degenerate primers for partial sequencing and RT-PCR based assays of grapevine leafroll-associated viruses 4 and 5. *Phytopathology* 88:1238-1243, 1998.
- Saade, M.; Aparicio, F.; Sánchez-Navarro, J.A.; Herranz, M.C.; Myrta, A.; Di Terlizzi, B.; Pallás, V. Simultaneous detection of the three ilarviruses affecting stone fruit trees by nonisotopic molecular hybridization and multiplex reverse-transcription polymerase chain reaction. *Phytopathology* 90: 1330-1336, 2000.
- Schilling, A.G.; Möller, E.M.; Geiger, H.H. Polymerase chain reaction-based assays for species-specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, and *F. avenaceum*. *Phytopathology* 86: 515-522, 1996.
- Schnell, R.J.; Kuhn, D.N.; Ronning, C.M.; Harkins, D. Application of RT-PCR for indexing Avocado Sunblotch Viroid. *Plant Dis.* 81:1023-1026. 1997.
- Seal, S.E.; Jackson, L.A.; Daniels, M.J. Isolation of a *Pseudomonas solanacearum*-specific DNA probe by subtraction hybridization and construction of species-specific oligonucleotide primers for sensitive detection by the polymerase chain reaction. *Applied Environmental Microbiology* 58:3751-3758, 1992.
- Sequeira, J.C. Técnicas sorológicas e bio-moleculares de diagnóstico de vírus e de viróides em plantas. *Summa Phytopathologica* 18: 79-110, 1992.
- Slack, S.A.; Drennan, J.L.; Gudmestad, N.C.; Oleson, A.E. Comparison of PCR, ELISA, and DNA hybridization for the detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in field-grown potatoes. *Plant Disease* 80: 519-524. 1996.
- Souto, E.R.; Tessman, D.J.; Nunes, W.M.C. Métodos de PCR aplicados à fitopatologia. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia. 2000, 28p.
- Szalanski, A.L.; Mullin, P.G.; Harris, T.S.; Powers, T.O. First report of Columbia root knot nematode (*Meloidogyne chitwoodi*) in potato in Texas. *Plant Disease* D-2001-0201-01N, 2001 (on-line).
- Tanne, E.; Boudon-Padieu, E.; Clair, D.; Davidovich, M.; Melamed, S.; Klein, M. Detection of phytoplasma by polymerase chain reaction of insect feeding medium and its use in determining vectoring ability. *Phytopathology* 91: 741-746, 2001.

- Van Rogenmortel, M.H.V. et al. Virus Taxonomy – Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Amsterdam: Academic Press, 2000. 809p.
- Walcott, R.R.; Gitaitis, R.D. Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon seed using immunomagnetic separation and the polymerase chain reaction. *Plant Disease* 84: 470-474, 2000.
- Webb, D.R.; Bonfiglioli, R.J.; Carraro, L.; Osler, R.; Symons, R.H. Oligonucleotides as hybridization probes to localize phytoplasmas in host plants and insect vectors. *Phytopathology* 89: 894-901, 1999.
- Wesley, S.V.; Miller, J.S.; Devi, P.S.; Delfosse, P.; Naidu, R.A.; Mayo, M.A.; Reddy, D.V.R.; Jana, M.K. Sensitive broad-spectrum detection of Indian Peanut Clump Virus by nonradioactive nucleic acid probes. *Phytopathology* 86: 1234-1237, 1996.
- Willits, D.A.; Sherwood, J.E. Polymerase chain reaction detection of *Ustilago hordei* in leaves of susceptible and resistant barley varieties. *Phytopathology* 89: 212-217, 1999.
- Zhang, A.W.; Hartman, G.L.; Curio-Penny, B.; Pedersen, W.L.; Becker, K.B. Molecular detection of *Diaporthe phaseolorum* and *Phomopsis longicolla* from soybean seeds. *Phytopathology* 89: 796-804, 1999.

# ÁCAROS DE FRUTEIRAS TROPICAIS: IMPORTÂNCIA ECONÔMICA, IDENTIFICAÇÃO E CONTROLE

MANOEL GUEDES CORRÊA GONDIM JÚNIOR  
JOSÉ VARGAS DE OLIVEIRA

## INTRODUÇÃO

A fruticultura no Nordeste brasileiro representa hoje uma excelente alternativa de mercado agrícola. Essa realidade se deve à adaptação de inúmeras fruteiras às condições de clima e solo da região Nordeste, e principalmente, ao incremento das áreas irrigadas (Gurovich, 1978). Somente na região do Submédio São Francisco, há cerca de 100 mil ha de terras irrigadas, em condições de propiciar ao fruticultor altos níveis de produtividade (Gonzaga Neto & Soares, 1994). A posição de destaque que a atividade frutícola ocupa hoje na região se deve, em grande parte, ao fato das condições locais permitirem a produção de frutas durante quase todo o ano, inclusive entre outubro e abril, período em que os mercados europeu, asiático e americano estão desabastecidos, o que favorece a exportação destes produtos (Codevasf, 1989).

A perspectiva da fruticultura brasileira de conferir ao país, nos próximos anos, a posição de um dos maiores exportadores mundiais de frutas frescas e processadas, tem estimulado os governos estaduais e federal a investirem nesta atividade. Isto tem dado suporte ao desenvolvimento potencial da fruticultura nordestina, com a aplicação de recursos que visam incorporar maior área e tecnologia à fruticultura tropical no Nordeste (Braga Sobrinho *et al.*, 1998).

Dentre as diversas fruteiras que são cultivadas no Nordeste, algumas tem se destacado com boas perspectivas para os mercados externo e interno, como o abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.), aceroleira (*Malpighia glabra* L.), bananeira (*Musa* spp.), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), citros (*Citrus* spp.), coqueiro (*Cocos nucifera* L.), goiabeira (*Psidium guajava* L.), gravioleira (*Annona muricata* L.), mamoeiro (*Carica papaya* L.), mangueira (*Mangifera indica* L.) e maracujazeiro (*Passiflora* spp.).



Apesar da alta tecnologia, normalmente utilizada nos cultivos, diversos problemas de ordem tecnológica interferem no desenvolvimento sustentável de um programa de fruticultura, como os relacionados às pragas. Os organismos que atingem este “status”, destacam-se como agentes altamente relevantes e limitantes no processo produtivo, não só por interferirem diretamente na qualidade final do produto, mas principalmente pelos severos requerimentos fitossanitários exigidos por parte dos países importadores, que utilizam estas restrições inclusive, como artifício para preservar sua economia e mercado.

Os ácaros constituem um dos grupos de animais que mostra grande diversidade de formas, habitats e comportamento, sendo encontrados em quase todos os locais acessíveis à vida animal. Estima-se que existam pelo menos cerca de 500 mil espécies de ácaros no mundo. Contudo, apenas cerca de 30 mil espécies são atualmente conhecidas. Portanto, o conhecimento sobre a diversidade de espécies de ácaros é ainda bastante incipiente (Flechtmann, 1983).

É notável os problemas de importância econômica causados por ácaros em plantas cultivadas (Doreste, 1988). Entre as culturas afetadas por infestações de ácaros-pragas, pode-se destacar as fruteiras, devido à severidade dos danos causados nestas plantas (Yaninek & Moraes, 1991). Apesar da importância dos ácaros para as fruteiras, a fauna destes artrópodes é pouco conhecida no Brasil, não só dos ácaros fitófagos (Flechtmann, 1983), como também a de ácaros predadores (Moraes *et al.*, 1986).

## **MORFOLOGIA DE ÁCAROS**

Ácaros são organismos pertencentes ao Filo Arthropoda, Subfilo Chelicerata, Classe Arachnida e Subclasse Acari. São artrópodes que geralmente apresentam quatro pares de pernas nas fases pós-larvais, ausência de segmentação primária, apêndices articulados e esqueleto externo (Flechtmann, 1975). Apesar de ser a Acarologia uma ciência relativamente recente, aproximadamente 2.000 pessoas hoje se dedicam a este estudo em todo mundo. Apenas no Brasil, cerca de 60 pesquisadores conduzem algum tipo de investigação acarológica. Entretanto, a maioria destes pesquisadores se dedica ao estudo da Acarologia Aplicada, e poucos se interessam também pela Taxonomia ou outros aspectos de estudos de diversidade biológica (Flechtmann & Moraes, 1999).

### **Superfamília Eriophyoidea**

Os representantes desta Superfamília medem de 0,15 a 0,25 mm de comprimento e apresentam o gnatossoma geralmente pequeno, em relação ao resto do corpo, com estiletos curtos, exceto em Diptilomiopidae. Apresentam aspecto vermiforme e coloração variando do branco-leitoso ao alaranjado-claro. Tanto os estágios de ovo como os estágios ativos podem ser cobertos por cerosidade pulverulenta, que torna mais difícil ainda sua identificação, além do seu tamanho diminuto. Muitas espécies se desenvolvem no interior de galhas, outras em meio a grande quantidade de pilosidade da planta (erínose) e outras em folhas, frutos e flores. Esta superfamília é formada por três famílias (Diptilomiopidae, Eriophyidae e Phytoptidae), com aproximadamente 3.100 espécies conhecidas no mundo. Caracteristicamente apresentam alta especificidade em relação a planta hospedeira. A quase totalidade das espécies conhecidas ocorre em plantas pertencentes a uma única família, gênero ou até mesmo espécie de planta. Apesar do tamanho diminuto, da difícil identificação e do pequeno número de especialistas deste grupo no mundo, a alta especificidade dos eriofídeos facilita sua identificação. Estes ácaros passam pelas fases de ovo, larva, ninfa e adulto, tendo em todos estágios ativos apenas dois pares de pernas (Figura 13.1). Os eriofídeos são pragas importantes de diversas culturas inclusive as fruteiras tropicais, sendo conhecidas mundialmente espécies que ocorrem em abacaxizeiro, aceroleira, anonáceas, bananeira, cajueiro, citros, goiabeira, mamoeiro, mangueira, maracujazeiro e coqueiro. Nesta última, a espécie *Aceria guerreronis* Keifer, é uma das pragas mais importantes.

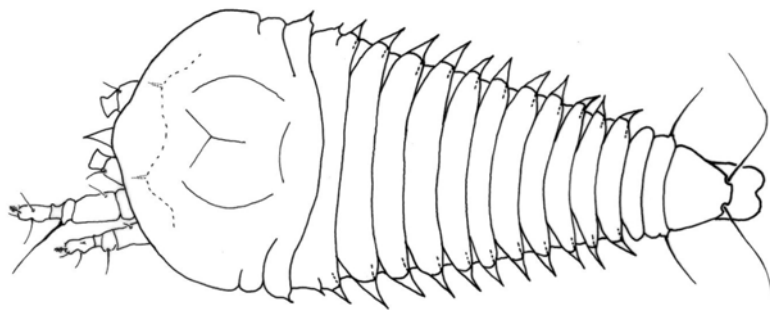


Figura 13.1 – Superfamília Eriophyoidea.

## Família Tarsonemidae

São ácaros vítreo-brilhantes, fêmeas com corpo ovalado, dorso convexo, com os dois primeiros pares de pernas bem separados dos dois últimos. As pernas IV estão constituídas de três artículos nas fêmeas, terminadas em duas longas setas. Nos machos, as pernas IV têm três ou quatro artículos e são transformadas em órgãos para fixação durante a cópula. O dimorfismo sexual é acentuado, tendo as fêmeas formato ovalado e os machos, menores com o opistossoma afilado. Os tarsonemídeos apresentam um pronunciado desenvolvimento dos apódemas na região ventral do corpo (Figura 13.2). Passam pelos estágios de ovo, larva, “pupa” e adulto. Os ovos são branco-pérola, ovóides e opacos; as larvas, de coloração branco-opaca, com opistossoma bastante dilatado, podendo nesta fase já se distinguir os sexos, de vez que, as larvas dos machos são menores e apresentam o opistossoma mais proeminente. A pupa apresenta-se afilada para ambas as extremidades. Entre as espécies de importância agrícola destaca-se o ácaro branco ou tropical, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks). Trata-se de uma praga polífaga e cosmopolita, ocorrendo em diversas culturas de importância econômica como algodoeiro, feijoeiro, pimentão e também em fruteiras como acerola, citros, graviola, mamão e maracujá.

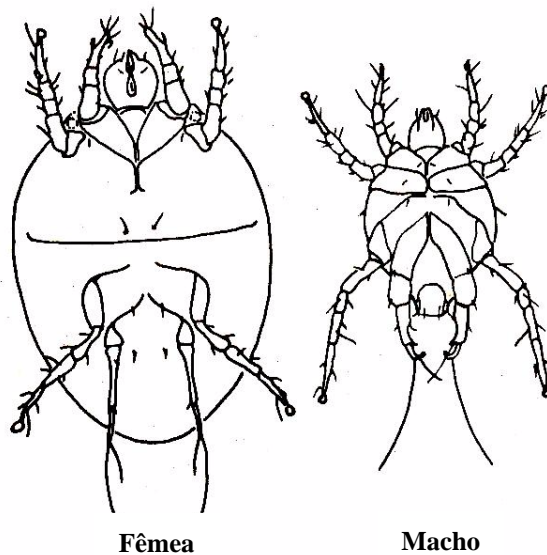


Figura 13.2 – Família Tarsonemidae, *Polyphagotarsonemus latus* Banks.  
(Fonte: Flechtmann, 1983).

## Família Tetranychidae

Compreende ácaros de coloração variável, de branco-amarelado a verde e vermelho, tegumento delicado e sem escudos, medindo cerca de 400 µm de comprimento. No gnatossoma as quelíceras são transformadas em estiletos longos e os palpos apresentam uma estrutura unciforme (complexo “unha-dedão”). Os tarsos terminam geralmente por unhas e empódio. O escudo genital da fêmea é característico, sendo circundado por uma área de tegumento tipicamente enrugado (Figura 13.3). Os machos apresentam edeago típico.

Em seu desenvolvimento, os tetraniquídeos passam pelos estágios de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. Entre os estágios ativos ocorrem estágios quiescentes denominados protocrisálida, deutocrisálida e telocrisálida. As fêmeas da maioria das espécies tecem apreciável quantidade de teia, recobrando parcialmente a superfície das folhas. Podem ser encontrados tanto na face superior como inferior das folhas. Muitas espécies são polífagas e importantes pragas em fruteiras como *Tetranychus urticae* Koch, *Tetranychus desertorum* Banks, *Tetranychus neocaledonicus* André e *Tetranychus mexicanus* McGregor.

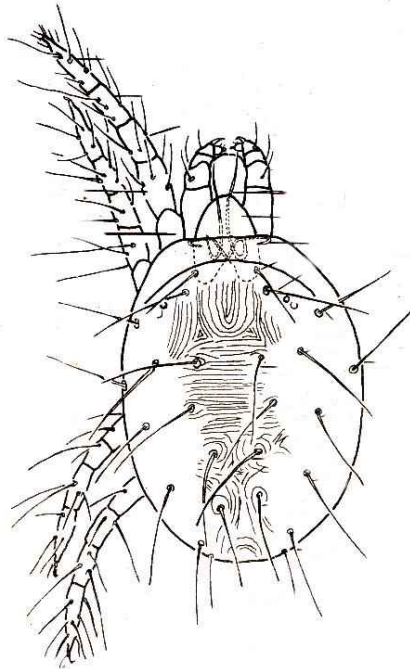


Figura 13.3 – Família Tetranychidae (Fonte: Flechtmann, 1983).

### **Família Tenuipalpidae**

Os representantes desta família são conhecidos como ácaros planos, medindo entre 250 a 400  $\mu\text{m}$ . Têm coloração geralmente vermelha, pernas curtas, aneladas, palpos simples formados de 1 a 5 segmentos. A abertura genital é transversal e pode ser guarnecida por um escudo. O corpo é, via de regra, ornamentado por estrias ou reticulações. As setas podem ser simples ou frequentemente ornamentadas (Figura 13.4). Durante o seu desenvolvimento, os tenuipalpídeos passam pelos estágios de ovo, larva, protocrisálida, protoninfa, deutocrisálida, deutoninfa, telocrisálida e adulto.

Entre as espécies de importância agrícola destaca-se o ácaro da leprose dos citrus, *Brevipalpus phoenicis* Geijskes, sendo uma praga polífaga e cosmopolita. É uma das principais pragas dos citrus, sendo responsável por grandes perdas nesta cultura.

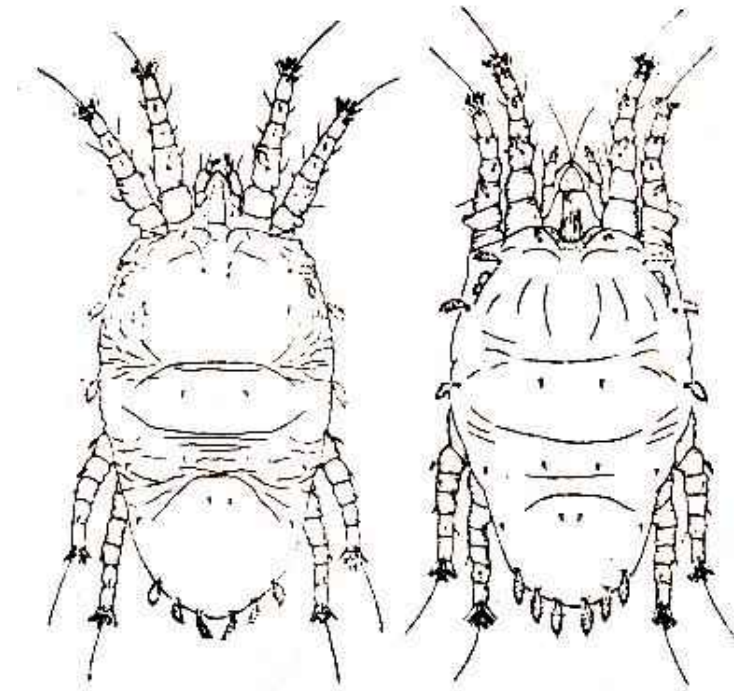


Figura 13.4 – Família Tenuipalpidae (Fonte: Flechtmann, 1983).

## PREPARAÇÃO E MONTAGEM DE ÁCAROS

O estudo morfológico de ácaros é realizado, normalmente, com o auxílio de microscópio óptico, através de montagens em lâminas. O ácaro inicialmente é coletado e preservado em líquidos, como álcool 70%, AGA ou Licor de Keifer (Tabela 13.1). Algumas espécies necessitam de clarificação antes da montagem em lâmina, que é feita com líquido de Nesbitt. Em seguida, o ácaro é montado em uma lâmina com meio de Hoyer ou Berlese Modificado, específico para Eriophyoidea. O ácaro deve ser distendido dorso-ventralmente no centro da lâmina e depositada uma gota de meio e uma lamínula sobre o mesmo. A lâmina deve ser seca em estufa a 50°C por uma semana e depois lutada com esmalte ou verniz cristal e finalmente etiquetada (Figura 13.5).

Tabela 13.1 – Meios de montagem e clarificação utilizados na acarologia.

<b>Hoyer</b>		<b>Licor de Keifer</b>		<b>Berlese Modificado</b>	
<b>Composição</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Composição</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Composição</b>	<b>Quantidade</b>
Água destilada	40 ml	Álcool	20 ml	Água	1 ml
Goma Arábica	30 g	Isopropílico		Glicerina	1 ml
Hidrato de Cloral	200 g	Água destilada	60 ml	Sorbitol	5 g
Glicerina	20 ml	Sorbitol	30 g	BDTA	3 g
		Iodo Metálico	Mínimo	(Misturar estes ingredientes e adicionar a segunda mistura)	
		Iodeto de Potássio	Mínimo		
<b>Líquido de Nesbitt</b>		<b>AGA</b>		<b>Berlese Modificado</b>	
<b>Composição</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Composição</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Composição</b>	<b>Quantidade</b>
Hidrato de Cloral	40 g	Etanol	240 ml	Água	7 ml
Água Destilada	25 ml	Ácido A. Glacial	30 ml	Glicerina	4 ml
Ácido Clorídrico	25 ml	Glicerina	30 ml	Ácido A. Glacial	3 ml
		Sorbitol	23.8 g	Hidrato de Cloral	70 g

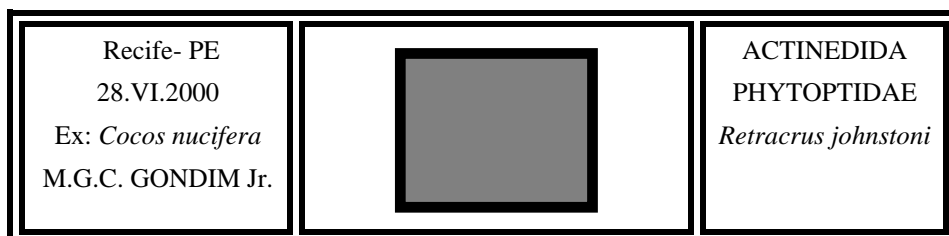


Figura 13.5 – Esquema de uma lâmina montada.

## CHAVE PARA IDENTIFICAÇÃO DE FAMÍLIAS DE ÁCAROS FITÓFAGOS

1. Corpo anelado, vermiforme com dois pares de pernas nas fases imaturas e adulta ..... **Superfamília Eriophyoidea** 2
- 1' Corpo não como acima, adultos geralmente com quatro pares de pernas ..... 4
2. Gnatossoma largo em relação ao corpo; estiletes quelicerais longos e abruptamente dobrados na base, empódio normalmente fendido ao meio ..... **Família Diptilomiopidae**
- 2' Gnatossoma estreito em relação ao corpo; estiletes quelicerais curtos, empódio normalmente não fendido ..... 3
3. Escudo prodorsal com um, três, quatro ou cinco setas, sendo uma ou três inseridas anteriormente; tibia anterior com solenídeo. Eriofídeos primitivos geralmente associados a coníferas e monocotiledôneas; poucas espécies em outras plantas ..... **Família Phytoptidae**
- 3' Escudo prodorsal sem seta ou com duas setas (Sc), inseridas na parte posterior do escudo; tibia anterior sem solenideo ..... **Família Eriophyidae**
4. Gnatossoma geralmente de contorno circular, com minúsculos palpos; quelíceras pequenas estiletiformes; órgãos pseudoestigmáticos presentes; perna IV da fêmea com duas setas terminais flageladas; macho com a perna IV modificada para cópula ..... **Família Tarsonemidae**
- 4' Gnatossoma variável; palpos desenvolvidos; quelíceras em estilete alongado, originando-se de um estilóforo ..... 5
5. Palpo simples; abertura genital transversal, com ou sem escudo ..... **Família Tenuipalpidae**
- 5' Tibia do palpo com uma robusta “unha”, ficando o tarso deslocado lateralmente (“unha-dedão”); abertura genital transversal, guarnecida por um escudo tipicamente enrugado ..... **Família Tetranychidae**

## CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO PARA GÊNEROS E ESPÉCIES DE TETRANYCHIDAE EM FRUTEIRAS TROPICAIS

1. Empódio, quando presente, em forma de garra; tarso I apenas com setas associadas ou com um par de setas dúplices; quando há dois pares de setas dúplices no tarso I não há setas dúplices no tarso II ..... 2
- 1' Empódio presente; tarso I com dois pares de setas dúplices e tarso II com um par ..... 3
2. Dois pares de setas anais ..... *Eutetranychus banksi*
- 2' Um par de setas anais ..... *Aponychus schultzi*
3. Dois pares de setas para-anais ..... 4
- 3' Um par de setas para-anais ..... 5
4. Empódio tão longo quanto os pelos proximoventrais ..... *Panonychus citri*
- 4' Empódio mais curto que os pelos proximoventrais .... *Allonychus braziliensis*
5. Empódio em forma de garra (unciforme), setas dúplices do tarso I distais e adjacentes ..... *Oligonychus* spp. (ver Figura 13.6)
- 5' Empódio fendido distalmente, setas dúplices do tarso I bem separadas ..... *Tetranychus* spp. (ver Figura 13.6)

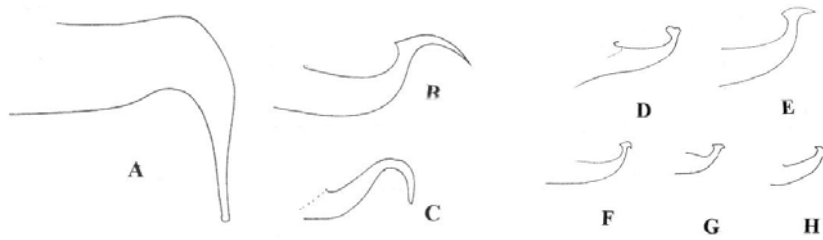


Figura 13.6 – Edeagos de Tetranychidae. A - *Oligonychus yothersi*; B - *Oligonychus biharensis*; C - *Oligonychus psidii*; D - *Tetranychus neocaledonicus*; E - *Tetranychus mexicanus*; F - *Tetranychus desertorum*; G - *Tetranychus urticae*; H - *Tetranychus abacae*.

### CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DE GÊNEROS E ESPÉCIES DE TENUIPALPIDAE EM FRUTEIRAS TROPICAIS

- |    |  |                           |   |
|----|--|---------------------------|---|
| 1. | Palpo com quatro segmentos, corpo com formato oval .....   | <i>Brevipalpus</i>        | 2 |
| 1' | Palpo com três segmentos, corpo com formato elíptico .....   |                           | 3 |
| 2. | Tarso II da fêmea adulta com dois solenídeos (Figura 13.7B) .....  | <i>B. phoenicis</i>       |   |
| 2' | Tarso II da fêmea adulta com apenas um solenídeo (Figura 13.7A) .....  | <i>B. obovatus</i>        |   |
| 3. | Histerossoma com três pares de setas dorsocentrais; podossoma largo e opistosoma estreito; escudo rostral bem desenvolvido ..... | <i>Tenuipalpus</i>        |   |
| 3' | Histerossoma com dois pares de setas dorsocentrais; escudo rostral ausente; corpo alongado .....                                 | <i>Dolichotetranychus</i> |   |



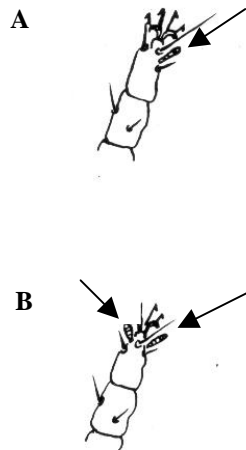


Figura 13.7 – Tarso de *Brevipalpus obovatus* Donnadieu, 1875 (A) e *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (B), mostrando os solenídeos (Fonte: Denmark, 1968).

## ÁCAROS DE FRUTEIRAS TROPICAIS

As fruteiras são plantas geralmente perenes ou semi-perenes, que constituem agroecossistemas mais estáveis se comparados aos das culturas anuais. Em função disto, geralmente promovem condições mais favoráveis aos inimigos naturais dos ácaros. Talvez por isto, seja menos frequente atingirem o “status” de praga nestas culturas, muito embora tenham-se exemplos importantes como o ácaro da leprose e o da falsa ferrugem em citros, e o ácaro da necrose do fruto em coqueiro. A seguir são citadas as principais fruteiras tropicais para o Estado de Pernambuco, as espécies de ácaros que nelas ocorrem e os danos causados.

### Abacaxi

**Ácaro plano do abacaxizeiro - *Dolichotetranychus floridanus*** Banks, 1900 (Tenuipalpidae): este ácaro foi relatado em diversas regiões produtoras do mundo, é de coloração alaranjada, medindo 0,3 mm de comprimento (Figura 13.8). Ocorre na base das folhas, na região aclorofilada, causando lesões necróticas. As folhas apresentam as extremidades amareladas e murchas. Sua importância para a cultura ainda não foi bem esclarecida,

principalmente pelo fato de ocorrer geralmente associado a cochonilha *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Sternorrhyncha), que constitui uma praga reconhecidamente importante para a cultura e cujos danos iniciais assemelham-se aos causados pelo ácaro.

**Tarsonemídeo dos frutos - *Steneotarsonemus ananas*** Tryon, 1898 (Tarsonemidae): ácaro de coloração branco-amarelada, medindo 0,2 mm de comprimento. Ocorre nas folhas e frutos, embora mais encontrado neste último, causando deformação da coroa do mesmo (Figura 13.9).

## Acerola

***Eutetranychus banksi*** McGregor, 1914 (Tetranychidae): esta espécie ocorre em diversos países da América, desde E.U.A até a Argentina, inclusive Brasil (Figura 13.10). Tem diversas espécies de plantas hospedeiras como Acacia, *Acrocomia* sp., algodão, café, citros, *Ficus* spp., mamoeiro, mandioca, seringueira, urucum (*Bixa orellana*) e diversas outras plantas. Este ácaro tem sido verificado na face superior das folhas de acerola, no Recife (Campus da UFRPE), causando pontuações cloróticas.

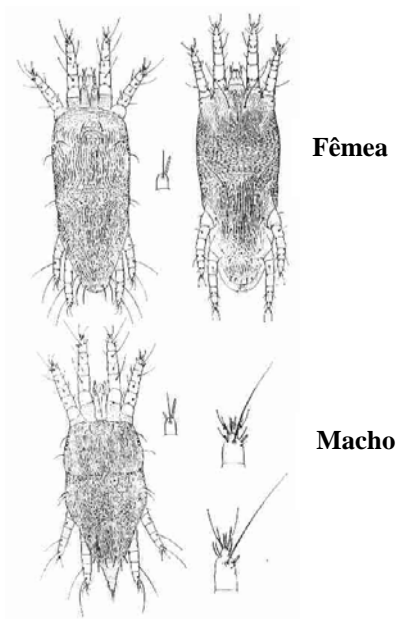


Figura 13.8 – *Dolichotetranychus floridanus* Banks, 1900 (Fonte: Baker & Pritchard, 1956).

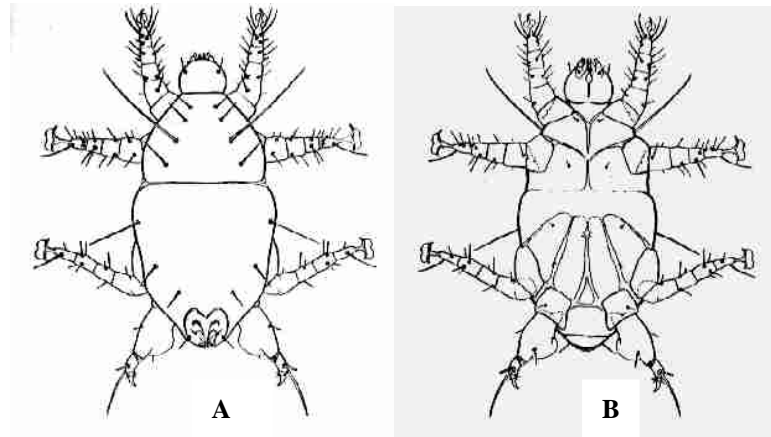


Figura 13.9 – *Steneotarsonemus ananas* Tryon, 1898. (A) macho dorsal; (B) macho ventral (Fonte: Beer, 1954).

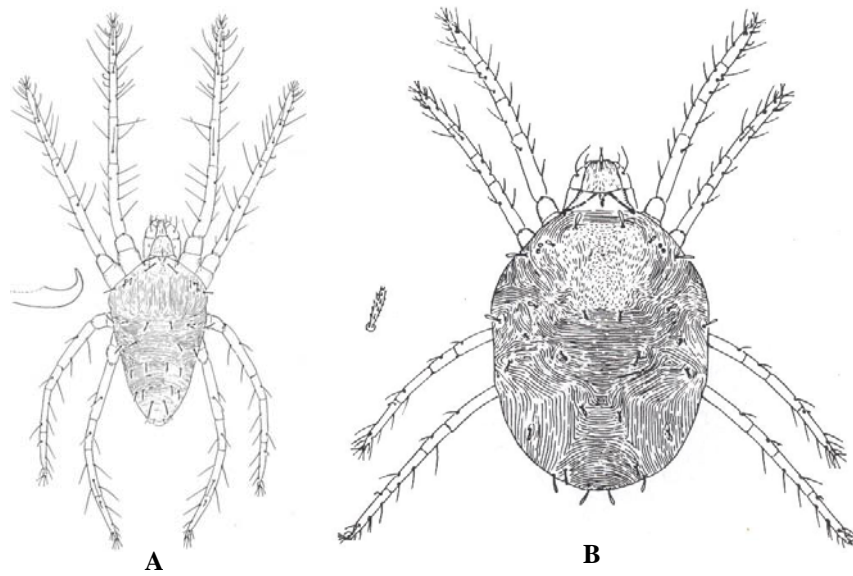


Figura 13.10 – *Eutetranychus banksi* McGregor, 1914. (A) macho; (B) fêmea. (Fonte: Pritchard & Baker, 1955).

*Tetranychus neocaledonicus* André, 1933 (Tetranychidae): este ácaro é relatado durante o período seco do ano, causando descoloração nas folhas, que ficam salpicadas de manchas brancas. A chuva lava os ácaros das folhas. (Flechtmann, 1983). (Figura 13.6-D).

*Polyphagotarsonemus latus* Banks, 1904 (Tarsonemidae): este ácaro tem sido observado nas folhas novas e brotações, causando bronzeamento na face inferior das folhas (Figura 13.2). Ocorrem durante o início do período chuvoso, sendo encontrado na região metropolitana do Recife (Campus da UFRPE).

*Brevipalpus phoenicis* Geijskes, 1939 (Tenuipalpidae): tem sido observado nas folhas e brotos da aceroleira (Figura 13.4). Ocorre em baixas infestações, aparentemente não causando danos.

### Anonáceas

*Aculops flechtmanni* Keifer, 1972 (Eriophyidae): na fruta-do-conde causa bronzeamento nas pétalas, podendo haver queda de flores (Figura 13.11). Nos frutos novos causa áreas bronzeadas que passam a suberosas (Flechtmann, 1983).

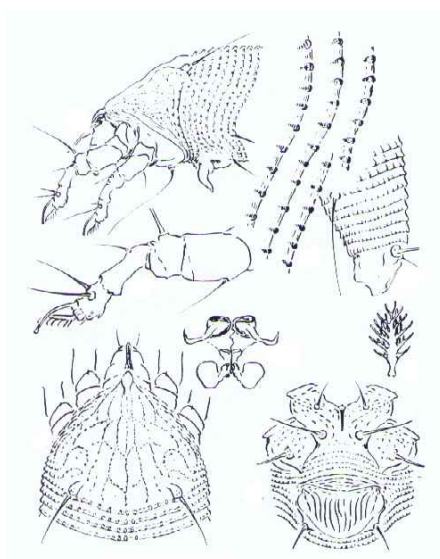


Figura 13.11 – *Aculops flechtmanni* Keifer, 1972 (Fonte: Keifer, 1972).

*Brevipalpus phoenicis* Geijskes, 1939 (Tenuipalpidae): este ácaro ocorre em frutos de graviola. Tem sido encontrado no Estado de Pernambuco em altas infestações nos frutos desta anonácea, que se apresentam bronzeados externamente (Figura 13.4).

## **Bananeira**

**Ácaros vermelhos** - *Tetranychus abacae* Baker & Pritchard, 1962 (Figura 6-H) e *Tetranychus desertorum* Banks, 1900 (Tetranychidae) (Figura 13.6-F): ocorrem ocasionalmente nas folhas da bananeira, que ficam totalmente ou parcialmente revestidas de grande quantidade de teia (Flechtmann, 1983). *T. abacae* tem sido verificado no Recife em altas infestações, causando clorose e secamento de folhas em bananeira e *Heliconia* spp. ).

## **Cajueiro**

**Ácaro plano do cajueiro** - *Tenuipalpus anacardii* De Leon, 1965 (Tenuipalpidae): são ácaros verde-amarelados, achatados, medindo aproximadamente 0,4 mm de comprimento. Apresentam as setas do idiossoma ornamentadas. Habitam a face inferior das folhas de cajueiro, atingindo altas populações durante a estação seca, contudo sua importância ainda não foi avaliada.

**Eriofídeos das folhas** - *Mesalox abathus* Keifer, 1969 (Eriophyidae) (Figura 13.12A) e *Rhynacus globosus* Keifer, 1969 (Diptilomiopidae) (Figura 13.12B): pouco se sabe sobre estes ácaros. Apesar de *R. globosus* ser encontrado em altas infestações em folhas de cajueiro na região metropolitana do Recife, aparentemente não causa danos econômicos a cultura.

**Eriofídeo das flores** - *Aceria rossetonis* Keifer, 1969 (Eriophyidae): ocorre nas inflorescências do cajueiro (Figura 13.13), provocando clorose nas sépalas e pedúnculo floral, queda de flores e secamento da inflorescência (Flechtmann, 1983).

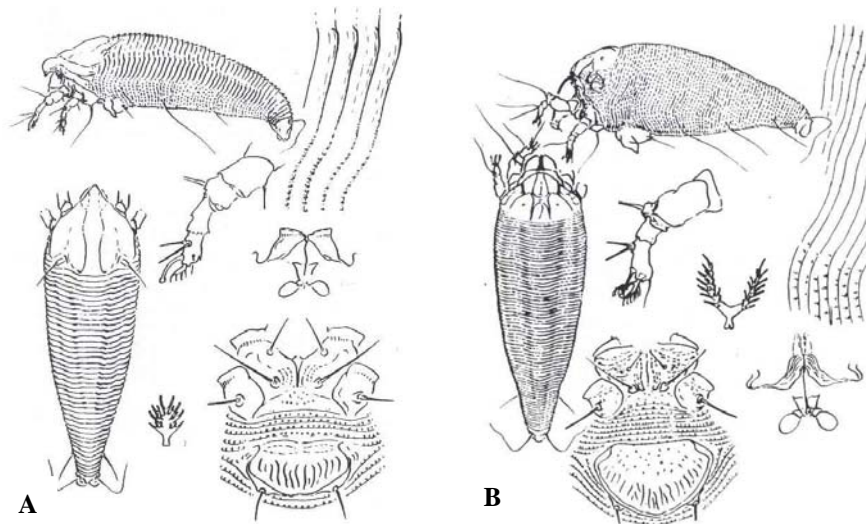


Figura 13.12 – (A) *Mesalox abathus* Keifer, 1969 (Fonte: Keifer, 1969b);  
 (B) *Rhynacus globosus* Keifer, 1969 (Fonte: Keifer, 1969a).

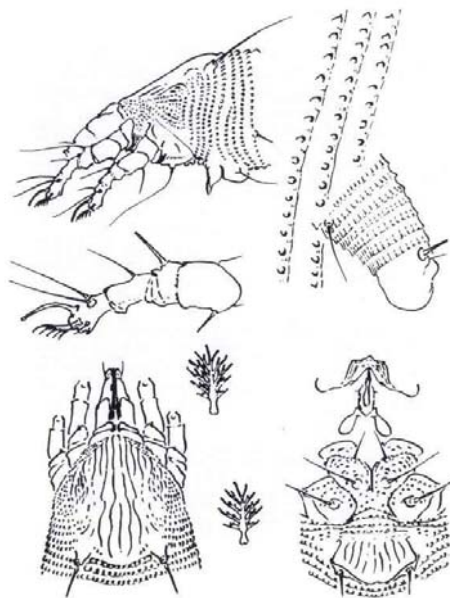


Figura 13.13 – *Aceria rossetonis* Keifer, 1969 (Fonte: Keifer, 1969a).

## Citros

**Ácaro da falsa ferrugem - *Phyllocoptruta oleivora*** Ashmead, 1879 (Eriophyidae): é vermiforme, coloração amarelada, medindo 0,15 mm de comprimento (Figura 13.14A). Desenvolvem colônias nas folhas, ramos e principalmente em frutos novos, onde causa bronzeamento, (“laranja mulata”). Constitui uma das mais importantes pragas dos citros.

**Ácaro das gemas - *Eriophyes sheldoni*** Ewing, 1937 (Eriophyidae): este ácaro é encontrado nas gemas, abrigando-se entre as folhas novas (Figura 13.14B). Causa deformação nos brotos e frutos novos (Flechtmann, 1983).

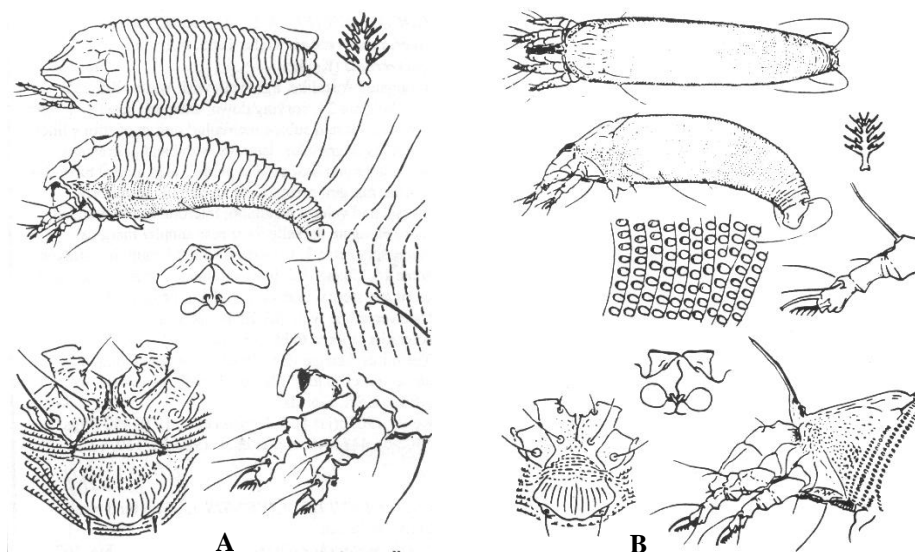


Figura 13.14 – *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead, 1879) (A). *Eriophyes sheldoni* (Ewing, 1937); (B) (Fonte: Baker *et al.*, 1996).

***Tegolophus brunneus*** Flechtmann, 1999 (Eriophyidae): este ácaro foi encontrado e descrito de folhas e frutos coletados no Estado de São Paulo. Causa bronzeamento nas folhas e frutos (Figura 13.15).

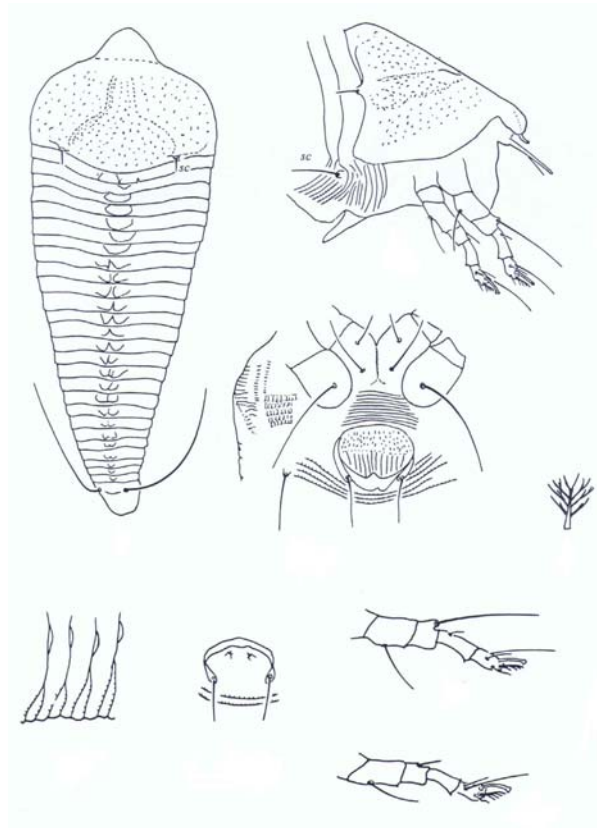


Figura 13.15 – *Tegalophus brunneus* Flechtmann, 1999 (Fonte: (Flechtmann, 1999).

**Ácaros planos - *Brevipalpus phoenicis* Geijskes, 1939 e *Brevipalpus obovatus* Donnadieu, 1875 (Tenuipalpidae)** (Figura 13.7): atacam as gemas que ficam com aspecto enrugado e podem apresentar superbrotamento. Quando atacam hastes novas podem causar fendilhamento no cortex, e conseqüente morte dos tecidos. As folhas atacadas apresentam manchas cloróticas de aspecto circular, que podem ser confundidos com sintomas da leprose. Em altas infestações pode acarretar queda de folhas. Os frutos apresentam manchas semelhantes as da folha e podem associar-se a lesões da leprose. É uma das principais pragas dos citros (Flechtmann, 1983).

***Tetranychus mexicanus* McGregor, 1950 (Tetranychidae)** (Figura 13.6E): apresentam coloração variável, vermelho alaranjado intenso, quando se desenvolvem sobre folhas de lima e verde-pardacento com pontuações pretas, quando se desenvolvem em laranjas. As formas jovens são geralmente esverdeadas com manchas escuras. Desenvolve-se geralmente na face inferior das folhas mais novas, as quais tornam-se levemente curvadas



para baixo. A face superior apresenta pontuações cloróticas, que passam a bronzeadas (Flechtmann, 1983).

***Panonychus citri*** McGregor, 1916 (Tetranychidae): a fêmea deste ácaro é ovalada, medindo cerca de 0,4 mm de comprimento (Figura 13.16). Sua coloração é vermelha intensa, com longas setas branco-rosadas projetando-se de robustos tubérculos dorsais brancos. Ataca os ramos mais novos, folhas e frutos, causando um prateamento que evolui para bronzeamento e desfolha da planta (Flechtmann, 1983).

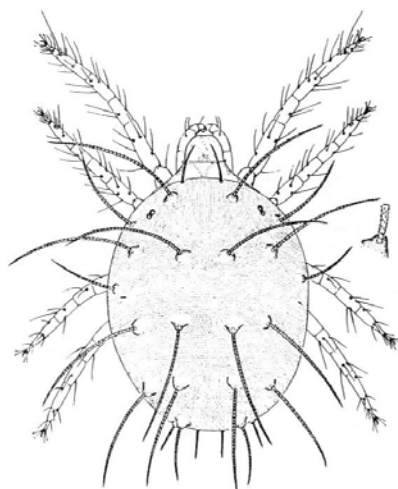


Figura 13.16 – *Panonychus citri* McGregor, 1916 (fêmea) (Fonte: Pritchard & Baker, 1955).

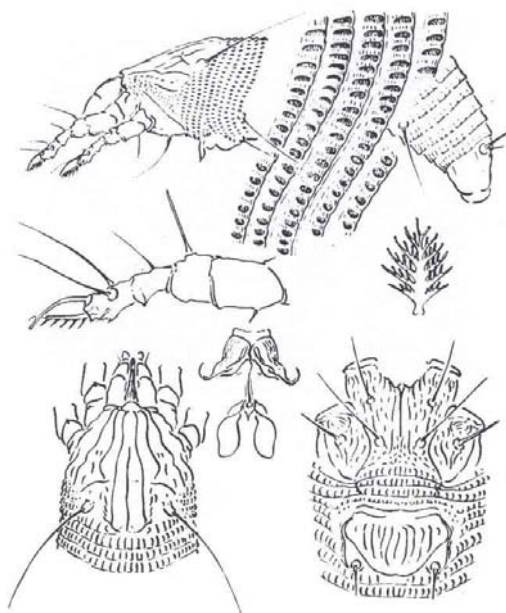
**Ácaro branco** - *Polyphagotarsonemus latus* Banks, 1904 (Tarsonemidae): ocorre principalmente em mudas no viveiro, atacando as gemas e folhas novas causando deformações. Em limões causa prateamento (Figura 13.2).

## Coqueiro

**Ácaro da necrose do olho do coqueiro** - *Aceria guerreronis* Keifer, 1965 (Eriophyidae): este ácaro foi encontrado no Brasil em 1965 no Estado do Rio de Janeiro, causando necrose em frutos, e logo depois no Estado de Pernambuco causando a morte de mudas em viveiro. Encontra-se disperso na América, África e recentemente foi introduzido na Ásia, onde tem provocado grandes prejuízos para cocoicultura daquele continente. Este ácaro se

desenvolve sob as brácteas dos frutos novos e em formação, causando inicialmente clorose na epiderme dos frutos e posteriormente necrose (Figura 13.17). Os ácaros não são encontrados nos tecidos necrosados e sim sob as brácteas. Parte dos frutos caem e os que permanecem na planta ficam deformados, e com menor quantidade de albúmem líquido e sólido. É considerado uma das mais importantes pragas do coqueiro do Estado de Pernambuco. Em mudas no viveiro, ocorre entre os folíolos da flecha, causando necrose, chegando a destruir a gema apical, e conseqüentemente morte da muda.

Figura 13.17 – *Aceria guerreronis* Keifer, 1965 (Fonte: Keifer, 1965a).



***Retracrus jonhstoni*** Keifer, 1965 (Phytoptidae): este ácaro foi descrito de uma palmeira (*Chamaedorea* sp.) no México e relatado no Brasil em coqueiros no Estado de Sergipe e em jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) no Estado de São Paulo (Santana *et al.*, 1994) (Figura 13.18). Em coqueiro causa lesões amareladas nas folhas semelhantes aos sintomas de deficiência de potássio. É fácil sua identificação pelo fato de todos as formas ativas e também os ovos serem recobertos por cerosidade. Tem sido encontrado em diversos municípios do Estado de Pernambuco, como Igarassu, Itamaracá e Recife.

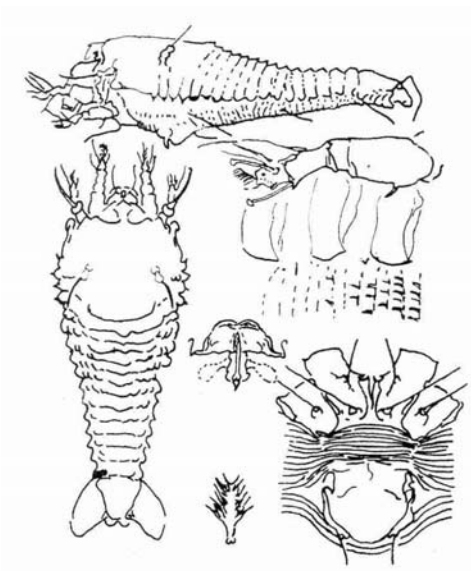


Figura 13.18 – *Retractus jonhstoni* Keifer, 1965 (Fonte: Keifer, 1965b).

*Amrineus cocofolius* Flechtmann, 1994 (Eriophyidae): este ácaro foi descrito a partir de material coletado em coqueiros no município de Jales-SP. Ocorre nas folhas do coqueiro, causando clorose e necrose (Figura 13.19). Ao contrário da espécie anterior não apresenta o corpo coberto por cerosidade.

Ácaros do gênero *Notostrix* - *Notostrix attenuata* Keifer, 1963 (Figura 13.20B), *Notostrix jamaicae* Keifer, 1970 (Figura 13.20A) e *Notostrix nasutiformes* Gondim Jr., 2000: várias espécies deste gênero ocorrem em palmeiras no Brasil. Estes ácaros são característicos por secretarem cera lateralmente ao corpo, em forma de placas. Aparentemente não causam danos às plantas e não são verificados em altas infestações.

*Steneotarsonemus furcatus* (Tarsonemidae): este ácaro foi encontrado em frutos do coqueiro no município de Igarassu-PE, associado a *A. guerreronis*. Os frutos infestados apresentam lesões necróticas semelhantes aos danos causados pelo eriofídeo (Figura 13.21).

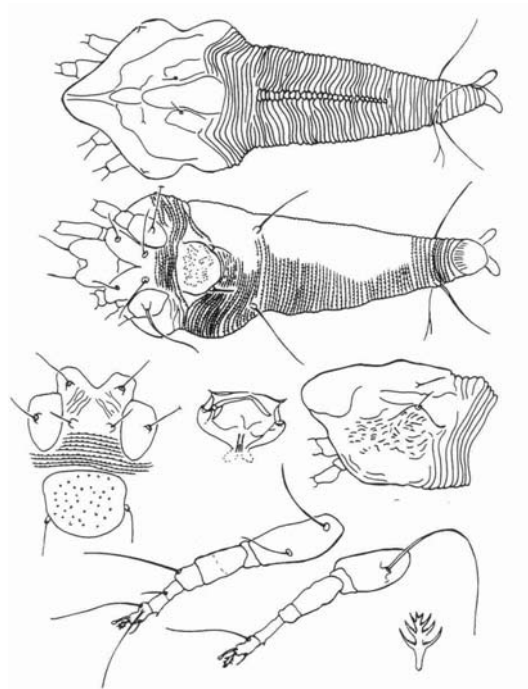


Figura 13.19 – *Amrineus cocofolius* Flechtmann, 1994 (Eriophyidae) (Fonte: Flechtmann, 1994).

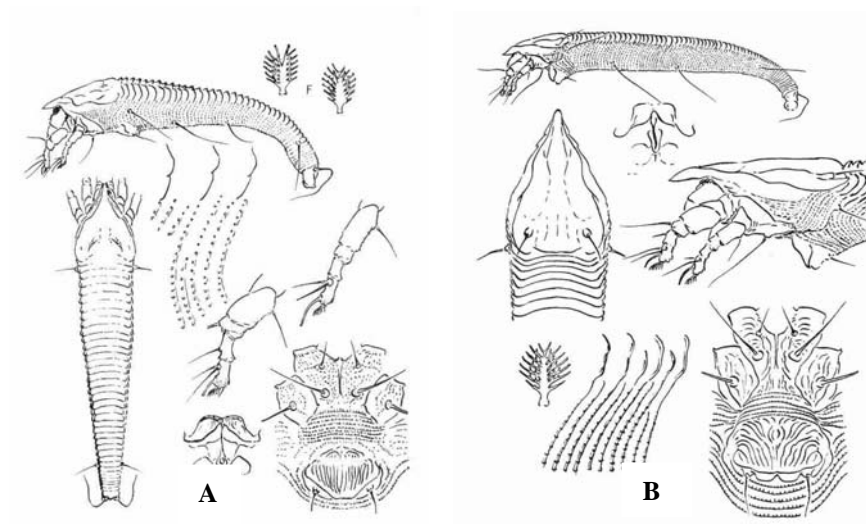


Figura 13.20 – *Notostrix jamaicae* Keifer, 1970 (A) (Fonte: Keifer, 1970) e *Notostrix attenuata* Keifer, 1963; (B) (Fonte: Keifer, 1963).

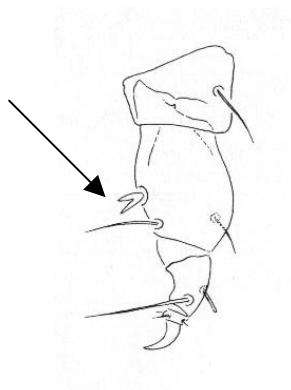


Figura 13.21 – Tarso do macho de *Steneotarsonemus furcatus* DeLeon (Tarsonemidae) (Fonte: Jeppson *et al.*, 1975).

*Tetranychus mexicanus* McGregor, 1950 (Tetranychidae): este ácaro é frequentemente encontrado nas folhas do coqueiro, entretanto não causam aparentemente danos econômicos (Figura 13.6E).

*Brevipalpus phoenicis* Geijskes, 1939 (Tenuipalpidae): esta espécie é frequentemente encontrada nas folhas do coqueiro, contudo não causa aparentemente qualquer tipo de dano nesta planta (Figura 13.4).

### Goiabeira

*Oligonychus psidii* Flechtmann, 1967 (Tetranychidae): esta espécie foi encontrada no campus da UFRPE, em folhas de goiabeira, em baixas infestações, sem apresentar aparentemente qualquer dano econômico na planta. Segundo Flechtmann (1983), esta espécie pode causar bronzeamento e queda prematura de folhas (Figura 13.6C).

*Tegonotus guavae* Boczek, 1960 (Eriophyidae): segundo Flechtmann (1983), este ácaro ocorre em folhas de goiabeira, podendo causar bronzeamento (Figura 13.22).

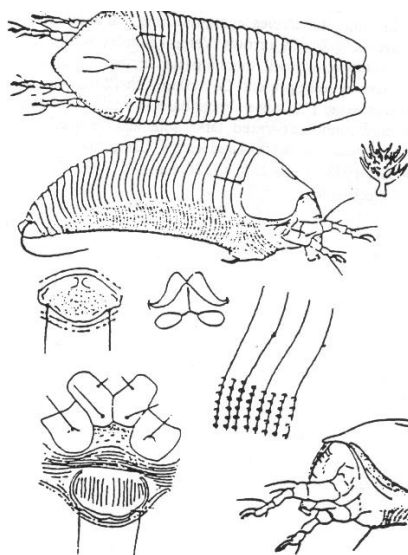


Figura 13.22 – *Tegenotus guavae* (Boczek, 1960) (Fonte: Baker *et al.*, 1996).

## Mamoeiro

**Ácaro branco** - *Polyphagotarsonemus latus* Banks, 1904 (Tarsonemidae): é a praga mais importante do mamoeiro no Nordeste (Figura 13.2). Desenvolve-se nas folhas novas do ponteiro causando malformação, tornando as folhas pequenas e a copa da planta reduzida. Os danos se assemelham aos sintomas causados por viroses e frequentemente são confundidos. Segundo Flechtmann (1983), as plantas podem morrer com total redução da copa e em outras vezes se recuperar.

*Eutetranychus banksi* McGregor, 1944 (Tetranychidae): este ácaro é de coloração verde escuro, sendo encontrado na face superior das folhas e não tece teia (Figura 13.10). Tem sido encontrado no campus da UFRPE, em altas infestações, causando pontuações cloróticas nas folhas do mamoeiro, principalmente na estação seca. As chuvas reduzem sua população.

*Aponychus schultzi* Blanchard, 1940 (Tetranychidae): as fêmeas deste ácaro ocorrem nas folhas mais velhas da planta, podendo infestar ambas as superfícies e não tecem teia.

*Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Figura 13.6G), *Tetranychus desertorum* Banks, 1900 (Tetranychidae) (Figura 13.6F) e *Tetranychus mexicanus* (McGregor, 1950) (Figura 13.6E): os ácaros do gênero *Tetranychus* ocorrem no baixeiro da planta, causando clorose e necrose nas folhas. As fêmeas de *T. urticae* são verdes com manchas escuras no dorso, enquanto as fêmeas de *T. desertorum* e *T. mexicanus* são vermelhas.

## Mangueira

*Aceria mangiferae* Sayed, 1946 (Eriophyidae): este ácaro é encontrado nos pontos de crescimento da planta e nas inflorescências, são vermiformes e medem cerca de 150 µm (Figura 13.23). Causam a morte das gemas terminais e posterior superbrotamento. Nas inflorescências causam malformação. Pesquisas recentes afirmam que a malformação das inflorescências e brotos são causadas por fungos do gênero *Fusarium* e que os ácaros podem estar envolvidos na disseminação do fungo.

*Cysaberoptus kenya* Keifer, 1966 (Eriophyidae): esta espécie segundo Flechtmann (1983) desenvolve hábitos minadores nas folhas. Rosseto (1972) não observou a ocorrência de danos. Navia & Flechtmann (2000) verificaram a ocorrência de cerosidade sobre estes ácaros (Figura 13.24).

*Neocalacarus mangiferae* Channabasavanna, 1966 (Eriophyidae): este ácaro foi descrito de material coletado em Bangalore na Índia. Recentemente foi coletado em folhas de mangueira em Brasília (Figura 13.25A), aparentemente sem causar danos econômicos (Návia & Flechtmann, 2000).

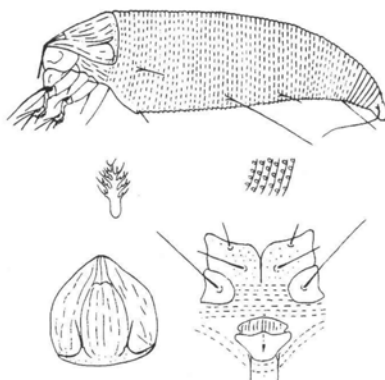


Figura 13.23 – *Aceria mangiferae* (Sayed, 1946) (Eriophyidae) (Fonte: Hong & Zhang, 1996).

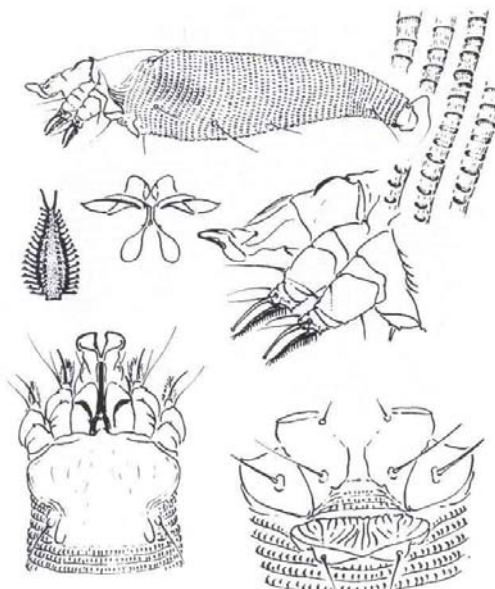


Figura 13.24 – *Cysaberoptus kenya* Keifer, 1966 (Eriophyidae) (Fonte: Hong & Zhang, 1996).

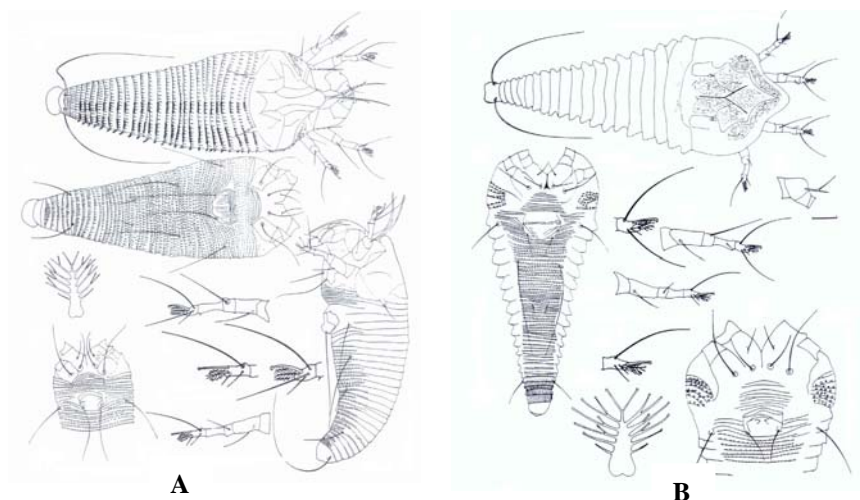


Figura 13.25 – *Neocalacarus mangiferae* Channabasavanna, 1966 (A); *Tegonotus mangiferae* Keifer, 1946 (B). (Fonte: Návia & Flechtmann, 2000).

*Tegonotus mangiferae* Keifer, 1946 (Eriophyidae): este ácaro foi descrito de material coletado no Haváí e recentemente encontrado em folhas de mangueira em Brasília (Figura 13.25B), aparentemente sem causar danos econômicos (Návia & Flechtmann, 2000).

**Tetraniquídeos - *Oligonychus bihariensis* Hirst, 1925 (Figura 13.6B), *Oligonychus yothersi* McGregor, 1914 (Figura 13.6A) e *Allonychus brasiliensis* McGregor, 1950:** os adultos das espécies de *Oligonychus* são alaranjados com manchas escuras no dorso e ocorrem na face superior das folhas tecendo pequena quantidade de teia. As folhas atacadas apresentam-se bronzeadas. *A. brasiliensis* causa também prateamento na face inferior das folhas (Flechtmann, 1983).

## Maracujazeiro

*Brevipalpus phoenicis* Geijskes, 1939 (Tenuipalpidae): este ácaro é encontrado geralmente na face inferior das folhas e nos ramos (Figura 13.4). Em altas infestações podem causar clorose, secamento e queda de folhas. Em



seguida podem atacar os ramos causando progressivamente a sua morte (Flechtmann, 1983).

*Polyphagotarsonemus latus* Kanks, 1904 (Tarsonemidae): ocorrem no ponteiro da planta causando deformações (Figura 13.2), coloração vítrea nas folhas, que não se desenvolvem e podem ficar bronzeadas e cair (Flechtmann, 1983).

*Tetranychus mexicanus* McGregor, 1950 (Figura 13.6E) e *Tetranychus desertorum* Banks, 1900 (Figura 13.6F) (Tetranychidae): causam manchas brancas ou prateadas na face inferior das folhas, seguido de secamento e queda. A face superior pode apresentar-se bronzeadas (Flechtmann, 1983).

## MÉTODOS DE CONTROLE DE ÁCAROS

Muitas espécies de ácaros são consideradas pragas de grande expressão econômica em diferentes cultivos agrícolas. Deste modo, necessitam de serem controladas para que a sua população seja mantida abaixo do nível de dano econômico. A sua ocorrência nas plantas está relacionada com o uso inadequado de agrotóxicos, provocando a eliminação de predadores e competidores, a sua ressurgência, a mudança de condição de praga primária para praga secundária e a resistência a acaricidas; introdução de novas cultivares; ausência ou pouca eficiência de inimigos naturais; utilização do monocultivo; estado nutricional da planta hospedeira e fatores climáticos.

### Controle cultural

Ainda existem poucos estudos sobre o controle cultural de ácaros fitófagos, principalmente nos diversos agroecossistemas do Brasil. O controle cultural tem a finalidade de impedir a colonização da cultura pelas pragas; criar condições bióticas adversas que reduzam a sobrevivência de indivíduos ou da população da praga; modificar o cultivo, de modo a reduzir a infestação da praga e intensificar o efeito de inimigos naturais, através da manipulação do ambiente.

A época de plantio pode influenciar na infestação de ácaros fitófagos. Veiga (1985) observou que a mandioca plantada no início da estação chuvosa no Sertão de Pernambuco, Brasil apresentava uma menor infestação e redução de perdas na produtividade causadas pelo ácaro verde, *Mononychellus tanajoa* (Bondar). Quando havia um atraso no plantio, as perdas foram se intensificando, pois na época crítica do ataque da praga

(época seca), as plantas por apresentarem um menor desenvolvimento vegetativo, eram mais vulneráveis ao ataque desta praga.

O uso da grade em pomares cítricos favorece a infestação de ácaros fitófagos, pelo fato da poeira produzida provocar efeito abrasivo, aumentando a perda d'água pela cutícula dos ácaros predadores. A poeira também estimula uma maior produção de teia, dificultando o encontro da presa pelo predador (Gravena, 1992).

Estudos desenvolvidos com o ácaro verde da mandioca demonstraram que a presença de faixas alternadas de vegetação nativa em plantios de mandioca provocaram redução na densidade população desta praga, em relação à cultura mantida no limpo. No entanto, a densidade populacional de ácaros predadores fitoseídeos não foi aumentada (Gondim Jr., 1992).

Em pomares cítricos do Estado de São Paulo, a cobertura verde com mentrasto ou cambará nas entrelinhas reduz a infestação dos ácaros da ferrugem, *P. oleivora* e da leprose, *B. phoenicis*, em relação a plantas mantidas no limpo, devido ao pólen e néctar dessas plantas servirem de alimento alternativo para os fitoseídeos, *Euseius citrifolius* Denmark & Muma e *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Gravena, 1992).

A nutrição da planta hospedeira também influi na infestação de ácaros fitófagos. Observou-se uma relação inversa entre os teores de N+P+K e a infestação do ácaro verde em mandioca, e direta entre os níveis de nutrientes e a produção de matéria seca. Isto significa que as plantas de mandioca bem nutridas são mais tolerantes à infestação da praga (Farias et. al., 1979). Em tomateiro, o aumento dos teores de N e P provocaram um aumento na infestação do microácaro, *Aculops lycopersici* (Masse). A infestação também aumentou com a elevação de P, na presença de 120 Kg de N (Moreira et al., 1999). O excesso ou deficiência de nutrientes pode afetar o tomateiro, devido a uma alteração no metabolismo da planta. Os nutrientes inibem a proteossíntese, e deste modo, as plantas passam a produzir uma maior quantidade de substâncias solúveis e aminoácidos livres, favorecendo o desenvolvimento dos ácaros (Chabbousou, 1987). O aumento do teor de nitrogênio em plantas de algodoeiro causou uma redução significativa na duração do período de pré-oviposição e um aumento no período de postura e no número de ovos/fêmea do ácaro rajado, *T. urticae*. A adição do enxofre através de sulfato de amônio não alterou a fecundidade da praga (Maia & Bussoli, 1992).

A precipitação pluviométrica reduz a infestação de ácaros devido a ação mecânica das gotas de chuva, e também favorece a infestação de fungos parasitas.

## **Controle biológico**

O controle biológico é uma tática muito empregada no manejo de população de pragas. Do ponto de vista ecológico faz parte do controle natural, que consiste na regulação da população de um organismo dentro de certos limites, superior e inferior, por qualquer combinação de fatores abióticos (temperatura, precipitação pluviométrica, umidade relativa, etc) e bióticos (competição intra e interespecífica por alimento, lugares para a oviposição, refúgio, etc).

Em um agroecossistema, se o nível de equilíbrio de um organismo se situa acima do nível de dano econômico, medidas devem ser tomadas para reverter a posição relativa desses níveis. As medidas que procuram intensificar a atividade dos inimigos naturais estão enquadradas no controle biológico aplicado, que pode ser conseguido através do incremento, conservação ou introdução de inimigos naturais exóticos (Moraes, 1991).

Os inimigos naturais de ácaros fitófagos são os patógenos, predadores e parasitas, que têm como função manter as populações destes abaixo do nível de dano econômico.

**Patógenos** – vírus, fungos, bactérias, riquézias, protozoários, etc mantém relações com os ácaros, resultando em parasitismo ou forésia. Dentre os patógenos, os fungos são os mais promissores, principalmente os dos gêneros *Hirsutella*, *Neozygites* e *Beauveria*. *H. thompsonii* tem sido mencionado infectando o ácaro da ferrugem dos citros, em condições de temperatura mais elevada e umidade relativa acima de 90%. É também muito promissor para o controle do ácaro da necrose do coqueiro, *A. guerreronis*. *Neozygites* sp. infecta naturalmente o ácaro verde da mandioca no Nordeste do Brasil, principalmente durante a estação chuvosa. Em Goiana, PE, a infecção foi de 86% em mandioca mantida no limpo e de 92% em áreas com faixas alternadas de vegetação nativa (Gondim Jr., 1992)

**Predadores** – aranhas, insetos e ácaros são referidos como predadores de ácaros fitófagos. As aranhas são predadores generalistas e sua eficiência sobre ácaros é pouco conhecida. Dentre os insetos, destacam-se os coccinelídeos (*Eriopis conexa*, *Stethorus* spp), estafilinídeos (*Oligota* spp.), tisanópteros e ceccidomídeos. Entre os ácaros predadores citam-se os pertencentes às famílias Bdellidae, Cunaxidae, Anystidae, Cheyletidae, Tarsonemidae, Tydeidae, Stigmaeidae e Phytoseiidae (Moraes, 1991). Esta última agrupa mais de 1500 espécies de ácaros predadores. São ácaros de movimentos rápidos, coloração variável, apotele do palpo bifurcada, escudo dorsal inteiro com menos de 24 pares de setas. Utilizam uma grande variedade de estímulos para localizar a presa, como os cairomônios liberados pela mesma (fezes, ovos, exúvias, teias e feromônios) e estímulos emitidos pela planta hospedeira (compostos secundários). Os estímulos são detectados através de quimiorreceptores localizados nos palpos. Estudos desenvolvidos em macieira demonstraram que os voláteis emanados pelos ácaros fitófagos

são importantes fontes de informação para *Neoseiulus californicus* (McGregor) localizar *T. urticae* à curta distância. Por outro lado, somente a combinação de dois ou mais estímulos olfativos parece sinalizar a localização de *Panonychus ulmi* (Koch) pelo ácaro predador, principalmente se os cairomônios de suas fezes, ovos e exúvias estiverem incluídos em tal mistura (Collier et. al., 2000). Os fitoseídeos durante o seu desenvolvimento passam pelas fases de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. Apresentam uma baixa necessidade alimentar; rápido desenvolvimento; maior habilidade na procura do alimento; maior persistência em plantas com baixa infestação da presa e maior capacidade de sobrevivência em substratos alternativos (pólen, fungos, excreções açucaradas, exsudatos, etc).

No Brasil, as espécies *E. citrifolius* e *I. zuluagai* são muito comuns em pomares cítricos do Estado de São Paulo, predando ácaros fitófagos, e eventualmente, se alimentando de tripes, ninfas de cochonilhas e grãos de pólen (Gravena, 1992). Em Vacaria, RS, Brasil, em 1992 foi iniciado um programa de controle biológico do ácaro vermelho da macieira, *P. ulmi*, com predadores fitoseídeos. Após vários estudos foi selecionada a espécie *N. californicus*, que passou a ser criada em estufas de plástico, usando-se como presa o ácaro rajado, e liberada regularmente nos pomares de macieira, sendo os resultados muito promissores (Monteiro, 1998). O ácaro verde da mandioca foi introduzido na África no início da década de 70, dispersando-se por mais de 27 países da África Tropical e causando perdas na produtividade de até 80% (Yaninek & Herren, 1988). Efetuou-se um programa intenso de controle biológico na África, envolvendo vários países, inclusive o Brasil, que foi responsável pela introdução de várias espécies de fitoseídeos, como *Neoseiulus idaeus* (Denmark & Muma), *Typhlodromalus manihot* (Moraes) e *Typhlodromalus aripo* (DeLeon) naquele continente. Watanabe et al. (1994) observou o potencial de controle do ácaro rajado em culturas de pepino e morango, no Estado de São Paulo, com os fitoseídeos *N. idaeus* e *Phytoseiulus macropilis* (Banks).

Em alguns países da América do Norte e Europa, algumas espécies de fitoseídeos são criadas massalmente e comercializadas para o controle de ácaros fitófagos, como a espécie *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) utilizada no controle do ácaro rajado em pepino na Europa e em moranguinho na Califórnia (Moraes, 1991).

É importante que o Brasil intensifique esforços para incrementar os estudos com ácaros fitoseídeos e outros predadores de ácaros fitófagos em fruteiras, objetivando reduzir os custos com o uso de agrotóxicos e seus efeitos indesejáveis nos agroecossistemas, num sistema de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

## Controle químico

No controle químico de ácaros são utilizados inseticidas-acaricidas ou acaricidas, isoladamente, ou em programas de MIP. Na avaliação da necessidade do uso de produtos químicos deve-se levar em consideração a fenologia da cultura; as fases críticas de ataque dos ácaros; os níveis de ação e de dano econômico; os inimigos naturais; as condições meteorológicas e os aspectos econômicos. Por outro lado, a eficácia dos acaricidas depende da sua especificidade; modo de atuação; formulação; persistência residual; tecnologia de aplicação; fontes de reinfestação e intervalos entre as aplicações e condições meteorológicas.

O uso inadequado de acaricidas pode provocar ressurgência, o surto de pragas secundárias e a resistência de ácaros a esses produtos. A evolução da resistência tem-se tornado um dos maiores entraves nos programas de controle químico de ácaros, trazendo como consequências a aplicação mais frequente de produtos, o aumento na dosagem e a substituição por outro produto geralmente de maior toxicidade. Estes fatores comprometem os programas de manejo integrado de pragas, tendo em vista a maior contaminação do ambiente, a destruição dos organismos benéficos e elevação dos custos de controle de pragas (Omoto, 1995).

No Estado de São Paulo vem sendo realizados estudos sobre a detecção e monitoramento da resistência do ácaro da leprose dos citros ao dicofol, bem como a resistência cruzada entre este e outros acaricidas (Omoto et al. 2000, Alves et al., 2000). No manejo da resistência são utilizadas as seguintes estratégias: manejo por moderação (redução da pressão de seleção para preservar os indivíduos susceptíveis em uma determinada população), manejo por saturação (reduzir o valor adaptativo dos indivíduos resistentes através do uso de sinergistas ou altas doses do produto) e manejo por ataque múltiplo (uso de dois ou mais produtos em rotação ou mistura) (Georgiou, 1983) (Tabela 13.2). Na Tabela 13.3 são apresentados acaricidas registrados para o controle de ácaros em fruteiras (Compêndio de Defensivos Agrícolas, 1999).

Tabela 13.2 – Estratégias químicas para o manejo da resistência de pragas a agrotóxicos (adaptado de Georgiou, 1983).

---

### Manejo por Moderação

- Uso de doses reduzidas do defensivo químico (quando apropriado)
- Uso menos frequente de produtos químicos
- Uso de produtos químicos de baixa persistência
- Controle em reboleiras (quando viável)

Manutenção de áreas não tratadas para refúgio de indivíduos susceptíveis da praga (quando viável)  
Aplicação do produto nos estágios mais sensíveis da praga  
Recomendações de níveis de controle mais elevados (quando apropriado)

#### Manejo por Saturação

Uso de dosagens elevadas para que a resistência seja “funcionalmente” recessiva  
Uso de compostos sinérgicos para bloquear certos processos metabólicos

#### Manejo por Ataque Múltiplo

Rotação de produtos químicos  
Mistura de produtos químicos

---

Tabela 13.2 – Acaricidas e inseticidas-acaricidas registrados para o controle de ácaros em fruteiras tropicais (Compêndio dos Defensivos Agrícolas, 1999).

Nome Técnico	Nome Comercial	Formulação/ Concentração (g/L ou g/Kg)	Cultura – Ácaro
Flufenoxuron	Cascade	CE/100	Citros – <i>B. phoenici</i>
Óxido de fenibutatin	Torque	SC/500	Citros – <i>P. oleivora</i> , <i>B. phoenici</i> , <i>P. citri</i>
Dicofol	Dicofol Fersol	CE/185	Citros – <i>P. oleivora</i> , <i>P. latus</i> , <i>B. phoenicis</i> , <i>P. citri</i> ; <i>A. sheldoni</i>
Fenpropathrin	Danimen	CE/300	Citros – <i>P. oleivora</i> .
Fenpropathrin	Meothrin	CE/300	Citros – <i>P. oleivora</i> , <i>P. latus</i> ; <i>B. phoenicis</i>
Diafentiuron	Polo	PM/500	Citros – <i>P. latus</i>
Abamectin	Vertimec	CE/18	Citros – <i>P. oleivora</i> , <i>P. latus</i>
Cyhexatin	Hokko Cyhexatin	PM/500	Citros – <i>B. phoenicis</i> , <i>P. oleivora</i> , <i>P. citri</i>
Bifenthrin	Talstar	CE/100	Citros – <i>B. phoenicis</i>
Bromopropylate	Neoron	CE/500	Citros – <i>P. oleivora</i>
Carbosultan	Marshal	SC/200	Citros – <i>P. oleivora</i> , <i>P. latus</i> .
Lufenuron	Match	CE/50	Citros – <i>P. oleivora</i>
Enxofre	Enxofre	PM/800	Citros – <i>P. latus</i> , <i>P. oleivora</i> , <i>B. phoenicis</i> , <i>A. sheldoni</i>
Fenpyroximate	Ortus	SC/50	Citros – <i>B. phoenicis</i> ; <i>P. oleivora</i> ; <i>P. latus</i> Mamoeiro – <i>P. latus</i> ; <i>T. urticae</i>
Hexythiazox	Savey	PM/500	Citros – <i>B. phoenicis</i>
Tetradifon + Dicofol	Acardifon	CE/60+160	Citros – <i>P. oleivora</i> , <i>B. phoenicis</i>
Vamidotion	Kilval	CE/300	Abacaxi – <i>D. floridanus</i> . Citros – <i>P. oleivora</i> .
Propargite	Propargite Fersol	CE/720	Citros – <i>P. oleivora</i> , <i>B. phoenicis</i>
Propargite	Omite	CE/720	Citros – <i>P. oleivora</i> , <i>B. phoenicis</i>
Pyridaben	Sanmite	CE/200	Citros – <i>P. oleivora</i> , <i>B. phoenicis</i>
Triazophos	Hosthathion	CE/400	Citros – <i>P. oleivora</i> , <i>B. phoenicis</i> , <i>P. latus</i> , <i>P. citri</i>

Somente para a cultura dos citros em São Paulo, foram estimados gastos de 90 milhões de dólares com acaricidas para o controle dos ácaros da leprose e da ferrugem, o que representa cerca de 20% do custo de produção (Salvo Filho, 1997). Deste modo, a implantação do MIP-citros neste Estado veio trazer uma nova filosofia de controle das pragas-chaves, principalmente com a utilização de produtos químicos seletivos e técnicas de manipulação ambiental, visando preservar os inimigos naturais. Na Figura 13.26 observa-

se uma representação esquemática dos requisitos e princípios gerais do MIP-citros (Gravena, 1995). Informações detalhadas sobre o MIP dos citros são apresentadas no Manual do Pragueiro (Gravena *et al.*, 1995).

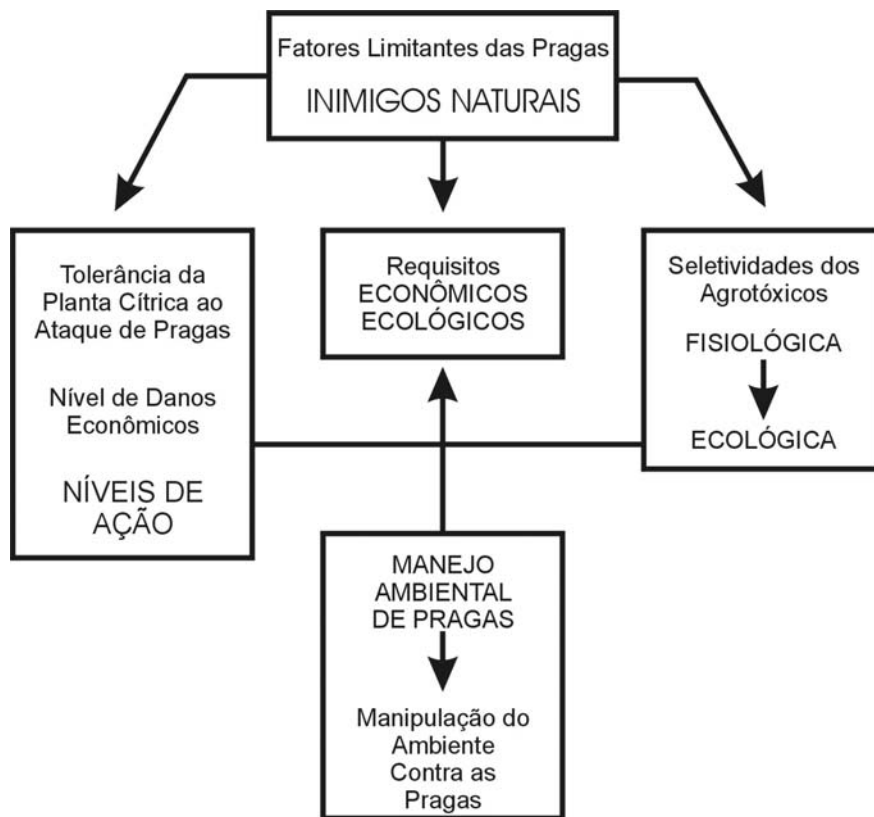


Figura 13.26 – Representação esquemática dos requisitos e princípios gerais do MIP-citros (Gravena, 1995).



Na cultura dos citros são recomendadas algumas táticas gerais de manejo ambiental, tais como: evitar o uso da grade; manter cobertura verde nas entrelinhas; usar herbicida ou capina nas linhas; manejo do mato com roçadeira sobre o solo descompactado; copa densa; adubação química equilibrada; evitar excesso de nitrogênio; adubação orgânica em cobertura e uso de quebra ventos.

Estas táticas e outras podem ser testadas em várias fruteiras, como acerola, mamoeiro, coqueiro, mangueira, videira, goiabeira, etc. As práticas de cultivo orgânico já iniciadas no Nordeste do Brasil também são muito úteis na manutenção do equilíbrio ecológico entre as pragas e seus inimigos naturais, devendo ser muito pesquisadas.

A seletividade de agrotóxicos também constitui um princípio de grande relevância para o MIP, cuja finalidade é preservar os inimigos naturais contra a ação danosa desses produtos. Existem dois tipos de seletividade: a fisiológica, quando o agrotóxico apresenta uma maior toxicidade para a praga, em relação aos inimigos naturais. Na seletividade ecológica, embora o agrotóxico não seja seletivo, pode tornar-se seletivo em função da maneira como é aplicado, ou seja, sem afetar de modo drástico os inimigos naturais. Como exemplo, citam-se o uso de inseticidas sistêmicos (pulverização, granulados no solo, esguicho, tratamento de sementes, imersão de mudas); aplicação em ruas alternadas; aplicação parcial na copa; uso de sub-dosagens, etc.

Na Tabela 13.3 constam resultados sobre a seletividade de agrotóxicos ao ácaro predador fitoseídeo, *I. zuluagai*, em citros (Reis *et al.*, 1998).

Tabela 13.3 – Toxicidade de agrotóxicos a fêmeas adultas de *Iphiseiodes zuluagai* em teste de laboratório a 25±2°C, 70±10 UR e 14 horas de fotofase (resíduo de 2,5±0,05 mg/cm<sup>2</sup> em superfície de vidro) (Reis *et al.*, 1998).

Nome Técnico	Concentração i.a. <sup>1</sup> (%)	M <sup>2</sup> (%)	Sobreviventes 100% - M	E <sub>r</sub> <sup>3</sup>	E <sup>4</sup> (%)	Classe <sup>5</sup>
Abamectin	0,0054	28,00	72,00	0,65	53,20	2
Acrinathrin	0,0005	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Amitraz	0,04	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Azinphos-ethyl	0,06	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Azocyclotin	0,025	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Benomyl	0,05	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Bifenthrin	0,002	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Bromopropylate	0,02	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Captan	0,12	27,78	72,22	1,07	27,72	1
Carbaryl	0,108	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Carbosulfan	0,0125	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Chlorothalonil (500 g)	0,15	20,69	79,31	0,58	54,00	2
Chlorothalonil (750 g)	0,15	20,45	79,55	0,36	65,24	2
Chlorphenapyr	0,015	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Clofentezine	0,0125	0,00	100,00	0,88	12,00	1
Cyhexatin	0,025	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Dicofol	0,0384	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Enxofre	0,4	78,33	21,67	0,22	95,23	3
Fenbutatin Oxide	0,04	17,39	82,61	0,85	29,78	1
Fenpropathrin	0,015	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Fenpyroximate	0,005	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Fosetyl	0,2	13,33	86,67	1,16	-0,54	1
Hexythiazox	0,0015	0,00	100,00	0,88	12,00	1
Hidróxido de Cobre	0,077	0,00	100,00	1,06	-6,00	1
Mancozeb	0,12	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Naled	0,86	13,33	86,67	1,29	-11,80	1
Óleo Vegetal	1,86	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Óleo Mineral	1,512	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Oxicloreto de Cobre (350 g)	0,096	12,50	87,50	0,94	17,75	1
Oxicloreto de Cobre (500 g)	0,125	4,17	95,83	0,93	10,88	1
Óxido Cuproso	0,084	4,00	96,00	1,10	5,60	1
Parathion-methyl	0,06	89,66	10,34	0,80	91,73	3
Phosmet	0,1	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Propargite	0,072	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Quinometionate	0,035	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Sulfato de Cobre	0,15	4,17	95,83	0,84	54,00	2
Tetradifon	0,024	0,00	100,00	0,81	19,00	1
Thiophanate-methyl (500 g)	0,05	20,69	79,31	0,14	88,90	3
Thiophanate-methyl (500 g)	0,05	10,34	89,66	0,31	72,21	2
Triazophos	0,06	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Vamidothion	0,024	100,00	0,00	0,00	100,00	4
Ziram	0,15	20,00	80,00	0,86	31,20	2

1. Concentração de ingrediente ativo na calda de pulverização (p/v).

2. Mortalidade corrigida (Abbott, 1925).

3. Efeito na reprodução;  $E_r = R_{\text{Tratamento}} / R_{\text{estemunha}}$ .

4. Efeito total,  $E\% = 100\% - (100\% - M) \times E_r$ .

5. Classes de toxicidade segundo IOBC/WPRS (Baker *et al.*, 1992)

## BIBLIOGRAFIA

- Alves, E.B.; Omoto, C.; Franco, C.R. Resistência cruzada entre o dicofol e outros acaricidas em *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 29: 765-771, 2000.
- Baker, E.W.; Kono, T.; Amrine Jr., J.W. Eriophyoid mites of the United States. Michigan: Indira Publishing House, 1996. 394p.
- Baker, E.W.; Pritchard, A.E. False spider mites of the genus *Dolichotetranychus* (Acarina: Tenuipalpidae). Hilgardia 24: 359-381, 1956.
- Beer, R.E. A revision of the tarsonemidae of the western hemisphere (Order Acarina). Science Bulletin 36: 1091-1387, 1954.
- Braga Sobrinho, R.; Cardoso, J.E.; Freire, F.C.O. Pragas de fruteiras tropicais de importância agroindustrial. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAIT, 1998. 209p.
- Codevasf. Frutas brasileiras: exportação. Brasília: Codevasf, 1989. 352p.
- Collier, K.F.S.; Eiras, A.E.; Albuquerque, G.S.; Blackmer, J.L.; Araújo, M.C.; Monteiro, L.B. Localização de presas à curta distância por *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae): o papel dos aleloquímicos dos ácaros fitófagos *Panonychus ulmi* (Kock) e *Tetranychus urticae* Kock (Acari: Tetranychidae) e da planta hospedeira, *Malus domestica* (Borkham). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 29: 705-713, 2000.
- Compêndio de Defensivos Agrícolas. São Paulo: Andrei, 1999. 672 p.
- Denmark, H.A. *Brevipalpus* mites found on Florida *citrus*. Gainesville: Florida Department of Agriculture - Division of Plant Industry, 1968. 2p. (Entomology Circular, 69).
- Doreste, E. Acarologia. San José: IICA, 1989. 352p.
- Farias, A.R.N.; Zem, A.C.; Gomes, J.C.; Macedo, M.C.M.; Flechtmann, C.H.W. Adubação mineral e população de *Mononychellus tanajoa* em mandioca. Pesquisa Agropecuária Brasileira 14: 311-313, 1979.
- Flechtmann, C.H.W. Elementos de acarologia. São Paulo: Nobel, 1975. 344p.
- Flechtmann, C.H.W. Ácaros de importância agrícola. São Paulo: Nobel, 1983. 189p.
- Flechtmann, C.H.W. *Amrineus cocofolius* n.g., n. sp. (Acari: Eriophyidae) in Brazil. International Journal of Acarology 20: 57-59, 1994.

- Flechtmann, C.H.W. *Tegolophus brunneus* n. sp., a new citrus rust mite from Brazil (Acari: Eriophyidae). *International Journal of Acarology* 25: 265-267, 1999.
- Flechtmann, C.H.W.; Moraes, G.J. Biodiversidade de ácaros no Estado de São Paulo. In: Brandão, R.F.; Cancellato, E.M. (Eds.) Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX, 5: invertebrados terrestres. São Paulo: FAPESP, 1999. cap. 5, p.58-63.
- Georgiou, G.P. Management of resistance in arthropods. In: Georgiou, G.P.; Saito, T. (Eds.) Pest resistance to pesticides. New York: Plenum, 1983. p.769-762.
- Gondim Júnior, M.G.C. Efeito da vegetação nativa no controle biológico de *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae) na Zona da Mata de Pernambuco e biologia de *Neoseiulus anonymus* (Chant & Baker) (Acari: Phytoseiidae). Recife, 1992, 143 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Fitossanidade). Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- Gonzaga Neto, L.; Soares, J.M. Goiaba para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA, 1994. 49p.
- Gravena, S. MIP Citros: avanços e inovações na citricultura brasileira. *Laranja* 13: 635-691, 1992.
- Gravena, S. Manejo integrado de pragas: princípios ecológicos para fruticultura de clima temperado. *Revista Brasileira de Fruticultura* 17: 19-23, 1995.
- Gravena, S. Manejo ecológico de pragas. *Cultivar* 11: 42-43, 2000.
- Gravena, S.; Silva, J.L.; Paiva, P.E.B.; Benvenega, S.R.; Gravena, R. Manual do pragueiro. In: Gravena – manejo ecológico de pragas agrícolas. Jaboticabal: FCAVJ-UNESP, 1995. 40p.
- Gurovich, L.A. Aspectos generales de pesquisa en manejo de agua y suelo en relacion a su adaptación a problemas actuales y potenciales de la producción en areas irrigadas del Nordeste. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA, 1978. 13p.
- Hong, X.; Zhang, Z-Q. The eriophyoid mites of China: An illustrated catalog and identification keys (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea). Florida: Virendra K. Gupta, 1996. 318p.
- Jeppson, L.R.; Keifer, H.H.; Baker, E.W. Mites injurious to economic plants. Berkeley: University of California Press, 1975. 614p.
- Keifer, H.H. Eriophyid Studies B-9. Special Publications of the California Bureau of Entomology. 1963. 20p.

- Keifer, H.H. Eriophyid Studies B-14. Special Publications of the California Bureau of Entomology. 1965a. 20p.
- Keifer, H.H. Eriophyid Studies B-16. Special Publications of the California Bureau of Entomology. 1965b. 20p.
- Keifer, H.H. Eriophyid Studies C-1. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Special publication, 1969a. 20p.
- Keifer, H.H. Eriophyid Studies C-2. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Special publication, 1969b. 20p.
- Keifer, H.H. Eriophyid Studies C-4. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Special publication, 1970. 20p.
- Keifer, H.H. Eriophyid Studies C-6. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Special publication, 1972. 20p.
- Maia, I.G.; Bussoli, A.C. Efeito de doses e fontes de nitrogênio sobre a fecundidade de *Tetranychus* (*T.*) *urticae* (Kock, 1836) em algodoeiro cv. IAC 20 (*Gossypium hirsutum* L.). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 21: 347-356, 1992.
- Monteiro, L.B. Ácaros predadores contra o ácaro vermelho da macieira. Sociedade Nacional de Agricultura 101: 1-3, 1998.
- Moraes, G.J. Controle biológico de ácaros fitófagos. Informe Agropecuário 15: 53-55, 1991.
- Moraes, G.J.; Mcmurtry, J.A.; Denmark, H.A. A catalog of mite family Phytoseiidae: references to taxonomy, synonymy, distribution and habitat. Brasília: EMBRAPA, 1986. 353p.
- Navia, D.; Flechtmann, C.H.W. Eriophyid mites (Acari: Prostigmata) from mango, *Mangifera indica* L., in Brazil. International Journal of Acarology 26: 73-80, 2000.
- Omoto, C. Manejo da resistência de ácaros e insetos aos produtos químicos na citricultura. Laranja 16: 155-186, 1995.
- Omoto, C.; Alves, E.B.; Ribeiro, P.C. Detecção e monitoramento da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) ao dicofol. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 29: 757-764, 2000.
- Pritchard, A.E.; Baker, E.W. A revision of the spider mite family Tetranychidae. San Francisco: The Pacific Coast Entomological Society, 1955. 472p.

- Reis, P.R.; Chiavegato, L.G.; Moraes, G.J.; Alves, E.B.; Souza, E.O. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 27: 265-274, 1998.
- Rosseto, C.J. Ácaros eriofídeos pragas de fruteiras e outras plantas no Brasil. Ciência e Cultura 24: 817-829, 1972.
- Salvo Filho, A. Notas sobre o tratamento fitossanitário em Citros. Laranja 18: 155-163, 1997.
- Veiga, A.F.S.L. Aspectos bioecológicos e alternativas de controle do ácaro verde da mandioca *Mononychellus tanajoa* (Bondar, 1938) (Acarina: Tetranychidae) no Estado de Pernambuco. Piracicaba, 1985, 137 p. Tese (Doutorado em Ciências – Entomologia). Universidade de São Paulo.
- Watanabe, M.A.; Moraes, G.J.; Gastaldo Jr., I.; Nicolella., G. Controle biológico do ácaro rajado com ácaros predadores fitoseídeos (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) em culturas de pepino e morango. Scientia Agrícola 51: 75-81, 1974.
- Yaninek, J.S.; Herren, H.R. Introduction and spread of the cassava green mite *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae), an exotic pest in Africa and search for appropriate control methods: a review. Bulletin Entomological Research 78: 1-13, 1988.
- Yaninek, J.S.; Moraes, G.J. A synopsis of classical biological control of mites in agriculture. In: Dusbabek, F.; Bukva, V. (Eds.) Modern acarology. Prague: Academia/The Hague: SPB Academic Publ., 1991. v.1, p.133-149.

# ATUALIZAÇÃO NA PRODUÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS DA CANA-DE-AÇÚCAR

EDMILSON JACINTO MARQUES  
RICARDO OTAVIANO RIBEIRO DE LIMA  
IRENE MARIA RAMOS MARQUES

## INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande importância econômica e social para o Brasil, ocupando atualmente mais de 5 milhões de hectares plantados, dos quais, aproximadamente 1,2 milhões estão na Região Nordeste. Além da produção de açúcar é matéria prima para produção de álcool, combustível renovável e estratégico para economia de divisas nacionais. Como sub-produtos da cana-de-açúcar, destacam-se ainda o bagaço para produção de papel, ração animal e mais recentemente para co-geração de energia elétrica.

Entretanto, a produtividade da cana-de-açúcar tem sido reduzida por algumas pragas, destacando-se as brocas comuns *Diatraea saccharalis* F., *Diatraea flavipennella* Box, a broca gigante *Castnia licus* Drury, a cigarrinha da folha *Mahanarva posticata* Stal, a cigarrinha da raiz *Mahanarva fimbriolata* Stal e cupins dos gêneros *Heterotermes*, *Syntermes*, *Amitermes*, *Nasutitermes*, dentre outros.

Objetivando minimizar os prejuízos ocasionados pelas principais pragas, bem como buscando uma forma de controle mais duradoura e menos agressiva ao meio ambiente, os técnicos e Orgãos do governo envolvidos com a pesquisa canavieira, estudaram os aspectos biológicos e comportamentais das brocas e cigarrinhas, inclusive buscando nos locais de origem dessas pragas, inimigos naturais efetivos que possibilitassem sua multiplicação e utilização no controle das mesmas.

Desta forma, desde 1969 o controle biológico da cigarrinha da folha *M. posticata*, vem sendo realizado em canaviais de Pernambuco pelo fungo *Metarhizium anisopliae* (Metschn) e posteriormente em 1974, teve início a utilização da vespa *Cotesia flavipes*, parasitóide de lagartas da broca comum *D. saccharalis*.

## CONTROLE BIOLÓGICO DE *MAHANARVA POSTICATA* (HEM., CERCOPIDAE)

A cigarrinha da folha constitui um dos principais problemas entomológicos da cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. Os adultos, ao sugarem a planta, inoculam toxinas que causam a “queima” das folhas, reduzindo a capacidade fotossintética, com perdas de peso e açúcar.

Devido à facilidade de produção em laboratório, patogenicidade e adaptação nos canaviais, o fungo *Metarhizium anisopliae* (Deuteromyceto, Moniliaceae) revelou-se o inimigo natural mais eficiente contra a cigarrinha da folha. Esse entomopatógeno é produzido em laboratório utilizando-se arroz cozido em sacos de polipropileno. O êxito do controle depende, dentre outros aspectos, do isolado, quantidade de conídios e das condições ambientais por ocasião da aplicação. Do material produzido pelo ex-PLANALSUCAR ou por laboratórios que utilizem metodologia afim, recomendam-se  $5 \times 10^{12}$  conídios por ha em 100 a 200 litros de água por via terrestre, ou 25 l de água por via aérea. O fungo proporciona uma mortalidade média frequente, entre 25 a 43,5 %, respectivamente para ninfas e adultos, enquanto perdurar a infestação (Marques, 1992). Durante o período de 1970 até o presente, foram produzidos pelo ex-IAA/PLANALSUCAR, IPA e demais laboratórios setoriais instalados em Pernambuco, aproximadamente 40.000 kg de conídios de *M. anisopliae*, que foram aplicados em 500.000 hectares infestados por *M. posticata*. A análise dos valores de infestação da cigarrinha no período de 1977 a 1987, revelou uma redução de 72% , como também uma queda drástica na utilização de inseticidas para o controle da praga, ou seja, para menos de 10% da área tratada com inseticida em 1971, praticamente o início do programa de controle biológico com o fungo *M. anisopliae* (Vilas Boas *et al.*, 1988; Marques, 1992).

A cultura do fungo *M. anisopliae* deve ser iniciada a partir de isolados puros devidamente caracterizados. Estes podem ser obtidos a partir de isolamentos de campo ou de outros laboratórios.

Para a produção em escala semi-industrial, atualmente o melhor meio de cultura continua sendo o arroz cozido, podendo ser acondicionado em garrafas, sacos plástico de polipropileno e bandejas, sendo nas duas primeiras alternativas, autoclavados a 120°C por 30 minutos (Alves & Pereira, 1989; Alves & Pereira, 1998; Aquino, 1977; Guagliumi *et al.*, 1974; Moino Junior, 2000).

O fluxograma das operações de produção do fungo, envolvendo todas as fases do processo é apresentado na Figura 14.1.



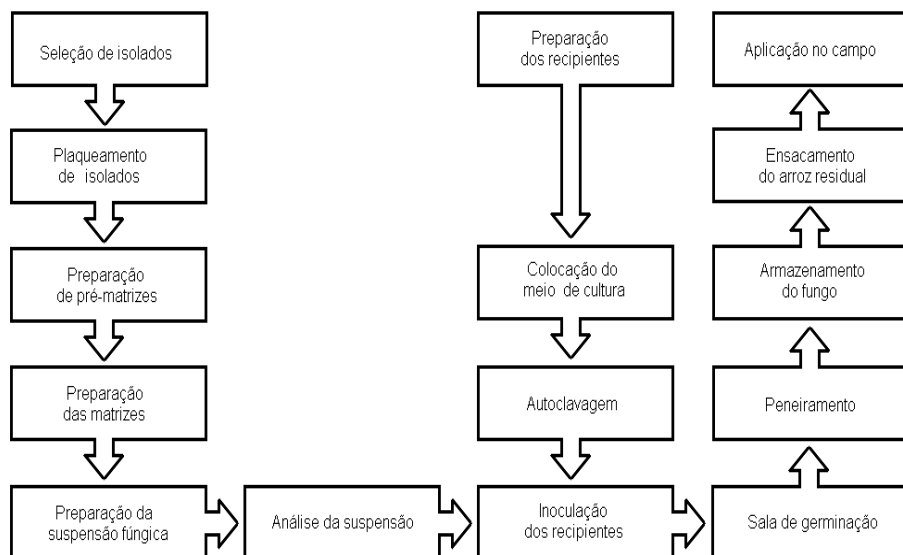


Figura 14.1 – Fluxograma de produção de *Metarhizium anisopliae* com as diversas fases envolvidas [adaptado de Marques *et al.* (1981)].

O laboratório deve ser construído preferencialmente em local arborizado e afastado de estradas muito transitadas, sendo que grande parte do êxito da produção dependerá de um bom dimensionamento, equipamento e pessoal.

As funções das principais áreas do laboratório são apresentadas a seguir:

a) Sala de Preparação. Contém mesa, balcão e pia. Após a colocação do meio de cultura (arroz mais água), fecham-se as garrafas ou sacolas de polipropileno com papel alumínio e cordão;

b) Sala de Cozimento e Esterilização. Onde as garrafas ou sacolas vão ser autoclavadas a uma temperatura de 120°C durante 30 minutos. Deve conter autoclaves e a ventilação é feita através de ar condicionado. Esta sala contém ainda um exaustor para retirar os vapores do autoclave;

c) Sala de Inoculação. Através de uma janela tipo guilhotina, as unidades passam da sala de esterilização para a de inoculação. Nesta, deve haver apenas um balcão azulejado aberto. As unidades serão inoculadas, passando em seguida para a sala de germinação, também através de janela tipo guilhotina. A assepsia deve ser absoluta e a ventilação será feita através de exaustor. A entrada para a sala é efetuada através de passagem dupla, formando uma antecâmara;

d) Laboratório. Contém um balcão aberto, estufa, geladeira e microscópio. Utilizado para guardar os isolados, isolamentos de fungo, preparo de pré-matrizes, matrizes e suspensão fúngica, armazenamento de pré-matrizes e matrizes, bem como para controlar a pureza do material através de exame microscópico. A assepsia nessa sala também deve ser absoluta. A ventilação deve ser feita através de ar condicionado;

e) Sala de Germinação. Abriga as garrafas, sacolas ou bandejas acondicionadas em estantes, durante o período de mais ou menos 15 dias, a uma temperatura em torno de 26°C. A ventilação é efetuada também através de ar condicionado. Deverá haver o controle diário da temperatura, como também a eliminação de unidades de produção contaminadas;

f) Sala de Descarte. O fungo vai para essa sala quando já está bem esporulado, sendo então separado do arroz, através de uma peneira vibratória, na câmara de descarte. Após a separação, os conídios do fungo são ensacados e armazenados em freezer com 2 a 5°C. Esta sala deve conter a câmara de descarte, o freezer e uma máquina de fechar sacos plásticos e ventilação é natural.

As paredes internas do laboratório, inclusive os balcões, devem ser revestidas de azulejo. O piso deve ser de material que se preste a lavagens constantes. Todas as portas internas devem ser de vidro em metade de sua área. É importante um abastecimento abundante e constante de água no laboratório. Recomenda-se a instalação de uma caixa d'água com capacidade para 3.000 litros. As dimensões para a construção de um laboratório para produção de fungo estão apresentadas na Figura 14.2.

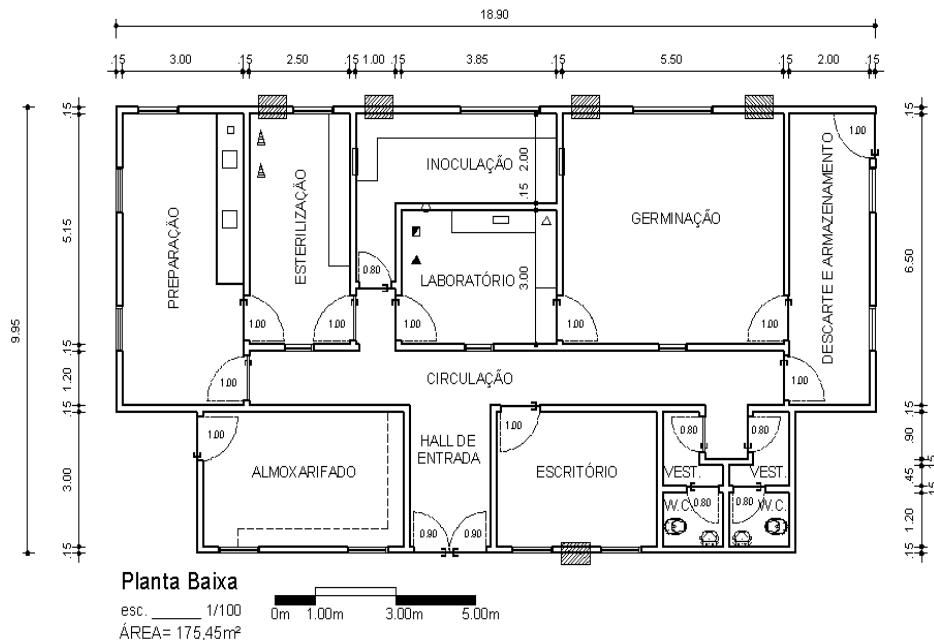


Figura 14.2 – Planta baixa de laboratório para produção de *Metarhizium anisopliae*.

### Funcionamento do laboratório

Para o bom andamento dos trabalhos e conseqüente obtenção dos conídios do fungo em quantidade e qualidade, faz-se necessário que as tarefas sejam divididas em uma seqüência de operações.

#### Primeira etapa

a) Seleção do isolado. Para que o controle das praga tenha êxito é necessário que o isolado selecionado seja eficiente. Assim sendo, são efetuados bioensaios com diferentes isolados, objetivando identificar aquele que proporcione elevada mortalidade do inseto, preferencialmente no menor tempo possível;

b) Pré-matrizes. Com o material desses tubos efetua-se a multiplicação em pré-matrizes, que são tubos contendo aquele isolado inicial com 100% de pureza;

c) Matrizes. Na preparação de matrizes, utilizam-se garrafas de Roux de 800 ml, previamente esterilizadas, onde são colocados 100g de arroz e 80 ml de água destilada, fechando-as com papel alumínio e fita adesiva. Após a

preparação, são levadas ao autoclave para esterilização e cozimento do arroz a temperatura de 120°C durante 30 minutos, passando em seguida por um período de resfriamento;

Para inoculação nas matrizes, são utilizados conídios provenientes das pré-matrizes, transferindo-os com uma alça de platina para outros tubos de ensaio contendo água estéril e inoculando-os através de seringa hipodérmica. Posteriormente, as garrafas são fechadas com papel de filtro e incubadas durante um período de mais ou menos 15 dias à temperatura ao redor de 26°C. Deve ser efetuado um controle rigoroso das matrizes, a fim de se diminuir a possibilidade de contaminação durante a produção.

d) Preparo da suspensão. Utiliza-se uma matriz para dois litros de água esterilizada, contendo Tween 80 a 0,01 % a fim de homogeneizar a suspensão. Após essa preparação, retira-se uma amostra, levando-a ao microscópio para verificação da pureza do material.

### **Segunda etapa**

a) Preparação dos recipientes e meio de cultura. Os recipientes utilizados para produção em grande escala, são garrafas de vidro de 500 ml, sacos plástico de polipropileno ou bandejas plásticas. Colocam-se 100 gramas de arroz e 60 ml de água destilada por garrafa ou 300 gramas de arroz e 180 ml de água por saco de polipropileno medindo 40 por 26,5 cm de comprimento, fechando-os em seguida com papel alumínio e cordão.

b) Autoclavagem. As unidades contendo o substrato são levadas ao autoclave para o cozimento-esterilização à temperatura de 120°C, durante 25 a 30 minutos. Em seguida, passam por resfriamento, e são conduzidas para a câmara de inoculação, a fim de receberem a suspensão fúngica e passarem para a sala de germinação.

A inoculação da suspensão nas garrafas ou sacolas é efetuada na câmara asséptica, utilizando-se uma seringa veterinária, colocando-se 10 ml por unidade de 100g. Após a inoculação, o orifício é fechado com papel de filtro esterilizado e cola plástica. Em seguida, são levadas para a sala de germinação, onde ficam incubadas durante 15 dias à temperatura de mais ou menos 26°C.

Para a produção do fungo em bandejas, inicialmente o fungo é inoculado em sacos de polipropileno e após três dias, ocasião em que o crescimento vegetativo estará bastante acentuado, o meio de cultura é transferido para bandejas plásticas que serão mantidas em sala asséptica com condições controladas, visando favorecer a esporulação do fungo.

c) Revisão e controle na sala de germinação. Após serem conduzidas para a sala de germinação, as unidades recebem um destorroamento do arroz,

para que a suspensão fúngica distribua-se uniformemente no substrato. A temperatura nessa sala deve ficar em torno de 26°C.

Nesta etapa, a observação das unidades de produção deve ser constante, para verificação do desenvolvimento do fungo, o que ocorre num período de aproximadamente 15 dias, ocasião em que as unidades são levadas para a sala de peneiramento ou descarte.

### **Terceira etapa**

a) Peneiramento. Antes do peneiramento deve haver a secagem do material biológico (arroz mais fungo) objetivando baixar a umidade para mais ou menos 15% por ocasião do armazenamento. Em seguida os conídios do fungo são separados do arroz através de peneiramento, utilizando-se uma peneira vibratória. Após a separação, os conídios são colocados em sacos de polietileno com peso constante de 500 gramas por saco, vedados hermeticamente em máquina de fechar sacos plásticos. O arroz que foi separado dos conídios também é ensacado, com peso constante de dois quilos, a fim de ser lançado posteriormente nos canaviais.

b) Armazenamento e aplicação. Tanto os sacos contendo os conídios do fungo como os que contêm o arroz residual são armazenados em câmaras frigoríficas à temperatura de 3 a 5°C, até serem liberados para aplicação no campo.

É imprescindível manter as melhores condições de assepsia no laboratório, a fim de se evitar a proliferação de outros microrganismos, inconvenientes à cultura do fungo. Também na lavagem dos recipientes, equipamentos e instrumental, a limpeza deve ser rigorosa, para ser evitado perdas na produção.

### **Dimensionamento e pessoal**

Levando em consideração a área física, o laboratório estará em condições de proporcionar a inoculação em média de 500 unidades/dia com 1 (um) laboratorista na primeira etapa; 2 (dois) auxiliares de laboratório na segunda etapa, e 1 (um) na terceira; 2 (dois) auxiliares na limpeza e 1 (um) técnico de nível superior na supervisão, que também auxiliará na primeira etapa, como também poderá ter outras obrigações na Empresa.

## **Eficiência nas operações**

O êxito do laboratório depende principalmente dos trabalhos efetuados na primeira etapa, pois envolve desde o fornecimento do material isolado, de matrizes bem esporuladas e livres de contaminação, até a inoculação da suspensão fúngica nos recipientes.

De um modo geral, a eficiência final no laboratório deverá ficar ao redor de 90%, sendo os 10% restantes atribuídos àquelas unidades que apresentaram desenvolvimento anormal e contaminação, sendo esta última aceitável até 5%. A produção de conídios em função das estimativas anteriores será de ordem de 1.000kg/ano, considerando-se um rendimento mínimo esperado de 10 gramas de conídios por unidade de 100gramas de arroz.

## **Controle de qualidade na produção de fungos**

O controle de qualidade do fungo, vai desde a seleção de um isolado patogênico para a praga envolvida até a produção final, quando o patógeno estará pronto para aplicação no campo. Um isolado adequado, além de patogênico, também deve apresentar uma boa produtividade de conídios para que o custo de produção seja mais acessível. Após a obtenção do fungo, devem ser efetuados testes de concentração de conídios no produto final, viabilidade e patogenicidade.

O número de repicagens contínuas do fungo produzido em meio artificial, possivelmente não deve ultrapassar a seis, para que o mesmo não perca suas características morfo-fisiológicas desejáveis, principalmente virulência (Alves & Pereira, 1998). ).

## **CONTROLE BIOLÓGICO DE *DIATRAEA* SPP. (LEP., CRAMBIDAE)**

As brocas *Diatraea* spp. são pragas de importância econômica em todas as regiões canavieiras do Brasil, a exemplo das demais áreas canavieiras do mundo.

Em Pernambuco e demais regiões do Brasil, o controle biológico dessa praga vem sendo efetuado desde 1974, mediante utilização da vespa *Cotesia flavipes* (Hym., Braconidae), época em que este parasitóide foi introduzido de Trinidad (Mendonça Filho *et al.*, 1977). Em Pernambuco, sua criação massal é efetuada sobre lagartas de *Diatraea saccharalis*, nos laboratórios da Estação Experimental de Cana de Açúcar de Carpina –

EECAC (UFRPE), e das Usinas Santa Teresa e Salgado. A liberação de 5 a 6.000 vespas por hectare é recomendada para os canaviais com densidade populacional de pelo menos 10 lagartas de *Diatraea* / hora / homem. Em regiões favoráveis a aclimação de *Cotesia flavipes*, verificou-se um parasitismo médio de 30% de lagartas (Lima & Marques, 1985). Do início do programa até o presente, foram liberadas cerca de 400 milhões de vespas em 80.000 hectares.

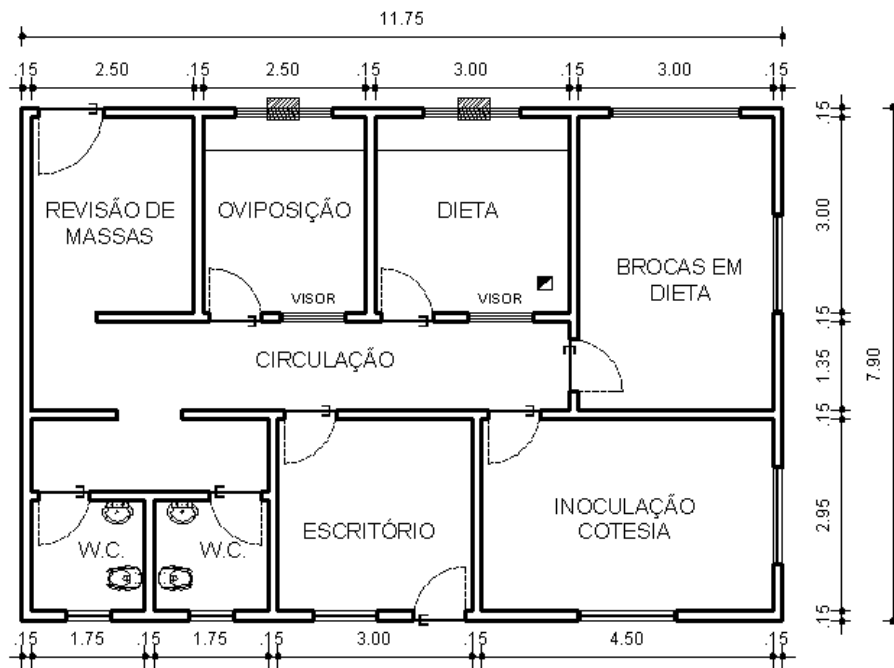
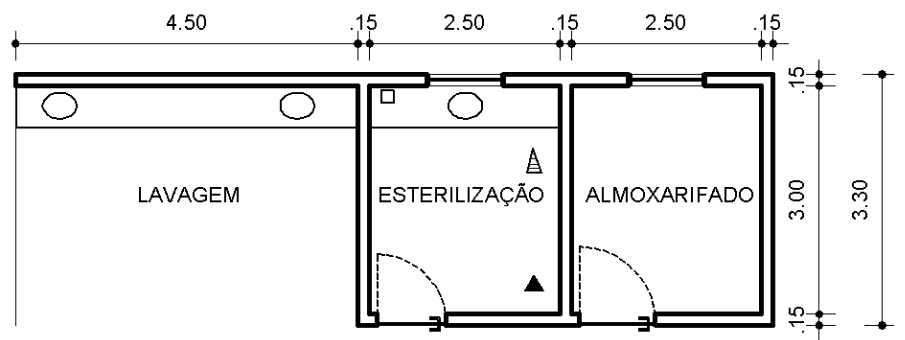
Estudos conduzidos pela EECAC/UFRPE na safra 1996/97 revelaram aumentos significativos nos níveis de danos ocasionados por *Diatraea* spp, em quatro regiões canavieiras do Estado de Pernambuco, em relação a safra 86/87. Esse crescimento, pode ser explicado pela substituição de variedades, no período considerado, como também pelas reduções nas liberações do parasitóide *C. flavipes* nos canaviais infestados pela praga.

### **Metodologia de multiplicação massal de *Cotesia flavipes* em lagartas de *Diatraea saccharalis***

Neste capítulo, pretende-se proporcionar uma atualização sobre o processo de multiplicação do parasitóide *C. flavipes*, principalmente nas etapas que foram modificadas em relação à metodologia original, constante da publicação de Macedo *et al.* (1983) e Araújo (1987).

Também serão abordadas, aquelas fases que mais frequentemente apresentam problemas, incluindo-se recomendações de como solucioná-los.

As informações foram pautadas considerando-se um laboratório capacitado à produção mensal de aproximadamente 3,5 milhões de vespas, conforme instalações apresentadas na figura 14.3.



**Planta Baixa**

esc. \_\_\_\_\_ 1/100

ÁREA= 125,66m<sup>2</sup>

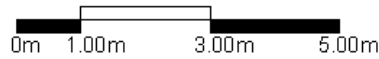


Figura 14.3 – Planta baixa do laboratório para multiplicação de *Cotesia flavipes*.



As etapas de produção do hospedeiro (*D. saccharalis*) e do parasitóide (*C. flavipes*), bem como a maneira de como elas se integram no método, como um todo, também serão enfocadas (Figura 14.4).

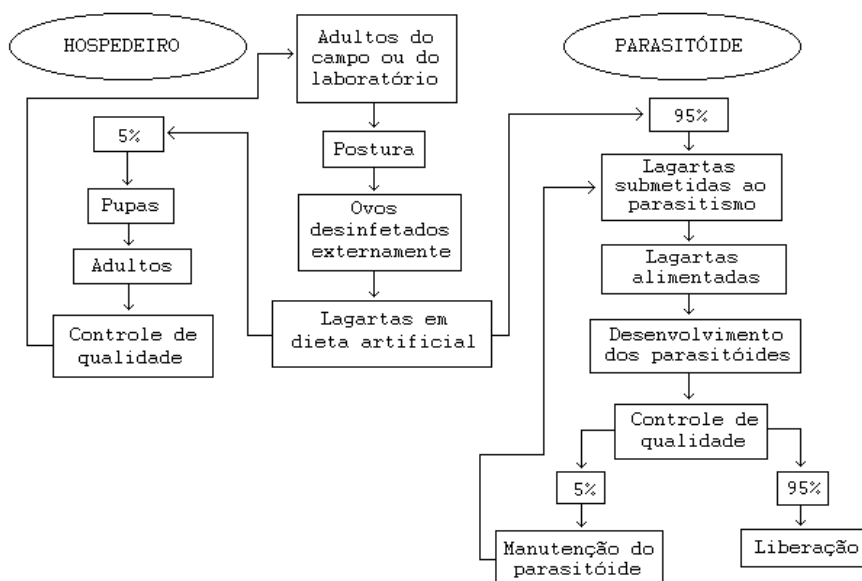


Figura 14.4 – Fluxograma de multiplicação de *Cotesia flavipes* em *Diatraea saccharalis*, criada em dieta artificial (Macedo, 2000).

#### Descrição das atividades relativas às áreas físicas de maior importância

Com o objetivo de facilitar o entendimento das operações envolvidas no processo de multiplicação da vespa *C. flavipes*, serão apresentadas a seguir as diferentes tarefas desenvolvidas nas respectivas áreas físicas:

a) Sala de Postura. Local onde são mantidas as gaiolas (câmaras de PVC) com adultos de *Diatraea saccharalis*, objetivando o acasalamento e posterior obtenção de ovos. Estas câmaras são forradas internamente com papel sulfite, onde são depositados os ovos, sendo vedadas em sua parte superior e inferior com placas de plástico transparente ou acrílico. Os adultos são alimentados através de uma porção de algodão hidrófilo embebido com solução de mel a 10%. Visando uma maior longevidade dos adultos e

quantidade de ovos, deve-se manter um chumaço de algodão umedecido na base da gaiola. Esta sala pode servir também, como depósito de ingredientes utilizados na dieta artificial, necessária ao processo. A temperatura durante a noite deve variar entre 20 e 22°C, possibilitada por uso de condicionador de ar, com fotofase variando de 12 a 14 horas;

b) Sala de dieta. Destina-se à preparação das dietas artificiais que servem de alimento às lagartas da broca, podendo ainda, ser utilizada para armazenamento de componentes da dieta. Trata-se de uma das dependências mais importantes do laboratório, devendo ser mantida sempre fechada e sob rigorosa assepsia, a temperatura deve ser de 25°C, mediante o uso de condicionador de ar e livre do acesso de pessoas estranhas aos trabalhos;

c) Sala de lagartas em desenvolvimento. Destinada ao acondicionamento dos recipientes com ovos ou lagartas recém-eclodidas, até que estejam aptas para inoculação com o parasitóide;

d) Sala de inoculação. Local para inoculações das lagartas de *Diatraea* spp. pelo parasitóide *Cotesia flavipes*. Deve ter boa luminosidade, ventilação natural, podendo ainda ser utilizado circulador de ar;

e) Sala de lagartas inoculadas. Destinada ao acondicionamento de lagartas em processos de parasitismo, bem como aquelas que estão sendo realimentadas com vistas à obtenção de crisálidas, necessárias à manutenção do ciclo do hospedeiro em laboratório;

f) Sala de revisão. Local onde são inspecionadas as lagartas inoculadas, para obtenção das massas de casulos do parasitóide ou de crisálidas de *Diatraea*.

As condições ideais para o perfeito funcionamento dos processos nas quatro salas referidas anteriormente, requerem temperatura de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , boa luminosidade e que seja evitada a incidência de raios solares, diretamente sobre os recipientes.

Compõem ainda a estrutura do laboratório, um escritório e um almoxarifado, com suas funções essenciais, não sendo necessário tecer considerações sobre os mesmos.

É oportuno salientar, a importância da limpeza na rotina do laboratório, sendo recomendável nesse sentido, evitar sempre que possível, o trânsito de pessoas estranhas ao serviço, a título de visitas, aulas práticas, etc., o que poderia ocasionar indesejáveis contaminações nos processos, ocasionadas por microrganismos oportunistas.

No que diz respeito à mão-de-obra, a prática do dia-a-dia tem revelado que, para a maioria das tarefas envolvidas no sistema, funcionários do sexo feminino têm se adaptado melhor a essas funções.

## Simulação de um laboratório para produção de aproximadamente 3,5 milhões de vespas

### 1. Produção do Hospedeiro

#### 1.1. Planejamento da produção

Com o objetivo de atender à demanda estimada para o laboratório, o mesmo deverá ter sua produção dimensionada da seguinte forma:

- a) Lagartas aptas/dia = 3.200, para inocular 3.000/dia (2ª a 6ª feira)
- b) 200 lagartas/frasco = 16 frascos/dia, devem ser inoculados com ovos
- c) 250 ovos/frasco = 4.000 ovos/dia
- d) 100 ovos/fêmea = 40 fêmeas/dia = 2 câmaras de acasalamento
- e) 50 indivíduos (30 machos e 20 fêmeas)/câmara x 2 = 100 indivíduos/dia
- f) 215 lagartas x 70% eficiência = 150 crisálidas x 70% eficiência = 105 indivíduos
- g) 1 frasco/dia = 215 lagartas para encrisalidar

Assim sendo, para o atendimento da meta prevista, deverão ser inoculados 17 frascos para a criação de brocas no laboratório.

#### 1.2. Obtenção de ovos

Para que possa ser alcançada a produção estimada, serão instaladas câmaras para postura, obedecendo formação descrita na Tabela 14.1.

Tabela 14.1 – Instalação de câmaras para postura de *Diatraea saccharalis*.

Atividades	Dias da semana						
	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	Sábado	Domingo
Câmaras novas	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx
Câmaras de 2º dia		xx	xx	xx	xx	xx	xx
Câmaras de 3º dia			x	x	x	x	x
Total de câmaras	2	4	5	5	5	5	5

Após a obtenção, os ovos devem ser desinfetados através da imersão por 2 minutos em solução de formaldeído 38% a 0,2 %, em seguida água destilada por mais 2 minutos e finalmente em solução de sulfato de cobre a 1%, também por 2 minutos, sendo posteriormente colocados para secar.

### 1.3. Obtenção de lagartas

As lagartas serão obtidas a partir de posturas colocadas em frascos de vidro transparente com capacidade para 500 ml contendo 150ml de dieta artificial de Hensley & Hammond (1968), modificada por Araújo *et al.* (1985) e denominada “Dieta PLANALSUCAR” (Tabela 14.2). Em cada frasco, após a colocação da dieta ainda quente, os mesmos são tamponados com algodão em rama previamente esterilizado, quando utilizados frascos de boca estreita. Quando forem usados frascos de boca larga, os mesmos devem ser fechados com tampa de tela metálica (200 mesh), tendo como contra tampa, folha de papel toalha, conforme metodologia adotada por Macedo (2000). No dia seguinte, procede-se a colocação dos ovos, em número de 250 por frasco, em ambiente estéril, onde permanecerão durante aproximadamente 15 dias, ocasião em que as lagartas serão selecionadas para inoculação com o parasitóide ou obtenção de crisálidas.

Durante essa fase os cuidados devem ser intensificados, principalmente com relação ao prazo de validade dos componentes da dieta, dosagens e homogeneidade, especialmente os fagoestimulantes ácido ascórbico e açúcar. Esses cuidados, aliados ao controle de temperatura na sala, proporcionarão o desenvolvimento normal e uniforme das lagartas.

Tabela 14.2 – Dieta PLANALSUCAR para criação de lagartas de *Diatraea saccharalis*.

Ingredientes	Alimentação	Alimentação	Realimentação
	tubo (220)	Frasco (4) ou 2 bandejas	2 bandejas
Ácido ascórbico	5 g	5 g	2 g
Açúcar	135 g	135 g	135 g
Sais de Wesson	10 g	10 g	-
Nipagin	4,5 g	4,5 g	5 g
Germe de trigo	80 g	80 g	40 g
Farelo de soja	105 g	105 g	195 g
Cloreto de colina	1 g	1 g	1 g
Wintomylon	0,5 ml	4,5 ml	0,5 ml
Vita gold	1 ml	1 ml	1 ml
Solução vitamínica	30 ml	30 ml	15 ml
Formaldeído	2 ml	2 ml	2 ml
Ágar-agar ou caragenato	30 g	30 g	35 g
Ácido acético	-	-	15 ml
Água no liquidificador	1.000 ml	1.000 ml	1.000 ml
Água na panela	1.400 ml	1.400 ml	1.400 ml

### 2. Produção do Parasitóide

As lagartas selecionadas para esse fim, são submetidas ao parasitismo de adultos de *C. flavipes* com 24 horas de emergência, tempo necessário para

assegurar o acasalamento entre esses insetos. Nessa fase, deve ser observado se as fêmeas introduziram o ovipositor nas lagartas, operação percebida visualmente pela abertura das asas do parasitóide e permanência destes sobre o hospedeiro, ocasião em que ocorre movimentação brusca da lagarta, como mecanismo de defesa.

A fim de que seja assegurado uma boa eficiência nessa etapa, deve-se ter o cuidado de verificar também se não há predominância de machos, se os adultos do parasitóide foram procedentes de lagartas sadias, se as lagartas estão com aproximadamente 15 dias e 15 a 25 mm de comprimento, boa mobilidade e sem ferimentos.

Posteriormente, a partir de 12 dias da inoculação, efetua-se a primeira revisão para a coleta de massas de casulo do parasitóide, operação essa repetida aos 15, 18 e 21 dias.

Após as coletas, as massas são acondicionadas em número de 50 em copo plástico de 320 ml de capacidade, furados com alfinete em sua parte inferior para melhorar a ventilação, onde permanecerão até que ocorra 70% de emergência dos adultos, quando serão levados ao campo para liberação.

Durante o transporte ao campo, deve ser evitada insolação direta sobre as vespas, se possível transportando os copos em recipientes de isopor.

Durante a liberação, evitar choque térmico aos adultos, para tanto, essas liberações devem ser efetuadas nas horas de temperaturas mais amenas, evitando as horas mais quentes do dia, como também dias muito chuvosos.

### 2.1. Contaminações na dieta

A fim de evitar contaminações, deve-se tomar todos os cuidados com a assepsia do local. No entanto, se estas ocorrerem, deve-se aumentar a concentração das substâncias antibióticas que estejam sendo usadas na dieta, a exemplo de nipagin, wintomylon, dentre outras.

### 2.2. Causas de mortalidade de lagartas inoculadas

Durante e após a inoculação das lagartas pelo parasitóide, deve-se ter o cuidado de evitar amontoamento de lagartas para não haver ferimentos, que facilitariam a mortalidade, levando a redução na produção do parasitóide. Lagartas aparentemente doentes, deformadas, com troca de cutícula incompleta, assim como, crisálidas ou adultos que apresentem qualquer tipo de deformação não devem ser utilizadas na multiplicação do parasitóide, devendo ser eliminados do processo de criação.

### 2.3. Alguns parâmetros utilizados nesta estimativa:

- 3.000 lagartas inoculadas x 5 dias = 15.000 lagartas inoculadas/semana
- Considerando-se 4 semanas/mês = 60.000 lagartas inoculadas/mês
- Considerando-se 75% eficiência = 45.000 lagartas parasitadas
- 45.000 lagartas x 80 casulos/massa = 3.600.000 casulos = vespas/mês
- Para liberar = 3.420.000 vespas
- Para uso do laboratório = 180.000 vespas

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme referido no início desse trabalho, além da broca comum e da cigarrinha da folha, existem outras pragas importantes da cana-de-açúcar que infestam os canaviais. Desta forma, a utilização dos agentes de controle biológico aqui referidos, colaboram substancialmente para o Manejo Integrado das Pragas da Cana-de-açúcar, através da redução do uso de inseticidas químicos, minimizando portanto a ação desses últimos sobre os inimigos naturais das demais pragas da cultura e evitando também, seus efeitos danosos sobre o ambiente canavieiro.

Paralelamente, buscou-se nesse trabalho reunir informações técnicas e práticas, referentes à atualização na produção de agentes de controle biológico de duas importantes pragas da cana-de-açúcar que, até então, encontravam-se em diversas fontes bibliográficas especializadas.

## BIBLIOGRAFIA

- Alves, S.B.; Pereira, R.M. Produção de *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em bandejas. *Ecosistema* 14: 188-192, 1989.
- Alves, S.B.; Pereira, R. Produção de fungos entomopatogênicos. In: Alves, S.B. (Ed.) *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.845-869.
- Araújo, J.R. Guia prático para criação da broca da cana-de-açúcar e de seus parasitoides em laboratório. Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, 1987. 36p.
- Araújo, J.R.; Botelho, P.S.M.; Araújo, S.M.S.; Almeida, L.C.; Degaspari, N. Nova dieta artificial para criação de *Diatraea saccharalis*. *Saccharum*. APC 36: 45-48, 1985.
- Aquino, M.L.N.; Vital, A.F.; Cavalcanti, V.L.B.; Nascimento, M.G. Cultura de *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin em sacos de

- polipropileno. Recife: CODECAP, 1977. 11p. (Boletim Técnico CODECAP, 5).
- EECAC/UFRPE/Governo de Pernambuco/SINDAÇUCAR. Situação atual das brocas da cana-de-açúcar no Estado de Pernambuco. Carpina: Estação Experimental de Cana-de-Açúcar, 1997. 20p. (Informativo, 2).
- Guagliumi, P.; Marques, E.J.; Mendonça, A.F.; Menezes, C. Primeiros resultados na luta biológica contra a cigarrinha da folha *Mahanarva posticata* Stal (Hom., Cercopidae) no Nordeste do Brasil In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Entomologia, 2., Recife, 1969. Resumos ... p.85.
- Guagliumi, P.; Marques, E.J.; Vilas Boas, A.M. Contribuição ao estudo da cultura e aplicação de *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin no controle da cigarrinha-da-folha *Mahanarva posticata* (Stal) no nordeste do Brasil. Recife: CODECAP, 1974. 54p. (Boletim Técnico CODECAP, 3).
- Lima, R.O.R.; Marques, E.J. Controle biológico das pragas da cana-de-açúcar no Nordeste. Piracicaba: IAA-PLANALSUCAR, 1985. 8p.
- Macedo, N.; Botelho, P.S.M.; Degaspari, N.; Almeida, L.C.; Araújo, J.R. Magrini, E.A. Controle biológico da broca da cana-de-açúcar: manual de instrução. Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, 1983. 22p.
- Macedo, N. Método de criação do parasitóide *Cotesia flavipes* (Cameron). In: Bueno, V.H.P. (Ed.) Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Lavras: UFLA, 2000. p.161-174.
- Marques, E.J. Controle microbiano de cigarrinhas (Hemiptera: Cercopidae) com *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.: eficiência e limitações. In: Simpósio de Controle Biológico, 3., Águas de Lindóia - SP, 1992. Anais p.73-78.
- Marques, E.J.; Vilas Boas, A.M.; Pereira, C.E.F. Orientações técnicas para produção do fungo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) em laboratórios setoriais. Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, 1981. 23p. (PLANALSUCAR. Boletim Técnico, 2).
- Mendonça Filho, A.F.; Risco, S.H.; Costa, J.M.B. Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hym., Braconidae) in Brazil. In: Congress ISSCT, 16., São Paulo – SP, 1977. Proceedings ... 1978, v.1, p.703-710.
- Moino Junior, A. Produção de fungos, vírus e bactérias entomopatogênicas. In: Bueno, V.H.P. (Ed.) Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Lavras: UFLA, 2000. p.175-186.

Vilas Boas, A.M.; Marques, E.J.; Lima, R.O.R. Utilização de bioinseticidas no controle de pragas da cana de açúcar no Nordeste do Brasil. Brasil Açucareiro 106: 38-44, 1988.