

## REAÇÃO DE CLONES DE ACEROLEIRA A *Lasiodiplodia theobromae*

Eveline Nogueira Lima<sup>1</sup>, Joilson Silva Lima<sup>2</sup>, Ingrid Bernardo de Lima<sup>3</sup>, Maria Emília Bezerra de Araújo<sup>4</sup>, Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil. E-mail: evelinenlima@gmail.com

<sup>2</sup>Doutorando em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil

<sup>3</sup>Doutoranda em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil

<sup>4</sup>Mestranda em Agronomia/ Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil

<sup>5</sup>Doutora em Melhoramento Vegetal/ Professora da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil

Recebido em: 30/09/2014 – Aprovado em: 15/11/2014 – Publicado em: 01/12/2014

### RESUMO

Um dos fatores limitantes nas áreas produtoras de acerola trata-se da doença causada pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae*. A resistência genética é o método mais promissor no controle deste patógeno. Entretanto, a seleção de clones resistentes em campo é onerosa e demorada. A inoculação artificial em mudas jovens pode ser uma alternativa para a superação desse problema. Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar a variabilidade genética da aceroleira quanto à reação a *L. theobromae* utilizando o método de inoculação artificial. O trabalho foi realizado no telado e no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Agroindústria Tropical. Os resultados mostraram haver variabilidade genética entre clones de aceroleira quanto à reação a *L. theobromae*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Inoculação, *Malpighia emarginata*, Variabilidade Genética.

### REACTION OF CLONES OF INDIAN CHERRY THE *Lasiodiplodia theobromae*

#### ABSTRACT

One of the main constrain in production of Indian cherry is increase of disease caused by *Lasiodiplodia theobromae*. Genetic resistance is the most feasible way to manage this plant pathogen. Meanwhile, selection of resistant plants is both costly and time consuming. Therefore, artificial inoculation of juvenile plants should be necessary to overcome this constraint. This work had the objective of evaluate genetic variability as to the reaction to *L. theobromae* using an artificially developed method of inoculation. The study was carried at Embrapa Agroindústria Tropical. The results showed to exist variability among Indian cherry clones in the reaction to *L. theobromae*.

**KEYWORDS:** Inoculation. *Malpighia emarginata*. Genetic Variability.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, o cultivo de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) se caracterizou por um crescimento rápido e desordenado dos pomares, com mudas obtidas via sexuada, originando alta segregação no porte e na produção da planta, no tamanho, forma, cor e teor de vitamina C dos frutos (MACIEL et al., 2008), como também na suscetibilidade as doenças.

Na cultura da aceroleira são relatadas diversas doenças, destacando-se as causadas por fungos, como a antracnose, a podridão dos frutos e a podridão seca das hastes. A antracnose é causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. e *C. dematium* (Pers. ex Fr.) Grove que, segundo ALVES et al. (1995), é a doença mais difundida no Brasil. No estado do Ceará, HOLANDA et al. (1997) realizaram o mapeamento das doenças da aceroleira nas zonas fisiográficas do Sertão, Litoral e Serras Úmidas, sendo constatado a podridão dos frutos e a podridão seca das hastes causadas, respectivamente, por *Rhizopus nigricans* Ehr. e *Lasiodiplodia theobromae* (Pat) Griff. & Maubl. (= *Botryodiplodia theobromae* Pat.).

A podridão seca das hastes, causada por *L. theobromae* em aceroleira, vem assumindo considerável importância econômica, por provocar a morte de um grande número de plantas, tanto em pomares caseiros como em plantios comerciais. A seca do ramo inicia-se a partir da extremidade, avançando em direção ao caule. A infecção pode, raramente, se iniciar pelo sistema radicular (FREIRE & CARDOSO, 2003).

O fungo *L. theobromae* é endofítico em vários hospedeiros, visto que foi isolado de tecidos assintomáticos. Fungos endofíticos são capazes de colonizar tecido vegetal saudável sem exibir patogenicidade, inclusive podendo sobreviver dessa forma por longo tempo (CARDOSO et al. 2009).

*L. theobromae* trata-se de um patógeno que apresenta significativa diversidade genética. MELO (2010), trabalhando com uma população de *L. theobromae* associado ao cajueiro, observou uma grande variação deste fitopatógeno. LIMA (2011) e LIMA et al. (2012; 2013) também encontraram alta variabilidade cultural, morfológica e patogênica do fungo, trabalhando com isolados de frutíferas tropicais. Populações de fungos com alto nível de diversidade são difíceis de controlar, uma vez que podem adaptar-se mais rapidamente a qualquer medida de controle, seja química ou através da introdução de hospedeiro resistente (MARQUES et al., 2010). Entretanto, para alguns patossistemas, principalmente em áreas onde a doença ocorre de forma generalizada, a melhor saída é o uso de material genético resistente (PAIVA et al., 2008; CARDOSO et al., 2006).

Segundo PAIVA et al. (2008) o processo de obtenção de clones resistentes requer programas de melhoramento demorados e onerosos, já que os primeiros sintomas são observados a partir do segundo ano após o plantio. A inoculação artificial em plantas jovens, portanto, torna-se necessária para a superação desses problemas. Testes visando definir uma metodologia de inoculação foram desenvolvidos, revelando aspectos preliminares para sua viabilização (COSTA, 2006).

As metodologias de inoculação artificial são de grande importância, principalmente nos programas de melhoramento de plantas visando resistência a patógenos, pois estes trabalhos podem ser executados utilizando plantas jovens e, em qualquer época do ano, viabilizando e reduzindo os custos destes programas. Entretanto, eles necessitam ser ajustados para cada patossistema patógeno/planta hospedeira (SOUSA et al., 2003; LIMA, 2011), uma vez que o surgimento de novas

raças do patógeno coloca em risco a resistência adquirida por novas variedades ou híbridos (ALZATE-MARIN et al., 2005).

Este trabalho objetivou a identificação de variabilidade genética em genótipos de mudas de aceroleira, inoculadas artificialmente, quanto à reação a *Lasiodiplodia theobromae*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Embrapa Agroindústria Tropical, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, no Laboratório de Fitopatologia (crescimento e esporulação do fungo) e em casa de vegetação (estudos dos métodos de inoculação).

Foram utilizados seis clones de mudas aceroleira [10(38/6/1); 11(38/7/6); 13(47/5/2); 14(51/3/4); 32(68/1/15) e 36(12/7/15)]. Todos estes provenientes da estação experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, de Pacajus-CE. As mudas de aceroleira foram enxertadas sobre porta enxerto e aclimatadas em casa de vegetação a uma temperatura média de 30 °C, umidade de 70% e receberam uma lâmina d'água de 15 mm diários por meio de microaspersores.

Para a obtenção do fungo *L. theobromae*, foram feitas avaliações no jardim de sementes de aceroleira, onde foi coletado material vegetal com sintomas do ataque do patógeno. Em seguida, esse material infectado foi levado para o Laboratório de Fitopatologia/Embrapa/Fortaleza onde se procedeu com o isolamento do fitopatógeno. Após o crescimento e identificação do mesmo, este foi usado no teste de patogenicidade nas mudas de aceroleira. Para o teste de patogenicidade, o método utilizado para inoculação artificial das mudas foi o da Furadeira (LIMA, 2011).

A inoculação foi realizada perfurando-se o caule das plantas com auxílio de uma furadeira elétrica e broca de 2 mm de diâmetro, 13 cm acima do ponto de enxertia das mudas de aceroleira, com uma profundidade de 2 mm. Em cada orifício aberto foi colocado um disco de 2 mm de diâmetro com estrutura micelial do fungo, após ter sido cultivado por sete dias em placas de Petri com o meio de cultura BDA. Ficando o inóculo em contato com a estrutura vascular da planta.

Após a inoculação, utilizou-se vaselina sólida para evitar ressecamento do disco de BDA com o inóculo, sendo em seguida o local envolvido com fita de Parafilm®. Após esse procedimento, as plantas inoculadas foram mantidas em telado por um período de 15 dias, com temperatura e umidade relativa de aproximadamente 30° C e 70%, respectivamente.

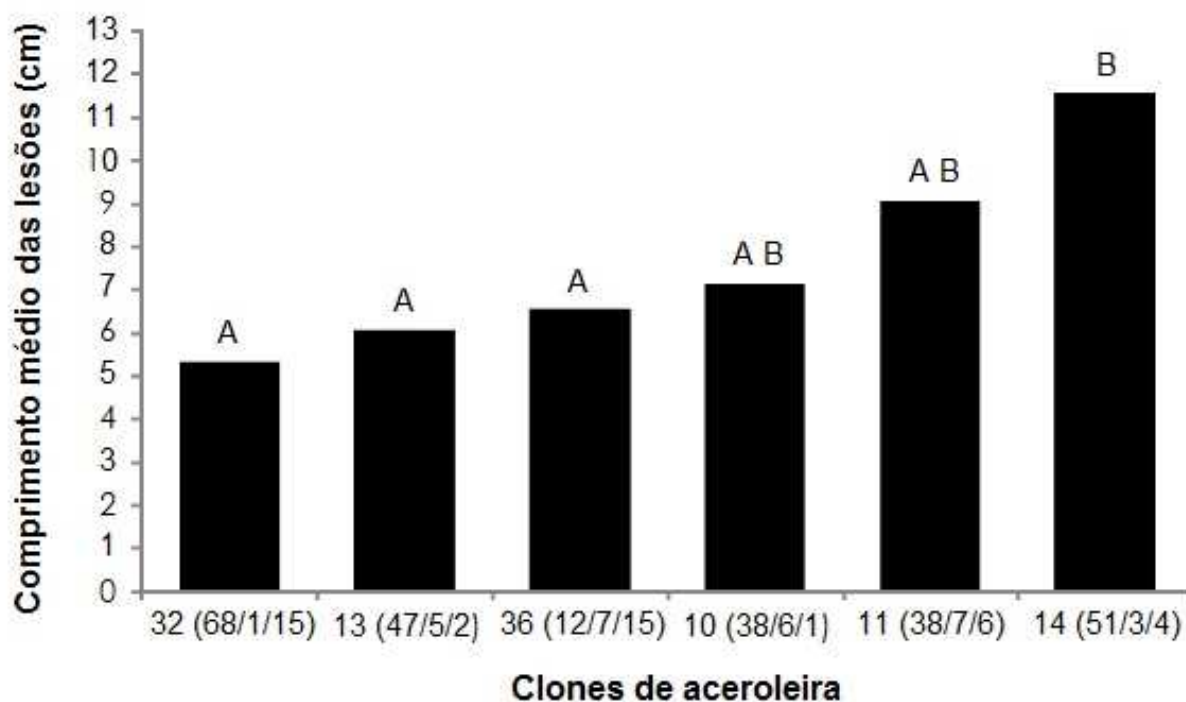
A avaliação da agressividade do patógeno com base nos sintomas foi realizada a partir do 15º dia após a inoculação do fungo, por meio da medição do comprimento das lesões internas observadas nas plantas (cm), após corte longitudinal do caule das mesmas. Com auxílio de um canivete, foi feita a dissecação das plantas através de um corte longitudinal do caule. A partir do ponto de inoculação realizou-se a medição, com auxílio de régua milimetrada, do comprimento interno da lesão, acima e abaixo do ponto de inoculação do patógeno. Foi realizado o plaqueamento de fragmentos, a partir das lesões avaliadas nas mudas, visando comprovar a presença do fungo nos tecidos infectados.

Para o experimento, foram utilizadas 10 repetições de cada clone, inoculados com um isolado do fungo *L. theobromae*, conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por meio do teste de Tukey, ao nível de 1% de significância, utilizando o programa estatístico Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença estatística entre os clones de aceroleira inoculados, de acordo com as lesões apresentadas pelas mudas após quinze dias de inoculação. Foram observados sintomas de escurecimento dos vasos condutores e até morte da planta.

O comprimento médio das lesões nas mudas de aceroleira inoculadas com *L. theobromae* variou de 5,3 cm a 11,53 cm (Figura 1).



**FIGURA 1.** Comprimento médio das lesões em mudas de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC) após 15 dias de inoculadas com *L. theobromae*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de significância. CV(%) = 24,53.

Nas mudas dos clones 10(38/6/1), 11(38/7/6), 13(47/5/2), 32(68/1/15) e 36(12/7/15) inoculadas com o fungo, o comprimento das lesões foi de 7,13 cm, 9,06 cm, 6,04 cm, 5,30 cm e 6,52 cm, respectivamente, apresentando os menores comprimentos de lesão não diferindo estatisticamente entre si. Os clones 10(38/6/1), 11(38/7/6) e 14(51/3/4) mostraram-se igualmente mais susceptíveis. Nesses clones, *L. theobromae* apresentou maior agressividade, causando lesão de maior comprimento. Entretanto, o clone 14(51/3/4) foi o mais suscetível, com valor de comprimento de lesão que diferiu dos valores dos clones 13(47/5/2), 32(68/1/15) e 36(12/7/15), sendo estes os materiais resistentes. PEREIRA et al. (2006), estudando a patogenicidade de isolados de *L. theobromae* em diferentes fruteiras, observaram variação na agressividade dos mesmos. Essa variação ocorre entre isolados de *L. theobromae* em diferentes espécies hospedeiras, como também em cultivares da mesma espécie. Alguns autores também foram capazes de encontrar indivíduos de *Eucalyptus* sp. resistentes à ferrugem entre e dentro de espécies/procedências e de progênies suscetíveis (FERREIRA, 1983; FERREIRA & SILVA, 1982).

Segundo MARTINS et al. (2011), a severidade da doença medida pelo comprimento médio da lesão é uma variável útil na indicação das respostas de plantas inoculadas com o fungo *L. theobromae*. As plantas jovens (mudas) se

mostraram resistentes nas condições da casa de vegetação. Então, se observarmos uma planta adulta nas condições das quais as mudas foram expostas, o esperado é que a resposta seja a mesma. Trabalhos com inoculação de *L. theobromae* em mudas de fruteiras foram realizados com sucesso tanto para testes de patogenicidade quanto para seleção de materiais genéticos resistentes (LATORRE & TOLEDO, 1984; RODRIGUES, 2003; ÚRBEZ-TORRES et al., 2008).

Quanto reisolamento dos materiais infectados após inoculação houve o crescimento do fungo comprovando a patogenicidade do patógeno. MARTINS *et al.* (2011), trabalhando com inoculação em mudas de cajueiro com o fungo *L. theobromae* conseguiu reisolamento do patógeno em meio de cultura BCA (batata-cenoura-ágar) em 90% das amostras, demonstrando que *L. theobromae* foi realmente o causador do sintoma.

A consistência dos resultados apresentados demonstra que é possível a seleção de genótipos de aceroleira, resistentes à podridão seca das hastes, através de inoculação artificial de *L. theobromae* em mudas, sob condições controladas. Com isso, tem-se uma economia de tempo e recursos nessa fase do programa de melhoramento genético, que procura identificar genótipos a esta fitomoléstia.

### CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que existe variabilidade genética entre clones de aceroleira quanto à reação a *Lasiodiplodia theobromae*.

### REFERÊNCIAS

ALVES, R.E. **Acerola no Brasil: produção e mercado**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1995, 160 p.

ALZATE-MARIN, A.L.; CERVIGNI, G.D.L.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p. 333-342, 2005.

CARDOSO, J.E.; BEZERRA, M.A.; VIANA, F.M.P.; SOUSA, T.R.M.; CYSNE, A.Q.; FARIAS, F.C. Ocorrência endofítica de *Lasiodiplodia theobromae* em tecidos de cajueiro e sua transmissão por propágulos. **Summa Phytopathologica**, v.35, p. 262-266, 2009.

CARDOSO, J.E.; PAIVA, J.R.; CAVALCANTI, J.J.V.; SANTOS, A.A.; VIDAL, J.C. Evaluation of resistense in dwarf cashew to gummosis in north-eastern Brazil. **Crop Protection**, v.25, p. 855-859, 2006.

COSTA, J.V.T.A. **Metodologia de avaliação de clones de cajueiro para resistência à resinose**, 2006, 40p. (Monografia de graduação)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.

FERREIRA, D. **SISVAR software: versão 4.6**. Lavras: DEX/UFLA, Software, 2003.

FERREIRA, F.A. Ferrugem do eucalipto. **Revista Árvore**, v. 7, p. 91- 109, 1983.

FERREIRA, F.A.; SILVA, A.R. Comportamento de procedências de *Eucalyptus grandis* e de *Eucalyptus saligna* à ferrugem (*Puccinia psidii*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 7, p. 23-27, 1982.

FREIRE, F.C.O.; CARDOSO, J.E. Doenças do coqueiro. In: Freire, F.C. O, Cardoso, J.E. Viana, F.M.P. (Ed.) Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial. Brasília: **Embrapa Informações Tecnológica**, p. 191-226, 2003.

HOLANDA, Y.C.A.; PONTES, J.J. DA.; SILVEIRA FILHO, J. Doenças da acerola (*Malpighia glabra* L.) no Estado do Ceará, Brasil. **Fitopatologia Brasileira** v. 22, p. 453, 1997.

LATORRE, B. A.; TOLEDO, M. V. Occurrence and relative susceptibility of apples cultivars to *Botryosphaeria* canker in Chile. **Plant Disease** v. 68, p. 36-39, 1984.

LIMA, J.S.; CARDOSO, J.E.; MOREIRA, R.C.; ALVS, E.S.; MELO, J.G.M. Caracterização cultural de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* e patogenicidade em plantas de aceroleira. **Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n.1, p.10, 2012.

LIMA, J.S. **Diversidade cultural, morfológica e patogênica de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* associados a frutíferas tropicais**. 2011, 57p. (Dissertação de Mestrado)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.

LIMA, J.S.; MOREIRA, R.; CARDOSO, J.E.; MARTINS, M.V.V.; VIANA, F.M.P. Caracterização cultural, morfológica e patogênica de *Lasiodiplodia theobromae* associado a frutíferas tropicais. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 2, p. 81-88, 2013.

MACIEL, M. I. S.; SILVA W.S. DA.; SOUZA K.A. DE.; MELO E. DE. A.; LIMA V.L.A.G.DE.; PEDROSA, E.M.R. Modificações pós-colheita em frutos de 16 genótipos de aceroleira armazenados sob refrigeração. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.3, p. 157-163, 2008.

MARQUES, M.W.; LIMA, N.B.; GONÇALVES, A.M.; SILVA, M.B.; FILHA, M.S.X.; LIMA W.G.; CÂMARA, M.S. Compatibilidade vegetativa de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* associados à cultura da mangueira. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, Recife. **Resumos...** Recife: UFRPE v. único, CD\_ROM, 2010.

MARTINS, M.V.V.; CARDOSO, J.E.; CAVALCANTI, J.J.V.; VIDAL NETO, F.DAS. C.; MELO, J.G. M.; LIMA, J.S. Caracterização de Progênie Híbrida de Cajueiro-Anão Precoce quanto à Infecção por *Lasiodiplodia theobromae*. Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 2011, 19.p (**Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**).

MELO, J.G.M.. **Diversidade genética de *Lasiodiplodia theobromae* associado ao cajueiro**. 2010, 60 p. (Dissertação de Mestrado)- Universidade federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.

PAIVA, J.R.; CARDOSO, J.E.; MESQUITA, A.L.M.; CAVALCANTI, J.J.V.; SANTOS, A.A. Desempenho de clones de cajueiro-anão precoce no semiárido do Estado do Piauí. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, p. 295-300, 2008.

PEREIRA, A.I.; SILVA, G.S.; RIBEIRO, V.Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 572-578, 2006.

RODRIGUES, R. **Caracterização morfológica e patológica de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., agente causal das podridões de tronco e raízes da videira**. 2003, 53p. (Dissertação de Mestrado)- Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, Brasil.

SOUSA, T.R. DE.; CARDOSO, J.E.; SOUZA, R.N.M.; CYSNE, A.Q. Ocorrência endofítica de *Lasiodiplodia theobromae* em tecidos de cajueiro. In: Encontro de iniciação científica da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, v. único, CD-ROM, 2006. no texto consta 2003.

ÚRBEZ-TORRES, J.R.; LEAVITT, G.M.; GUERRERO, J.C.; GUEVARA, J., GUBLER, W.D. Identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata*, the causal agents of Bot Canker Disease of grapevines in Mexico. **Plant Disease**, v. 92, p. 519-529, 2008.