

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 16 (11)

November 2023

DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/161120231808>

Article link: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1808>



Caracterização patogênica de *Pestalotiopsis grandis-urophylla* pela inoculação de disco de micélio

Pathogenic characterization of *Pestalotiopsis grandis-urophylla* by mycelium agar plugs inoculation

Corresponding author

Daniel Diego Costa Carvalho

Universidade Estadual de Goiás

daniel.carvalho@ueg.br

Marina Gabriela Marques

Universidade Estadual de Goiás

Fabrcio Rodrigues

Universidade Estadual de Goiás

Elizabeth Amélia Alves Duarte

ITPAC, Cruzeiro do Sul

Thiago Alves Santos de Oliveira

Universidade Federal do Acre

Resumo. O objetivo deste estudo foi realizar a caracterização patogênica de isolados de *Pestalotiopsis grandis-urophylla* obtidos a partir de lesões em folhas de eucalipto. A partir de 2 isolados foi realizado a caracterização patogênica, onde foram inoculados em folhas e submetidos a condições controladas de temperatura e luz em caixas acrílicas transparentes com manutenção da umidade apenas no papel. As avaliações foram realizadas medindo-se as lesões na face abaxial das folhas aos 4, 6, 8 e 10 dias após a inoculação (DAI), com auxílio de paquímetro digital, obtendo-se o tamanho das lesões em mm². Na avaliação do potencial patogênico, os dados referentes às lesões causadas por *P. grandis-urophylla* foram submetidos ao teste de Tukey e à análise de regressão para obtenção de modelos significativos. Não houve diferença estatística entre os isolados quanto à área foliar lesionada (AFL), e quanto a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). A metodologia de inoculação avaliada proporcionou reprodução dos sintomas da doença.

Palavras-chaves: fitopatologia, silvicultura, Myrtaceae, mancha foliar.

Abstract. The aim of this study was to carry out the pathogenic characterization of *Pestalotiopsis grandis-urophylla* isolates obtained from lesions on eucalyptus leaves. From 2 isolates, pathogenic characterization was carried out, where they were inoculated in leaves and subjected to controlled conditions of temperature and light in transparent acrylic boxes with maintenance of humidity only on paper. The evaluations were carried out by measuring the lesions on the abaxial surface of the leaves at 4, 6, 8 and 10 days after inoculation (DAI), with the aid of a digital caliper, obtaining the size of the lesions in mm². In assessing the pathogenic potential, data referring to lesions caused by *P. grandis-urophylla* were submitted to Tukey's test and regression analysis to obtain significant models. There was no statistical difference between the isolates regarding the injured leaf area (ILA) and the area under the disease progress curve (AUDPC). The evaluated inoculation methodology provided reproduction of disease symptoms.

Keywords: phytopathology, forestry, Myrtaceae, leaf spot.

Introdução

O eucalipto (*Eucalyptus spp*) é uma cultura de grande importância econômica, e é cultivado para os mais diversos fins, tais como, papel, celulose,

lenha, carvão, entre outros (SANTOS, 2001). As condições favoráveis de clima, solo e a grande oferta de áreas para o plantio fazem do Brasil um dos mais promissores mercados mundiais desta espécie (BIZI,

2005). O eucalipto é atacado por vários patógenos, principalmente fungos, desde a fase de viveiro até os plantios adultos e, geralmente, os problemas são observados nas plantações, ocorrendo nos mais variados locais, espécies e épocas do ano (ALFENAS et al., 2009).

Entre as doenças fúngicas encontradas no eucalipto, destaca-se a mancha foliar causada pelo patógeno *Pestalotiopsis* sp. O gênero *Pestalotiopsis* encontra-se amplamente distribuído, ocorrendo em solos, ramos, sementes, frutos e folhas podendo ser parasita, endofítico ou saprófita (JEEWON et al., 2004). Especial atenção tem sido dada ao fungo *Pestalotiopsis* sp., sobretudo ao fato de recentemente ter sido relatado como responsável por lesões na casca de plantas de *Eucalyptus globulus* (ALONSO et al., 2009) e também como um fungo endofítico e epifítico em folhas de *Eucalyptus citriodora* (KHARWAR et al., 2010). Neste contexto, conhecer o potencial infectivo e a virulência de isolados de patógenos, tal como *Pestalotiopsis*, é importante quando se pensa na adoção de medidas de manejo integrado e no aumento da produtividade (LIMA et al., 2004).

A solicitação contínua de informações e realização de pesquisas sobre a virulência de patógenos visa a auxiliar ao melhor conhecimento dos problemas bióticos inerentes ao eucalipto e no estabelecimento de estratégias adequadas de controle e contribuir para a redução de perdas e aumentar a produtividade no setor florestal (SANTOS et al., 2001; KHARWAR et al., 2010). Em decorrência, é fundamental a caracterização patogênica de *Pestalotiopsis* sp. de eucalipto no Brasil. O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização patogênica de isolados de *Pestalotiopsis grandis-urophylla* obtidos a partir de lesões em folhas de eucalipto.

Materiais e Métodos

Folhas sadias de plantas adultas de *Eucalyptus grandis* cv. 'GG 100' (18 a 24 meses de idade) foram coletadas no campus Ipameri (17°43'00.03"S; 48°08'39.34"O; 796 m), lavadas em água corrente e deixadas para secagem em câmara de fluxo laminar por 10 min (CARVALHO et al., 2008). Para as inoculações, foram realizados cinco

furos no centro do limbo foliar com auxílio de uma agulha e depositado um disco de ágar (7 mm Ø) com 5 dias de idade, contendo micélio de *P. grandis-urophylla* (isolados E-71-01 e E-71-05). As folhas inoculadas com o patógeno foram submetidas a condições controladas de câmara úmida em caixas acrílicas transparentes (11 x 11 cm), contendo uma folha de papel de germinação com manutenção de umidade constante apenas no papel. Em seguida, foram realizadas medições das lesões na face abaxial das folhas aos 4, 6, 8 e 10 dias após a inoculação (DAI), com o auxílio de um paquímetro digital, obtendo-se o tamanho das lesões em mm².

Na avaliação do potencial patogênico, os dados referentes às lesões causadas por *P. grandis-urophylla* foram submetidos ao teste de Tukey e à análise de regressão para obtenção de modelos significativos. A severidade foi integralizada como área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) através da fórmula $AACPD = \sum [(y1 + y2)/2] \cdot (t2 - t1)$, onde y1 e y2 são duas avaliações consecutivas realizadas nos tempos t1 e t2, respectivamente. Em todas as análises foi empregado o programa estatístico Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2011).

Resultados e discussão

Não houve diferença estatística entre os isolados quanto a área foliar lesionada (AFL), conforme mostra a Tabela 1. Após análises de regressão para o aumento das lesões nas folhas ao longo do tempo, o isolado E-72-05 foi ajustado por um modelo linear, já o isolado E-72-01 se ajustou a um modelo polinomial de segundo grau (Figura 1). Todos os modelos foram significativos e com alto coeficiente de determinação (r²). Também não houve diferença estatística entre os isolados quanto a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Após as inoculações com disco de micélio os sintomas típicos da doença causada por *Pestalotiopsis* foram reproduzidos, os quais podem ser caracterizados por lesões necróticas escuras ou marrom-escuras, algumas continham o sinal do patógeno, correspondentes ao acérvulo e micélio do fungo (Figura 2).

Tabela 1. Área foliar de *Eucalyptus grandis* "GG100", lesionada (AFL) por *Pestalotiopsis grandis-urophylla* aos 10 dias após inoculação (DAI), modelos de regressão para aumento das lesões nas folhas e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) aos 10 DAI.

Isolado	AFL aos 10 DAI (mm ²) ⁽¹⁾	Modelo de regressão	r ² (%)	(P≤X)	AACPD ⁽¹⁾
E-72-01	30,8 a	Y = -1,8541x ² + 30,6416x - 91,5333	94,63%	0,01	150,8 a
E-72-05	29,7 a	Y = 0,7000x + 22,4333	90,00%	0,01	162,5 a
CV	16,09 %	-	-	-	16,26 %

⁽¹⁾Valores seguidos da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, segundo o teste de Tukey (P≤0,05).

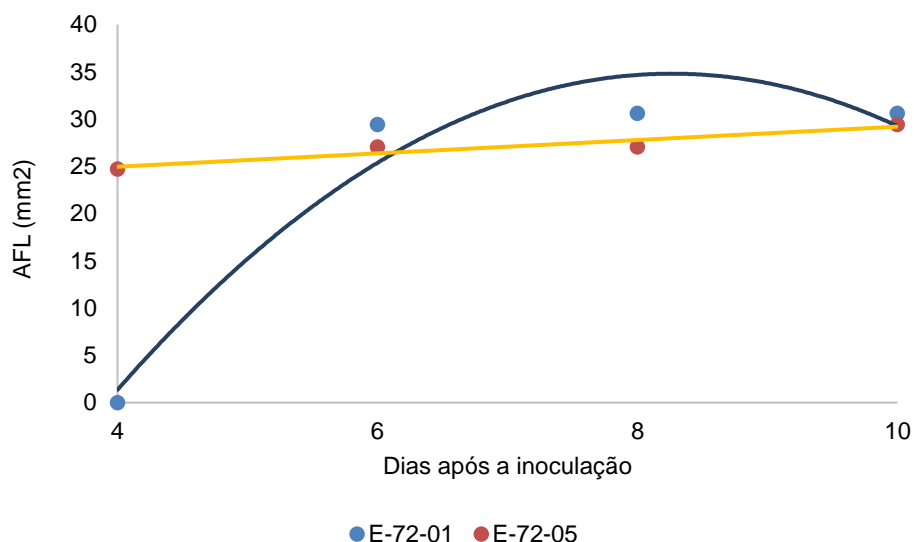


Figura 1. Área foliar lesionada (AFL) (mm²) de *Eucalyptus grandis* cv. 'GG 100' após inoculação com disco de ágar contendo micélio de *P. grandis-urophylla* (isolados E-72-01 e E-72-05) dos 4 aos 10 DAI.

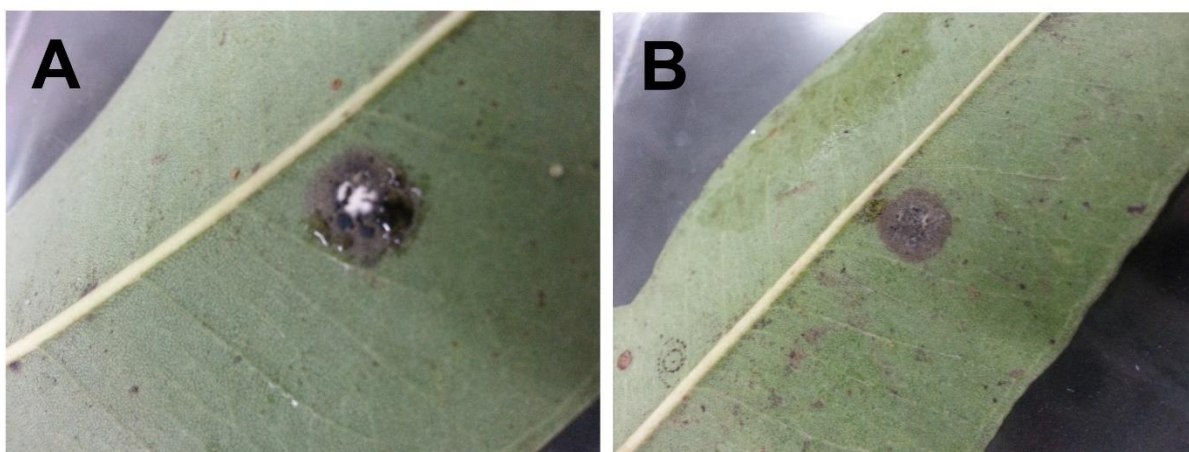


Figura 2. Folhas de *Eucalyptus grandis* cv. 'GG 100' inoculadas com discos de micélio de *P. grandis-urophylla* aos 10 DAI apresentando sintomas típicos da doença: lesões necróticas escuras ou marrom-escuras contendo acérvulo e micélio do fungo. A) E-72-01. B) E-72-05.

Após as folhas serem submetidas à metodologia de inoculação de discos de micélio de isolados de *P. grandis-urophylla*, notou-se que os sintomas típicos da doença causada pelo gênero *Pestalotiopsis* foram reproduzidos, o qual é caracterizado por manchas necróticas de coloração marrom escura (CARVALHO et al., 2019), correspondendo ao desenvolvimento do acérvulo do fungo (SILVA et al., 2022). Estudos similares a este já foram desenvolvidos por outros autores na cultura do eucalipto, em contrapartida, com a utilização de outras espécies de *Pestalotiopsis* (ALONSO, et al., 2009; SUWANNARACH et al., 2012; MORALES-RODRÍGUEZ et al., 2019). Entretanto, após as caracterizações publicadas por Carvalho et al. (2019), verificou-se que a espécie apresentando este padrão de lesões, a com morfologia semelhante tratava-se de *P. grandis-urophylla*.

Para exemplificar outras situações envolvendo este gênero fúngico podemos citar o trabalho de YUAN (1996), o qual demonstrou a patogenicidade de *P. disseminata* e *P. neglecta*

associados às lesões de *Eucalyptus alba* e *Eucalyptus pellita*. Outro aspecto interessante de se mencionar reside na diferença do tamanho das lesões encontradas no presente trabalho (29 a 30 mm² aos 10 DAI) com o reportado em diferentes trabalhos, a exemplo do relatado no trabalho de El-Argawy (2015), o qual reportou lesões com 2,33 cm de diâmetro (equivalente à 426 mm²) em folhas de goiaba cv. Balady provocadas por *P. microspora*. O ponto de convergência fica registrado no trabalho de Carvalho et al. (2019), onde isolados de *P. grandis-urophylla* apresentaram 12 a 27 mm² de área foliar lesionada aos 10 DAI.

Quanto ao tamanho da área foliar lesionada não houve diferença estatística entre os isolados E-72-01 e E-72-05, uma justificativa para tal evento reside no fato de estes terem sido coletados e isolados a partir de um mesmo local geográfico, isto é, podem estar relacionados geneticamente. Outro ponto que merece destaque é o fato de os isolados terem se ajustado a modelos diferentes na curva de progresso da doença, o que foi neutralizado pelo fato

de apresentarem AACPD similar. Este evento já era esperado, entretanto foi menos sutil quando comparado ao trabalho de Carvalho et al. (2019), os quais observaram diferença entre os tamanhos de lesões aos 10 DAI.

Embora condições de laboratório não possam simular perfeitamente as condições do ambiente natural (KEITH et al., 2006), a reação de isolados de fitopatógenos a diferentes fatores físicos, ou os seus níveis de virulência fornecem subsídios para estudos relacionados à epidemiologia das doenças causadas por eles em campo condições (TERAMOTO et al., 2013). Outro ponto importante a se ressaltar consiste que ambas as técnicas de inoculação, seja via suspensão de conídios (SILVA et al. 2022) ou via inoculação de disco de ágar contendo micélio do patógeno (SERRA & COELHO, 2007; CAVALHO et al., 2019) obtiveram êxito.

Conclusão

A metodologia de inoculação de disco de micélio contendo *P. grandis-urophylla* proporcionou a reprodução dos sintomas típicos da doença e pode servir de parâmetro para novos testes de patogenicidade com esta espécie fúngica. Não houve diferença entre os isolados quanto a virulência aos 10 DAI.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Estadual de Goiás (UEG) pelo suporte financeiro dado à pesquisa.

Referências

ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T. F. Clonagem e doenças do eucalipto. 2. ed. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 2009. 500p.

ALONSO, R.; TISCORNIA, S.; ALFENAS, A.C.; BETTUCCI, L. Fungi associated to bark lesions of *Eucalyptus globulus* stems in plantations from Uruguay. Revista Árvore, v.33, n.4, p.591-597, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622009000400001>

BIZI, R. M.; GRIGOLETTI JUNIOR, A.; AUER, C. G. Seleção de fungicidas para o controle de oídio em Eucalipto. Pesquisa Florestal, v. 51, p.100-107. 2005.

CARVALHO, D.D.C.; ALVES, E.; BATISTA, T.R.S.; CAMARGOS, R.B.; LOPES, E.A.G.L. Comparison of methodologies for conidia production by *Alternaria alternata* from citrus. Brazilian Journal of Microbiology, v.39, p.792-798, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822008000400036>

CARVALHO, D.D.C.; OLIVEIRA, R. M.; MARQUES, M. G.; MILAN, M. D.; PINHO, D. B.; DIANESE, E. C. Molecular, morphophysiological and pathogenic characterization of eucalypt *Pestalotiopsis grandis-urophylla* isolates, a new species. Tropical Plant Pathology, v. 44, n. 1, p.132–139, 2019. <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00277-0>

EL-ARGAWY, E. Characterization and control of *Pestalotiopsis* spp. the causal fungus of guava scabby canker in el-beheira governorate, Egypt. International Journal of Phytopathology, v.4, n.3, p.121-136, 2015.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia, v.35, p.1039-1042, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

JEEWON, R; LIEW, E.C.Y.; HYDE, K.D. Phylogenetic evaluation of species nomenclature of *Pestalotiopsis* in relation to host association. Fungal Diversity, n.17, p.39-55, 2004.

KEITH, L. M.; VELASQUEZ, M. E.; ZEE, F. T. Identification and characterization of *Pestalotiopsis* spp. causing scab disease of guava, *Psidium guajava*, in Hawaii. Plant Disease, v.90, p.16-23, 2006. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0016>

KHARWAR, R.N.; GOND, S.K.; KUMAR, A.; MISHRA, A. A comparative study of endophytic and epiphytic fungal association with leaf of *Eucalyptus citriodora* Hook, and their antimicrobial activity. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v.26, p.1941-1948, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0374-y>

LIMA, C.S.; SOUZA, P.E.; BOTELHO, A.O. Fungos da família Pucciniaceae causadores de ferrugem em plantas medicinais. Fitopatologia Brasileira, v.29, p.499-503, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582004000500005>

MORALES-RODRÍGUEZ, C.; VALLE, M.D.; ALEANDRI, M.P.; VANNINI, A. *Pestalotiopsis biciliata*, a new leaf pathogen of *Eucalyptus* spp. recorded in Italy. Forest Pathology, v.49, p. 1-7. 2019. <https://doi.org/10.1111/efp.12492>

SANTOS, A.F.; AUER, C.G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle. Colombo: Embrapa Florestas. Circular Técnica, 45. 2001. 20p.

SERRA, I.M.R.S.; COELHO, R.S.B. Mancha de *Pestalotiopsis* em helicônia: caracterização da doença e potenciais fontes de resistência. Fitopatologia Brasileira, v.32, p.44-49, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582007000100006>

SILVA, L.R.; MARQUES, M.G.; DIANESE, E.C.; RODRIGUES, F.; OLIVEIRA, T.A.S.; DUARTE, E.A.A.; SANTOS, S.X.; CARVALHO, D.D.C. Pathogenic Characterization of *Pestalotiopsis grandis-urophylla* Isolates Using Mycelial Suspension. Journal of Agricultural Science, v.14, n.9, p.65-70, 2022. <https://doi.org/10.5539/jas.v14n9p65>

SUWANNARACH, N.; KUMLA, J.; BUSSABAN, B.; LUMYONG, S. New report of leaf blight disease on eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) caused by *Pestalotiopsis virgatula* in Thailand. Canadian Journal of Plant Pathology, v.34, p.306-309, 2012. <https://doi.org/10.1080/07060661.2012.680501>

TERAMOTO, A.; PARISI, M.C.M.; CUNHA, M. G. Caracterização fisiológica de isolados de *Corynespora cassiicola*. Tropical Plant Pathology, v.38, n.4, p.313-322, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762013005000012>

YUAN, Z.Q. Fungi and associated tree diseases collected from Melville Island, Northern Territory, Australia. Australian Systematic Botany, v.9, p.337-360, 1996. <https://doi.org/10.1071/SB9960337>