UFSM

Ciência Florestal

ISSN 1980-5098
Acesso aberto

Ci. Fl., Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 1095-1105, abr./jun. 2022 • https://doi.org/10.5902/1980509867140
Submissão: 09/08/2021 • Aprovação: 07/09/2021 • Publicação: 24/06/2022

Nota Técnica

Ocorrência de *Phomopsis* sp. em mudas de *Carya illinoinensis* (Wangenh) K. Koch

Phomopsis sp. ocurrence in *Carya illinoinensis* (Wangenh) K. Koch seedlings

Caciara Gonzatto Maciel[I], Isabele Simões Silveira[I], Marília Lazarotto[II], Claudimar Sidnei Fior[I], Marcio Alberto Hilgert[I]

[I]Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil
[II]Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil

RESUMO

A produção de mudas de nogueira-pecan tem ganhado força nas últimas décadas, principalmente na região sul do Brasil, e esse aumento na demanda, consequentemente, intensifica os estudos sobre problemas fitossanitários presentes na cultura nessa região. A qualidade sanitária é um fator importante na produção de mudas florestais, tendo em vista a ocorrência de doenças em todas as etapas do processo produtivo. Em abril de 2021, foram observadas manchas foliares escuras e irregulares em mudas de nogueira-pecan em condições de viveiro. A evolução dos sintomas causava queda dos folíolos e comprometimento no desenvolvimento das plantas, devido à redução da sua área fotossintética. Verificou-se que se tratava do efeito causal de um fungo, que foi isolado em meio batata-dextrose-ágar (BDA), tendo, posteriormente, sua patogenicidade constatada em folíolos destacados de nogueira-pecan. Discos de 4 mm da cultura pura do isolado de *Phomopsis* sp. foram dispostos na superfície de folíolos sadios, previamente feridos com agulha histológica esterilizada. Após a inoculação, os folíolos foram acondicionados em caixas gerbox forradas com duas folhas de papel-filtro esterilizadas e umedecidas com água destilada esterilizada e mantidas em câmara de incubação durante sete dias a 25 ± 2ºC e fotoperíodo de 12 h. Foram utilizados oito folíolos sadios como testemunha, os quais foram submetidos às mesmas condições, utilizando apenas discos de meio de cultura BDA. O isolado mostrou-se patogênico, com os primeiros sintomas após 6 dias da inoculação. As lesões, inicialmente circulares e necróticas, foram coalescendo e aos 10 dias atingiram 16 mm. Foi realizado o reisolamento assim que as estruturas reprodutivas do fungo apareceram, essas foram transferidas para placas de Petri com meio de cultura BDA. O fungo causador dos sintomas foi identificado como *Phomopsis* sp., e este trabalho apresenta o primeiro relato da ocorrência de mancha foliar de *Phomopsis* sp. em *Carya illinoinensis* em condições de viveiro no Brasil.

Palavras-chave: Patogenicidade; Nogueira-pecan; Fungo; Mancha foliar

Artigo publicado por Ciência Florestal sob uma licença CC BY-NC 4.0.

ABSTRACT

Pecan seedlings production has increased in recent decades, especially in southern Brazil, consequently, intensifies studies in crop phytosanitary problems in this region. Sanitary quality is an important factor in the production of forest seedlings, considering the occurrence of diseases in all stages of the production process. In April 2021, dark and irregular leaf spots were observed in pecan seedlings under nursery conditions. The evolution of symptoms caused leaf drop and compromised plant development, due to the reduction of their photosynthetic area. It was verified that it was a fungus, which was isolated on potato-dextrose-agar (PDA) medium, and later had its pathogenicity verified in detached pecan leaflets. Four-mm disks of the pure culture of the Phomopsis sp. were placed on the surface of healthy leaflets, previously injuredwith a sterilized histological needle. After inoculation, the leaflets were placed in gerbox boxes lined with two sheets of sterilized filter paper and moistened with sterilized distilled water and kept in an incubation chamber for seven days at 25 ± 2ºC and 12 h photoperiod. Eight healthy leaflets were used as controls, which were subjected to the same conditions, except for fungus inoculation, using only disks of PDA culture medium. The isolate proved to be pathogenic, with the first symptoms after 6 days of inoculation, the initially circular and necrotic lesions coalesced and at 10 days reached 16 mm. The re-isolation was carried out as soon as the reproductive structures of the fungus appeared, these were transferred to Petri dishes with PDA culture medium. The fungus causing the symptoms was identified as *Phomopsis* sp. and, this work presents the first report of the occurrence of *Phomopsis* sp. in *Carya illinoinensis* under nursery conditions in Brazil.

Keywords: Pathogenicity; Pecan; Fungus; Leaf spot

1 INTRODUÇÃO

A nogueira-pecan (*Carya illinoinensis* (Wangenh.) K. Koch) é uma espécie arbórea, caducifólia, pertencente à família *Juglandaceae*, nativa da América do Norte, de clima temperado, mas pode ser encontrada cultivada em diferentes condições climáticas. Foi introduzida no Brasil em 1900, porém somente nas últimas décadas seu cultivo vem se expandindo, especialmente na região sul do país (WELLS, 2013; BOSCARDIN *et al*., 2017).

O aumento no consumo de nozes e frutos secos sugere o aumento na demanda pela produção de mudas, e com isso aumenta também a preocupação de produtores quanto ao surgimento de problemas fitossanitários, incluindo doenças que ainda não foram registradas para a cultura. As manchas foliares são doenças que interferem

diretamente na fotossíntese, através da redução da área foliar, com sintomas como crestamento, queima e necrose (BEDENDO, 2011), e podem ser prejudiciais especialmente na fase de produção de mudas.

Os fungos do gênero *Phomopsis* são comumente associados a perdas no percentual germinativo de sementes de espécies florestais (STRAPASSON; SANTOS; MEDEIROS, 2002; BOTELHO; MORAES; MERTEN, 2008; BENETTI *et al*., 2009; LAZAROTTO *et al*., 2012; WALKER *et al*., 2013; MAZAROTTO *et al*., 2019) e agrícolas (SIMONI, 2007; PEREIRA, 2008; GONÇALVES *et al*., 2021). Porém, outros estudos comprovaram a associação desse patógeno com manchas foliares. Em trabalho publicado por Anjos, Charchar e Guimarães (2001), *Phomopsis* sp. causou queima das folhas em aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva* Allem.) no Distrito Federal. Charchar *et al*. (2002) comprovaram a patogenicidade de isolados do gênero *Phomopsis* em jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), algodão (*Gossypium hirsutum* L. 'Deltapine'), aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), café (*Coffea arabica* L. 'Acaiá Cerrado'), caju-do-campo (*Anacardium humile* Mart.), cagaita (*Eugenia dysenterica* Mart. ex. DC.), estilosantes (*Stylosanthes guianensis* (Aub.) Sw. var. vulgaris Ferr. & Costa 'Mineirão'), guariroba (*Syagrus oleracea* Mart. Becc.), mangaba (*Hancornia speciosa* Gomez), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), soja (*Glycine max* L. (Merr.) 'Carla') e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Os sintomas predominantemente relatados pelos autores são queima dos folíolos com necrose escura principalmente nos bordos; lesões necróticas arredondadas e de tamanhos variáveis, espalhados por todo o folíolo, de cor marrom-clara com bordas cloróticas.

Dessa maneira, o presente trabalho teve como objetivo identificar o agente causal de manchas foliares em mudas de nogueira-pecan, e comprovar sua patogenicidade para a espécie.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Caracterização do local

O presente estudo foi realizado nas dependências do Departamento de Horticultura e Silvicultura (DHS) da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), localizada em Porto Alegre (30º29' S e 51º06' W), RS, Brasil.

2.2 Isolamento do fungo

Em abril de 2021, foram observadas manchas foliares escuras e irregulares em mudas de nogueira-pecan com aproximadamente cinco meses de idade. Com a evolução dos sintomas, as lesões coalesciam, prejudicando o desenvolvimento vegetativo das mudas. As mudas se encontravam em casa de vegetação com temperatura média de 27,6 ºC, irrigação inicialmente com fita gotejadora, e após, manualmente duas vezes na semana. A adubação era semanal, com a utilização de uma fertilização padrão: 0,25 g L^{-1} de KCl; 1 g L^{-1} de $CaNO_3$; 1 g L^{-1} de $MgSO_4$ e 0,08 g L^{-1} de Kristalon MKP e ainda, adubação nitrogenada com quatro doses de nitrogênio, uma vez que as mudas faziam parte de experimentos de fertilização.

Folíolos sintomáticos de *Carya illinoinensis* (Figura 1 – A) foram coletados e procedeu-se a diagnose. Para o isolamento do patógeno, o material vegetal com sintomas da doença foi transferido para caixas gerbox (previamente desinfestadas com etanol 70%), forradas com duas folhas de papel-filtro esterilizadas e umedecidas com água destilada esterilizada. O material permaneceu incubado por 72 h (25 ± 2 ºC e fotoperíodo de 12 h).

Após esse período, o material foi observado em microscópio estereoscópico e, na sequência, lâminas foram confeccionadas para observação das estruturas fúngicas em microscópio óptico (Figura 1 – C). Para proceder o isolamento, estruturas

fúngicas localizadas nas lesões foram transferidas para placas de Petri de 80 mm de diâmetro, contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA, 39 g de PDA Merk ® e 1000 mL água destilada). Para a purificação do isolado, foi utilizada a técnica da cultura monospórica (FERNANDEZ, 1993), em que fragmentos do micélio do fungo foram colocados em 5 mL de água destilada e esterilizada, agitados e plaqueados em placas de Petri contendo meio de cultura ágar-água (AA, 20 g de ágar e 1000 mL água destilada). Após 24 h de incubação em temperatura ambiente, foi realizada a observação dos conídios germinados em meio AA, através de microscópio óptico. Os conídios que germinaram isoladamente foram repicados para placa de Petri contendo meio de cultura BDA.

2.3 Patogenicidade do isolado de *Phomopsis* sp.

A partir da cultura pura do isolado de *Phomopsis* sp. (Figura 1 – B), obtido de folíolos de *C. illionoinensis,* o teste de patogenicidade foi efetuado em oito folíolos sadios destacados. Inicialmente, os folíolos passaram pelo processo de assepsia com etanol 70%, na sequência foram realizados dois ferimentos com agulha esterilizada na parte adaxial do folíolo, seguida pela inoculação de dois discos de 4 mm de diâmetro da cultura monospórica do fungo.

Depois da inoculação, foi adicionado algodão umedecido na base dos folíolos, para manter a umidade. Os folíolos inoculados permaneceram em caixas gerbox, forradas com duas folhas de papel-filtro e umedecidas com água destilada esterilizada em câmara de incubação, a 25 ± 2 ºC, e fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias. Foram utilizados oito folíolos sadios como testemunha (Figura 1 – D), os quais foram submetidos às mesmas condições, utilizando-se apenas discos com meio de cultura BDA.

O aparecimento dos sintomas foi acompanhado diariamente. Aos seis, oito e dez dias foram realizadas medições do tamanho das lesões com auxílio de um paquímetro digital.

O reisolamento foi realizado aos 14 dias após a inoculação, quando se verificou o aparecimento das estruturas reprodutivas do fungo nas lesões (Figura 1 – F). Essas estruturas foram transferidas com a utilização de agulha esterilizada para placas de Petri com meio de cultura BDA, com o intuito de compará-las com as colônias obtidas das mudas sintomáticas no viveiro e finalizar os postulados de Koch com o reisolamento do patógeno.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo isolado em meio de cultura BDA, a partir dos folíolos de nogueira-pecan sintomáticas, apresentou características do gênero *Phomopsis.* A colônia fúngica apresentou coloração branca, com posterior aparecimento de intensa esporulação e grande quantidade de picnídios de coloração preta (Figura 1 – B), os quais exsudavam uma massa gelatinosa que continha os conídios do tipo alfa e beta (Figura 1 – C) do fungo, visualizados em microscópio óptico. A caracterização do fungo cultivado em meio de cultura corrobora as características observadas por Santos et al. (2018) em teste de patogenicidade com *Phomopsis* sp. em folhas de teca (*Tectona grandis*) em Sergipe.

Todos os folíolos inoculados com o isolado de *Phomopsis* sp. apresentaram sintomas após seis dias de inoculação (Figura 1 – E). Inicialmente, as lesões apresentaram em média 9 mm e progrediram com o passar dos dias (Figura 1 – F), alcançando 12 e 16 mm, aos oito e dez dias após a inoculação, respectivamente. Em folhas destacadas de teca, durante o teste de patogenicidade com *Phomopsis* sp., o surgimento dos primeiros sintomas ocorreu após sete dias da inoculação (KAVASAKI *et al*., 2012).

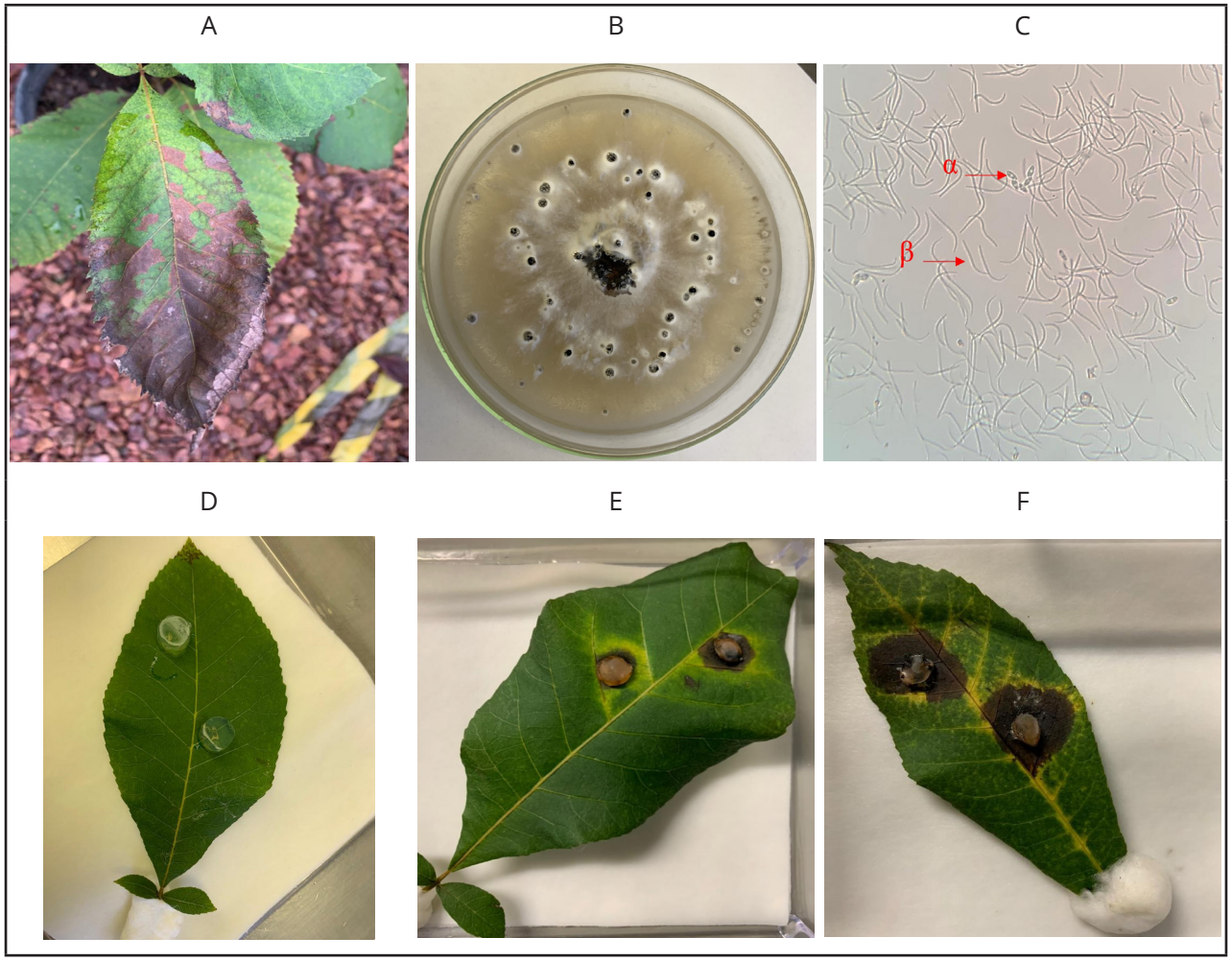
Os sintomas observados nos folíolos foram: manchas irregulares, necróticas, arredondadas e de tamanhos variáveis, de cor marrom-escura e amarelecimento ao longo das nervuras. Aos dez dias foi constatada a formação de pequenos pontos globosos pretos sobre as lesões, que correspondem aos picnídios do patógeno.

Esses sintomas corroboram os que foram relatados no teste de patogenicidade de *Phomopsis* sp. em folhas destacadas de teca (*Tectona grandis*) (SANTOS *et al*., 2018). Os mesmos sintomas foram observados em mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) (ANJOS; CHARCHAR; GUIMARÃES, 2001), em plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril*) (CHARCHAR *et al*., 2002), em cajueiro (*Anacardium occidentale*) (KIMATI *et al*., 2005) e em plantios de teca (*Tectona grandis*) (RAMAYO, 2010). *Phomopsis* provoca, em plantas de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*), manchas foliares circulares e delimitadas, ocasionando o encarquilhamento ao redor das lesões e posterior desprendimento do tecido, formando perfurações no limbo foliar (BENCHIMOL, 2004) e, consequentemente, a queda das folhas. Lesões foliares causam o comprometimento da planta, principalmente as mais jovens, promovendo a redução na produção de fotoassimilados (RUSSOMANO; KRUPPA; COUTINHO, 2007).

Os conídios do fungo *Phomopsis* sp. produzidos, em meio BDA, foram caracterizados como hialinos, unicelulares e de dois tipos: α- medindo 5-7,5 x 2,5 µm na forma elipsoide para ovoide e β- medindo 25-35 x 1,25 µm de forma filiforme com a presença de curvatura em uma das extremidades na maioria deles (Figura 1 - C). Essas características vão ao encontro das apontadas por isolados de *Phomopsis* sp. patogênicos à jatobá (CHARCHAR *et al*., 2002) e aroeira (ANJOS; CHARCHAR; GUIMARÃES, 2001) no Distrito Federal. Destaca-se que as estruturas reprodutivas do fungo sobrevivem em tecidos infectados, folhas e ramos, e como já foi ressaltado no decorrer do trabalho, sua ocorrência não é restrita a uma única espécie vegetal, aspectos importantes para compor uma estratégia de manejo integrado.

Na testemunha, folíolos inoculados apenas com o disco de meio de cultura permaneceram livres de sintomas ao longo dos dias avaliados. As culturas reisoladas dos folíolos sintomáticos, após o teste de patogenicidade, foram semelhantes às originais, confirmando a patogenicidade do isolado através dos Postulados de Koch.

Figura 1 – Mancha foliar causada por *Phomopsis* sp. em *Carya illinoinensis.* Sintomas observados em mudas de nogueira-pecan (A); Placa com colônia pura do isolado de *Phomopsis* sp. em meio BDA. (B); Conídios de *Phomopsis* sp. do tipo α (alfa) e β (beta) em microscópio com aumento 400 x (C); Testemunha (D); Sintomas iniciais aos seis dias (E); Sintomas avançados aos 10 dias após inoculação da cultura monospórica (F)



Fonte: Autores (2021)

4 CONCLUSÃO

O fungo causador de manchas foliares em mudas de nogueira-pecan foi identificado como *Phomopsis* sp., e o teste de patogenicidade comprovou a patogenicidade à espécie. Este é o primeiro relato da ocorrência de mancha foliar de *Phomopsis* sp. em mudas de *Carya illinoinensis* em condições de viveiro no Brasil.

REFERÊNCIAS

ANJOS, J.; CHARCHAR, M. J. A.; GUIMARÃES, D. P. Ocorrência de queima das folhas causada por *Phomopsis* sp. em aroeira no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 649-650, 2001.

BEDENDO I. P. Manchas Foliares. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia.** 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 459-466.

BENCHIMOL, R. L. Principais doenças do cupuaçuzeiro e recomendações de controle. [*S. l.*]: Embrapa Amazônia Oriental, 2004. 3 p. (Comunicado Técnico, INFOTECA-E).

BENETTI, S. C. *et al.* Levantamento de fungos em sementes de cedro e avaliação da patogenicidade de *Fusarium* sp. e *Pestalotia* sp. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p. 81-85, 2009.

BOSCARDIN, J. *et al*. Crescimento de nogueira-pecã sob diferentes preparos do solo e coveamentos: coleópteros como bioindicadores. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 37, n. 92, p. 587-596, 2017.

BOTELHO, L. S.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Fungos associados às sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*): incidência, efeito na germinação e transmissão para as plântulas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 343-348, 2008.

CHARCHAR, M. J. d'A. *et al*. Ocorrência de *Phomopsis* sp. em jatobá no Distrito Federal. [*S. l*]: Embrapa Cerrados, 2002. 15 p. (Documentos, INFOTECA-E).

FERNANDEZ, M. R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: Embrapa; CNPT, 1993. 128 p.

GONÇALVES, S. L. *et al*. **Ocorrência de chuvas excessivas na colheita da soja no estado de Mato Grosso, safra 2020/2021**. [*S. l.*]: Embrapa Soja, 2021. 10 p. (Comunicado Técnico, INFOTECA-E).

KAVASAKI, K. *et al*. Ocorrência de *Phomopsis* sp. em *Tectona grandis* no Brasil. **Revista de Ciências Agroambientais**, [*s. l.*], v. 10, n. 2, p. 219-224, 2012.

KIMATI, H. *et al.* **Manual de Fitopatologia, doenças das plantas cultivadas**, 4. ed. Ceres: São Paulo, 2005. 664 p.

LAZAROTTO, M. *et al*. Sanidade, transmissão via semente e patogenicidade de fungos em sementes de *Cedrela fissilis* procedentes da região sul do Brasil. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 3, p. 493-503, 2012.

MAZAROTTO, E. J. *et al*. Association of *Fusarium* and *Phomopsis* with peroba rosa seeds. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 26, n. 2, p. 1-7, 2019.

PEREIRA, C. F. **Influência *de Colletotrichum dematium* var. truncata, *Phomopsis sojae* e *Diaporthe phaseolorum* f. sp. meridionalis nos testes de vigor de sementes de soja**. 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

RAMAYO, F. S. Diagnóstico Fitosanitario para teca y cedro. **Fomix Campeche Revista**, Campeche, v. 2, n. 3, p. 39-43, 2010.

RUSSOMANO, O. M. R.; KRUPPA, P. C.; COUTINHO, L. N. Doenças fúngicas em palmeiras ornamentais. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 9-15, 2007.

SANTOS, Í. T. B. F. dos *et al*. Queima de folhas em *Tectona grandis* Linn. F. causadas por *Phomopsis* sp. em Sergipe. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, [*s. l.*], v. 3, n. 1, p. 6606, 2018.

SIMONI, F. **Germinação e vigor de sementes de soja em função da disponibilidade hídrica do solo e presença de** *Phomopsis sojae*. 2007. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

STRAPASSON, M.; SANTOS, A. F. dos; MEDEIROS, A. C. de S. Fungos associados às sementes de angico (*Piptadenia paniculata*). **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 45, p. 137-141, 2002.

WALKER, C. *et al*. Transmissão e patogenicidade de *Phomopsis* sp. associadas às sementes de angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida* Benth.). **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 20, n. 2, p. 216-222, 2013.

WELLS, M. L. Pecan response to nitrogen fertilizer placement. **HortScience**, Alexandria, v. 48, n. 3, p. 369-372, 2013.

Contribuição de Autoria

1 – Caciara Gonzatto Maciel

Engenheira Florestal, Dra., Professora
https://orcid.org/0000-0003-3719-1026 • caciaragonzatto@gmail.com
Contribuição: Conceituação, Curadoria de dados, Análise Formal, Metodologia, Visualização de dados, Validação, Escrita primeira redação, Escrita – revisão e edição

2 – Isabele Simões Silveira

Engenheira Florestal, Mestranda
https://orcid.org/0000-0002-6025-0226 • isabelesilveira16@gmail.com
Contribuição: Conceituação, Curadoria de dados, Análise Formal, Escrita primeira redação, Escrita – revisão e edição

3 – Marília Lazarotto

Engenheira Florestal, Dra., Professora
https://orcid.org/0000-0003-0621-6120 • marilia.lazarotto@ufpel.edu.br
Contribuição: Recursos, Validação, Metodologia, Visualização de dados, Escrita – revisão e edição

4 – Claudimar Sidnei Fior

Agrônomo, Dr., Professor
https://orcid.org/0000-0001-9893-081X • csfior@ufrgs.br
Contribuição: Recursos, Escrita – revisão e edição, Visualização de dados, Administração do projeto, Supervisão

5 – Marcio Alberto Hilgert

Agrônomo, Me.
https://orcid.org/0000-0002-2983-7758 • marcioahilgert@yahoo.com.br
Contribuição: Curadoria de dados, Recursos, Escrita – revisão e edição

Como citar este artigo

Maciel, C. G.; Silveira, I. S.; Lazarotto, M.; Fior, C. S.; Hilgert, M. A. Ocorrência de Phomopsis sp. em mudas de Carya illinoinensis (Wangenh) K. Koch. Ciência Florestal, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 1095-1105, 2022. DOI 10.5902/1980509867140. Disponível em: https://doi.org/10.5902/1980509867140.