

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA

**Efeito e modo de ação dos fosfitos de potássio e da  
ulvana sobre a Mancha Foliar da Gala (*Colletotrichum  
gloeosporioides*) em macieira**

**Leonardo Araújo**

Monografia apresentada como  
requisito parcial para a obtenção de  
grau de Engenheiro Agrônomo no  
Curso de Agronomia, Centro de  
Ciências Agrárias, Universidade  
Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, julho de 2007

**Efeito e modo de ação dos fosfitos de potássio e da  
ulvana sobre a Mancha Foliar da Gala (*Colletotrichum  
gloeosporioides*) em macieira**

**Leonardo Araújo**

**Termo de Aprovação**

Monografia apresentada como requisito parcial para a obtenção de grau de Engenheiro Agrônomo no Curso de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

Monografia apresentada e aprovada no dia 03 de julho de 2007.

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**MARCIEL JOÃO STADNIK**  
Prof. Dr., Depto. De Fitotecnia/CCA/UFSC

---

**CÉSAR FALCONI SAA**  
Prof. Dr., ESPE (Univ. Equador)

---

**ROSA MARIA VALDEBENITO-SANHUEZA**  
Pesq. Dr(a) Embrapa Uva e Vinho

## IDENTIFICAÇÃO DO ESTÁGIO

**Estagiário:** Leonardo Araújo

**email:** leoara02@yahoo.com.br

**Supervisor e Orientador (Fase externa):**

Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza

Prof. Marciel João Stadnik

**Supervisor e Orientador (Fase interna):**

Prof. Marciel João Stadnik

**Área de Estágio:** Fitotecnia / Fitopatologia

**Fase externa:** Estação de Fruticultura Temperada da Embrapa Uva e Vinho (19/03/07-18/05/07), com uma carga horária de 352 h.

**Endereço:**

Estação de Fruticultura Temperada da Embrapa Uva e Vinho

CP 1513, CEP 95.200-000, Vacaria-RS

Telefone: 54 - 32321715

Home page: [www.cnpuv.embrapa.br](http://www.cnpuv.embrapa.br)

**Fase interna:** CCA/UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina, (21/05/07-18/06/07), com uma carga horária de 176 h.

**Endereço:**

Laboratório de Fitopatologia CCA/UFSC

Rodovia Admar Gonzaga, 1346. Cx. Postal 476

CEP: 88040-900 – Florianópolis – SC

Telefone: 55 – 48 – 3331 5423

Home page: [www.cca.ufsc/labfitop](http://www.cca.ufsc/labfitop)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina e a todos os funcionários que diariamente fazem desta instituição um lugar comprometido com a formação ética e profissional de seus estudantes.

Ao Prof. Dr. Marciel João Stadnik, pelos conhecimentos técnicos transmitidos, e pela oportunidade que me deu de trabalhar no Laboratório de Fitopatologia.

A Dr(a) Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza, pela oportunidade de estagiar na Embrapa Uva e Vinho com suas orientações.

As Prof. Maria Santos Reis Bonorino Figueiredo e Tânia Mara Fischer Günther pelos ensinamentos passados, e pela chance que me deram em trabalhar como monitor da disciplina de Bioquímica (BQA-5114).

Agradeço a todos os integrantes do Laboratório de Fitopatologia.

A todos os colegas que fiz na faculdade, em especial aos da minha turma.

E especialmente agradeço aos meus pais, minha namorada e amigos pelo amor, carinho, compreensão e apoio em minha vida, nestes cinco anos na Universidade.

## Resumo

O estágio foi compreendido em duas fases, na primeira parte (fase externa), conduziu-se os testes na Estação Experimental de Fruticultura Temperada (Vacaria – RS) da Embrapa Uva e Vinho do dia 19 de março a 18 de maio de 2007. E na segunda parte (fase interna) orientou-se os ensaios no Laboratório de Fitopatologia (Labfitop) no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) do dia 21 de maio a 18 de junho de 2007.

Na Embrapa testou-se o efeito de formulações comerciais de fosfitos de potássio no controle da Mancha Foliar da Gala (MFG) em experimentos *in vivo* e *in vitro*. Mudanças de macieira enxertadas em cv. Gala, foram inoculadas com uma suspensão de  $3 \times 10^5$  conídios/mL de *C. gloeosporioides*. Após 48h, as plantas inoculadas foram pulverizadas com as seguintes formulações de N-P-K e doses comerciais dos fertilizantes: 0-40-20 (Phós-k<sup>®</sup>; 1,5µL/mL), (Biosul<sup>®</sup>; 1,5µL/mL); 0-30-20 (Nutex<sup>®</sup>; 2,5µL/mL), (Biosul<sup>®</sup>; 1,5µL/mL); 0-20-20 (Nutex<sup>®</sup>; 3,0µL/mL), (Biosul<sup>®</sup>; 2µL/mL); água (testemunha). Em outro teste, as plantas foram inoculadas e após 48 h, foram tratadas somente com os fosfitos de potássio de formulação 0-40-20. Avaliou-se a percentagem de manchas e número de manchas necróticas de quinze folhas de um ramo aos 5, 6, 7, 8 e 10 dias após a inoculação (dai). Calculou-se ainda a TIA (Taxa de incremento de área foliar necrosada) e TIN (Taxa de incremento de número manchas necróticas)

Nos testes *in vitro*, foram utilizadas doses semelhantes de íon fosfito, das formulações 0-40-20: (1,5 µL/mL), 0-30-20: (2,5 µL/mL), 0-20-20: (3,0 µL/mL). Os fosfitos foram incorporados em meio BDA a 45°C e um disco de 8mm contendo micélio do fungo foi transferido para o centro de cada placa. Seis dias após, avaliou-se o diâmetro de colônias e IVCM (Índice de Velocidade de Crescimento Micelial). Em outro ensaio depois de incorporado os fosfitos no meio, foi repicado e espalhado com o auxílio de uma alça, 100µL de uma suspensão de conídios de  $1 \times 10^3$  conídios/ml nas placas. Avaliou-se o número de colônias formadas aos 2,3,4,5 e 6 dias após a repicagem e TIC (Taxa de incremento de colônias) .

Na UFSC, testou-se o efeito da ulvana e do fosfito de potássio (0-40-20) em aplicações curativas e preventivas sobre (*C. gloeosporioides*). Para verificar o efeito curativo, aplicou-se fosfito (3,0 µL/mL) ou ulvana 48,72 h após a inoculação. Na verificação do efeito preventivo, plântulas foram pulverizadas com ulvana (10 mg/mL) e inoculadas com uma suspensão de  $3 \times 10^5$  conídios/mL nove dias após o tratamento.

Para averiguar a efeito curativo aos 8 dai, avaliou-se a percentagem de área foliar necrosada, na plântula inteira. Para verificar o efeito preventivo, a porcentagem de área foliar necrosada foi avaliada aos 8 dai em folhas inferiores (diretamente tratadas) e superiores (protegidas com saco plástico no momento da aplicação - efeito sistêmico).

Os dados obtidos na Embrapa demonstram que os fosfitos de potássio têm ação fungistática sobre *C. gloeosporioides*, pois causam diminuição no crescimento micelial e atraso na formação de colônias *in vitro*. Já *in vivo*, foi observado controle significativo na severidade da MFG, em aplicações com fosfito de potássio de formulação 0-40-20. As características ácidas dos fosfitos de potássio de formulação 0-40-20 (pH 3), podem interferir o desenvolvimento do *C. gloeosporioides* tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

Os resultados obtidos na UFSC indicam que aplicações pós-infeccionais de fosfito de potássio as 48 ou 72 hai, não reduzem a severidade da MFG em plântulas de macieira. Já os resultados do tratamento pós-infeccional com ulvana as 48 ou 72 hai, reforçam os estudos de Araújo *et al.* (2007), que afirmaram que este polissacarídeo não afeta diretamente o desenvolvimento da MFG. Em aplicações preventivas com ulvana, não foi confirmando a hipótese de que aumentando o intervalo de tempo (de 6 para 9 dias) entre o tratamento e a inoculação, resultaria em um maior nível de controle do desenvolvimento da MFG em plântulas (indução resistência).

## Sumário

Lista de tabelas	ix
Lista de figuras	x
Resumo	v
1- Introdução e Justificativa	01
2- Revisão Bibliográfica	02
2.1- A cultura da macieira na Brasil	02
2.2- Mancha Foliar da Gala ( <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> )	02
2.3- Controle	04
2.4- Fosfito de potássio	04
2.5- Algas na Agricultura	06
2.6- <i>Ulva</i> sp e <i>Ulvana</i>	07
2.7- Indução de Resistência	07
3- Descrição da empresa	08
4- Avaliação das diferentes formulações de fosfitos de potássio, sobre <i>C. gloeosporioides</i>	10
4.1-Introdução e objetivos	10
4.2- Material e Métodos	10
4.2.1- Fosfitos de potássio	11
4.2.2- Cultivo e obtenção de inóculo de <i>C. gloeosporioides</i>	11
4.2.3- Avaliação in vitro das diferentes formulações de fosfitos de potássio	12
4.2.4- Avaliação do tratamento pós-infeccional	13
4.2.4.1- Avaliação do tratamento pós-infeccional, com diferentes formulações e doses comerciais de fosfito de potássio	14
4.2.4.2- Avaliação do tratamento pós-infeccional, com fosfitos	14

de potássio 0-40-20 (N-P-K)	
4.2.5- Delineamento experimental e análise estatística	15
4.3- Resultados	15
4.3.1- pH dos fosfitos de potássio	15
4.3.2- Efeito dos fosfitos de potássio sobre o crescimento micelial	16
4.3.3- Efeito dos fosfitos de potássio sobre a formação de colônias	18
4.3.4- Efeito do tratamento pós-infeccional com diferentes formulações, marcas e doses de fosfito de potássio	20
4.3.5- Efeito pós-infeccional dos fosfitos de potássio 0-40-20 (N-P-K)	24
4.4- Discussão:	27
5- Avaliação do tratamento pós-infeccional e preventivo do fosfito de potássio e da ulvana , sobre <i>C. gloeosporioides</i>	30
5.1- Introdução e objetivos	30
5.2- Material e Métodos	31
5.2.1- Fosfito de potássio e Ulvana	31
5.2.2- Cultivo de plântulas	31
5.2.3- Avaliação do tratamento pós-infeccional com fosfito de potássio e ulvana	32
5.2.4- Avaliação do tratamento preventivo com ulvana	32
5.2.5- Delineamento experimental e análise estatística	33
5.3- Resultados	33
5.3.1- Efeito do tratamento pós-infeccional do fosfito de potássio e ulvana	33
5.3.2 - Efeito do tratamento preventivo com ulvana	34
5.4- Discussão	35
6- Outras atividades	38



7- Experimentos com problemas	39
8- Considerações finais	40
9- Literatura citada	41
Anexos	46

### Lista de tabelas

Tab.1	Marcas, formulações e doses comerciais dos fosfitos utilizados nos experimentos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .	11
Tab.2	pH dos fosfitos de potássio, medido com o auxílio de um pH metro, com doses semelhantes de íon fosfito, presente nas diferentes formulações 0-40-20: (1.5 µL/mL); 0-30-20: (2.5 µL/mL); 0-20-20: (3 µL/mL).	15
Tab.3	Efeito das diferentes formulações de fosfito de potássio incorporado ao meio BDA, sobre o diâmetro micelial e índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	16
Tab.4	Tabela 4: Efeito das diferentes formulações de fosfito de potássio incorporado ao meio BDA, sobre a formação e taxa de incremento de colônias (TIC) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	19
Tab.5	Efeito do tratamento pós-infeccional (48 h após a inoculação), com diferentes formulações e doses comerciais de fosfitos de potássio, sobre a evolução da área foliar necrosado em mudas de macieira inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	20
Tab.6	Efeito do tratamento pós-infeccional (48 h após a inoculação), com diferentes formulações e doses comerciais de fosfitos de potássio, sobre a evolução do número de manchas necróticas, em mudas de macieira inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	21
Tab.7	Efeito do tratamento pós-infeccional (48 h após a inoculação),	22

	com diferentes formulações e doses comerciais de fosfitos de potássio sobre taxa de incremento de área foliar necrosada (TIA) e taxa de incremento do número de mancha necróticas (TIN), em mudas de macieira inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	
Tab.8	Coefficientes de correlação entre a área foliar necrosada e número de manchas necróticas, em mudas de macieira tratadas com diferentes formulações (N-P-K) e doses comerciais de fosfitos de potássio, aos 5,6,7,8 e 10 dias após a inoculação.	23
Tab.9	Efeito do tratamento pós-infeccional (48 h após a inoculação), com a formulação 0-40-20 (N-P-K) de fosfitos de potássio sobre a evolução da área foliar necrosada e taxa de incremento de área foliar necrosada (TIA), em mudas de macieira inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	25
Tab.10	Efeito do tratamento pós-infeccional (48 h após a inoculação), com a formulação 0-40-20 de fosfitos de potássio sobre número de manchas necróticas e taxa de incremento de número de mancha necróticas (TIN) em mudas de macieira inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	26
Tab.11	Efeito do tratamento pós-infeccional (48,72 h após a inoculação), com fosfito de potássio e ulvana, sobre a evolução da área foliar necrosada em plântulas de macieira inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	34
Tab.12	Efeito local e sistêmico de ulvana, aplicada nove dias antes da inoculação, sobre a percentagem de tecido foliar necrosado em plântulas, causado por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	34

### **Lista de figuras**

Fig.1	Sintomas iniciais da Mancha Foliar da Gala ( <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ) em plântulas, com manchas de coloração variando de vermelho a roxo.	04
-------	--	----

Fig.2	Área e laboratórios da estação experimental de Fruticultura Temperada, em Vacaria – RS.	09
Fig.3	Estrutura da câmara úmida com umidade e temperatura controlada, utilizada para incubação plantas e frutos.	13
Fig.4	Efeito na redução do tamanho das colônias de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , pela incorporação de diferentes formulações de fosfito de potássio ao meio BDA, em relação testemunha (placa 8), aos sete dias de incubação. Formulações 0-40-20: (placas 2 e 3); 0-30-20: (placas 4 e 5), 0-20-20: (placas 6 e 7). Placa 1, tratamento eliminado dos experimentos.	17
Fig.5	Figura 5: Efeito das diferentes formulações de fosfito de potássio incorporado ao meio BDA, sobre o tamanho das colônias do <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> aos sete dias de incubação. Marcas e formulações de N-P-K dos fertilizantes de fosfito de potássio: (B 40-20: Bio 0-40-20 <sup>®</sup> ); (P 40-20: Phós-k 0-40-20 <sup>®</sup> ); (B 30-20: Bio 0-30-20 <sup>®</sup> ); (N 30-20: Nutex 0-30-20 <sup>®</sup> ); (B 20-20: Bio 0-20-20 <sup>®</sup> ); (N 20-20: Nutex 0-20-20 <sup>®</sup> ). T: Testemunha. Teste SNK (P≤0,05).	17
Fig.6	Progresso da formação de colônias de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> aos 2,3,4,5 e 6 dias, após a repicagem da suspensão de conídios em BDA incorporado com diferentes formulações de fosfitos. Fosfitos de potássio com formulação de N-P-K: 0-40-20 (Média dos tratamentos; Bio 0-40-20 e Phós-k 0-40-20), 0-30-20 (Média dos tratamentos; Bio 0-30-20 e Nutex 0-30-20) e 0-20-20 (Média dos tratamentos; Bio 0-20-20 e Nutex 0-20-20). Test: Testemunha, somente BDA.	18
Fig.7	Controle da área foliar necrosada pela Mancha Foliar da Gala ( <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ), em mudas de macieira tratadas 48 h após a inoculação com a formulação 0-40-20 (N-P-K) dos fosfitos de potássio. As mudas foram avaliadas aos 10 dias após a inoculação. Marcas de fosfitos de potássio de formulação 0-40-20 (N-P-K): (Bio: Bio 0-40-20 <sup>®</sup> ); (Phós-k: Phós-k 0-40-20 <sup>®</sup> ). Teste SNK (P≤0,05).	24

## 1- Introdução e Justificativa

A Mancha Foliar da Gala (*Colletotrichum gloeosporioides*), foi constatada pela primeira vez em pomares brasileiros em 1983 no Paraná, desde então, esta doença se disseminou por todo Brasil (Leite *et al.*, 1988), onde vem causando sérios prejuízos para os produtores de maçã pelo intenso desfolhamento da macieira 'Gala', causando prejuízos na produção atual e afetando a produtividade do ano seguinte (Boneti *et al.*, 1998).

Por se tratar de uma doença nova em pomares de maçã, não se tem fungicidas específicos para controle da severidade da doença, tendo-se que se usar os mesmos fungicidas aplicados para a sarna da macieira (*Venturia inaequalis*), não se obtendo a mesma eficiência no controle (Katsurayama, 2006).

A sociedade preocupada cada vez mais com uso de tecnologias de baixo impacto ambiental, cria novos desafios para a pesquisa, que é a busca de novas ferramentas que possam controlar as doenças, sem contaminar o meio ambiente. Produtos alternativos, tais como o fertilizante fosfito de potássio e polissacarídeo ulvana, reduzem a severidade da doença, porém pouco se conhece sob seu efeito e modo de ação.

O fosfito de potássio é um fertilizante foliar que vem sendo frequentemente utilizado por produtores maçã no controle da Mancha Foliar da Gala e Sarna. Sabendo-se mais sobre seu modo de ação, este poderia substituir ou diminuir o número de aplicações de fungicidas protetores e sistêmicos, que causam a morte de inimigos naturais das pragas da macieira além de causar problemas de resistência (Boneti & Katsurayama, 2005).

A *Ulva* sp. é uma alga abundante no litoral brasileiro, sendo algumas vezes considerada um problema, devido ao seu rápido crescimento e grande quantidade de biomassa produzida em locais indesejáveis. A partir da *Ulva* sp., pode-se extrair a ulvana que é um polissacarídeo solúvel, que pode induzir resistência em plântulas de macieira (Araújo *et al.*, 2007). O uso econômico desta biomassa parece ser uma boa solução para controlar a Mancha Foliar da Gala, pois poderia controlar a doença, com um baixo impacto ambiental.

Desta maneira, este trabalho visa à realização de experimentos *in vitro* e *in vivo*, para avaliar a eficiência e o modo de ação do fosfito de potássio e a ulvana no controle da Mancha Foliar da Gala.

## **2- Revisão Bibliográfica:**

### **2.1- A cultura da macieira na Brasil:**

O cultivo da macieira (*Malus domestica*) é uma atividade relativamente recente no Brasil. No início da década de 70, a produção anual de maçãs era de cerca de 1.000 toneladas. Com incentivos fiscais e apoio à pesquisa e extensão rural, o Sul do Brasil aumentou a produção de maçãs em quantidade e em qualidade, fazendo com que o país passasse de importador à auto suficiente e com potencial de exportação. A maçã (*Malus domestica*) é atualmente a segunda fruta mais importante de clima temperado no Brasil, sendo Santa Catarina o principal estado produtor, com 55,3% da produção nacional. Em uma área plantada de cerca de 30.000 ha, a produção média é de aproximadamente 800.000 t (Epagri, 2002).

Os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, possuem as melhores condições para a cultura, devido à quantidade de horas-frio que é considerada suficiente para atender às necessidades exigidas pela planta, proporcionando condições para se alcançar uma maior produtividade e melhor qualidade do fruto (tamanho, coloração, sabor) (Icepa, 2007). Entre os principais fatores que afetam a produtividade da macieira no sul do Brasil destacam-se baixo número horas de frio, alta precipitação na primavera e verão, alta umidade relativa do ar e ocorrência de doenças (Epagri, 2002).

### **2.2- Mancha Foliar da Gala (*Colletotrichum gloeosporioides*)**

A cultura da macieira tem diversas doenças de importância econômica como à sarna, podridão amarga e branca, porém nos últimos anos, a Mancha Foliar da Gala destaca-se por ser uma das principais doenças de verão em pomares de maçã (Epagri, 2002).

Em 1983 constatou-se no Paraná uma nova doença da macieira que foi denominada de Mancha Foliar da Gala (MFG) devido a sua ocorrência ser exclusiva na cultivar Gala (Leite *et al.*, 1988). Mais tarde, a doença foi encontrada em outras localidades e atualmente é presente em todas as regiões produtoras de maçã no sul do Brasil (Epagri, 2002).

A Mancha Foliar da Gala (MFG) é causada principalmente por *C. gloeosporioides* que é um fungo hemibiotrófico, pertencente à classe

*Deuteromycetes*, ordem *Melanconiales*, família *Melanconiaceae*. Outras espécies do gênero *Colletotrichum* (*C. acutatum* e *C. sp.*) podem também estar associadas à doença, sendo, contudo, pouco frequentes (Epagri, 2002). O patógeno possui uma grande variabilidade genética, dificultando os diferentes estudos e controle dessa doença (Hamada, 2005a).

A origem do patógeno em Santa Catarina não é conhecida. Mas é possível que haja algum hospedeiro nativo e a disseminação tenha ocorrido através da movimentação de bins entre as regiões produtoras (Epagri, 2002).

Os sintomas iniciais da doença são manchas de coloração variando de vermelho a roxo, já visíveis dois dias após a infecção em plantas inoculadas e que evoluem para uma mancha necrótica com formato irregular (Fig.1). As folhas lesionadas amarelecem e caem precocemente, entre oito a dez dias após os primeiros sintomas em temperaturas acima de 20°C (Valdebenito-Sanhueza *et al.*, 2002).

O *C. gloeosporioides* afeta apenas as cultivares de macieiras descendentes da “Golden Delicious”. Desta maneira, a “Gala”, uma das principais cultivares plantadas no sul do Brasil, apresenta alta suscetibilidade, enquanto a “Fuji”, outra cultivar importante, não é afetada (Epagri, 2002).

A doença se manifesta principalmente durante o verão, quando pode provocar desfolhamento superior a 75% e como consequência, afetar a produção das plantas no ano seguinte (Boneti *et al.*, 1998). Longos períodos de molhamento foliar, alta umidade relativa do ar e temperaturas elevadas são as principais condições predisponentes à doença (Valdebenito-Sanhueza *et al.*, 2002; Hamada, 2005b).



Figura 1: Sintomas iniciais da Mancha Foliar da Gala (*Colletotrichum gloeosporioides*) em plântulas, com manchas de coloração variando de vermelho a roxo.

### **2.3- Controle**

A pulverização com fungicidas convencionais é o método mais utilizado para o controle da MFG. Atualmente os fungicidas manzeb e dithianon são os mais utilizados. Outros produtos como captan, folpet, chlorothalonil, fluazinam e ziram reduzem a epidemia, entretanto, não são muito eficientes quando a pressão da doença é muito alta (Epagri, 2002).

Ainda se conhece pouco sobre a etiologia e sobrevivência do *Colletotrichum*. Além disso, não se conhecem fungicidas com ação curativa. Portanto, os tratamentos têm que ser efetuados preventivamente, no mais tardar a partir da constatação das primeiras lesões e repetidos em intervalos de sete a dez dias, sempre que houver acúmulo de 25mm ou mais de chuva, contando a partir da última pulverização (Epagri, 2002).

### **2.4- Fosfito de potássio**

Os fosfitos são adubos foliares que têm efeito antifúngico, porém, há dúvidas sobre o seu modo exato de ação. Na década de 70, introduziram-se vários fungicidas sistêmicos para o controle de oomicetos, entre eles o Fosetyl-Al, pertencente ao grupo Etil-fosfanatos (Cohen & Coffey, 1986). Segundo

Cohen & Coffey, (1986), este produto é degradado rapidamente nos tecidos da planta até formar o ácido fosforoso ( $H_3PO_3$ ) e  $CO_2$ . O Fosetyl-Al possui baixa atividade *in vitro*, porém seu metabólito o ácido fosforoso inibe os oomycetes. O  $H_3PO_3$  é solúvel em água e muito fitotóxico, mas pode ser neutralizado por uma base, resultando em um sal denominado fosfito tal como  $KH_2PO_3$  ou  $K_2HPO_3$  (Cohen & Coffey, 1986). Estes compostos (fosfitos) não são fitotóxicos e apresentam alta atividade fungicida na planta (Cohen & Coffey, 1986). O fosfito é translocado sistematicamente na planta via floema e xilema, sendo que sua absorção pela planta é via floema através da associação deste com fotoassimilados. Ele é uma forma não metabolizável de fósforo que é absorvida rapidamente pelas folhas, podendo permanecer e acumular na planta por até 150 dias (Guest & Grant, 1991; Malusa & Tosi, 2005).

Alguns trabalhos têm comprovado a ação direta do fosfito sobre fungos (*Phytophthora spp*), (Fenn & Coffey, 1984). Por outro lado Saindrenant *et al.* (1988), têm atribuído à síntese de fitoalexinas, como mecanismo de defesa envolvido no controle *Phytophthora cryptogea* em feijão caupi, elicitado por fosfitos. Na Nova Zelândia, os fosfitos de potássio são usados em macieiras para controlar oídio e sarna em condições de baixa pressão da doença (Geelen, 1999).

No Brasil, fosfitos vêm sendo utilizados para controlar doenças de macieira em especial na sarna da macieira (*Venturia inaequalis*). Boneti & Katsurayama (2005), encontraram uma alta eficiência de controle da sarna, quando o fosfito de potássio, foi pulverizado 7 dias antes da inoculação, porém aplicações feitas 1, 3 e 5 dias tiveram baixa eficiência ou nenhum efeito sobre a doença. Estes autores, ainda testaram aplicações curativas para a mesma doença, mas obtiveram baixa eficiência no controle da sarna. Ainda em macieira, Katsurayama e Boneti (2002) demonstraram que duas aplicações consecutivas de Fitofos-K plus (250 mL/100L) realizadas no período imediatamente anterior a colheita foi tão eficiente no controle da MFG quanto duas pulverizações de Captan PM (250 g/100 L), realizadas no mesmo período. Em videira o controle dos fosfitos de potássio em aplicações curativas sobre o míldio (*Plasmopara viticola*), pode ser comparado aos melhores fungicidas registrados para a doença (Garrido *et al.*, 2004).



## 2.5- Algas na Agricultura

As macroalgas são organismos muito diversificados e de ocorrência freqüente em ambientes marinhos. Apresentam vantagens como o rápido crescimento e produção de grande volume de biomassa, além de terem ampla ocorrência no litoral brasileiro e algumas espécies serem facilmente cultivadas. Estes são atributos importantes que podem possibilitar a exploração comercial para a produção de matéria prima para os mais variados usos, além daqueles já conhecidos, tais como produção de alimentos, fabricação de ágar, fertilizantes, fármacos e cosméticos (Stadnik, 2003).

O uso de pesticidas, em função da sua praticidade e eficiência tornou-se há muitos anos uma prática comum para o controle de doenças de plantas. No entanto, o uso excessivo desses produtos vem criando sérios problemas para a sociedade, principalmente relacionados à saúde pública e a contaminação das águas. A demanda por produtos naturais para o controle de doenças de plantas vem aumentando rapidamente, devido às tendências atuais do mercado, que buscam disponibilizar produtos fitossanitários cada vez menos tóxicos ao homem e ao meio ambiente.

No Brasil, muitos estudos vêm sendo realizados por diversas instituições de pesquisa, tendo como objeto de trabalho as algas marinhas. Estes estudos vêm gerando conhecimento científico em diversas áreas, entre elas, sua aplicação na agricultura. Algas produzem diversos compostos bioativos de interesse agrícola, entre os quais, aqueles capazes de inibir o crescimento de bactérias e fungos, estimular o crescimento e/ou fortalecer as defesas da planta contra o ataque de patógenos (Stadnik & Paulert, 2007).

Algumas espécies de algas produzem moléculas bioativas capazes de induzir a resistência em plantas (Talamini & Stadnik, 2004). Existem alguns produtos comerciais usando algas, como o Iodus 40<sup>®</sup> que é registrado na França para uso na cultura do trigo, induzindo resistência contra a fusariose, septoriose e oídio. Iodus 40<sup>®</sup> é formulado numa concentração de 37 g/ L de laminarina. Este produto não é fitotóxico e os custos energéticos para a planta, devido à indução da resistência, são pequenos ou inexistentes (Goëmar, 2007).

## 2.6- *Ulva* sp e *Ulvana*

*Ulva* sp., conhecida popularmente como alface-do-mar, é uma alga abundante no litoral brasileiro, sendo algumas vezes considerada um problema, devido ao seu rápido crescimento e grande quantidade de biomassa produzida em locais indesejáveis. A ulvana é um polissacarídeo solúvel obtido a partir da macroalga *Ulva fasciata* pertence à Divisão Chlorophyta e Família Ulvaceae. A ulvana pode induzir resistência em plantas de alfafa contra *Colletotrichum trifolii* (Cluzet *et al.*, 2004) e *C. lindemuthianum* (Paulert, 2005). Tem-se mostrado que a pulverização preventiva com ulvana pode ativar vários genes de resistência nas plantas (Cluzet *et al.*, 2004) e que esse polissacarídeo não inibe o crescimento *in vitro* de microorganismos (Paulert *et al.*, 2007).

Polissacarídeos complexos são comumente encontrados nas paredes celulares de algas, os quais podem apresentar diferentes formas de atividade biológica, tais como elicitacão de respostas de defesa da planta (Cluzet *et al.*, 2004; Klarzynski *et al.*, 2000; Stadnik & Maraschin, 2004). Uma das mais estudadas a respeito é alga marrom *Laminaria digitata* que acumula a laminarana, um oligômero linear de  $\beta$ -1,3 glucano, capaz de estimular as reações de defesa da planta contra vários patógenos. Isso acontece porque oligossacarídeos são naturalmente envolvidos no reconhecimento celular das interações de planta-patógeno exógenas (resultantes da degradação das paredes de fungos) ou endógenas (calose fragmentada no hospedeiro) (Klarzynski *et al.*, 2000).

## 2.7- Indução de Resistência

A indução de resistência é um fenômeno muito comum na natureza, onde alguns tipos de estresses ou uma pré-infecção com um patógeno tornam as plantas mais resistentes à infecção subsequente por outros patógenos. A indução de resistência é um método moderno, eficiente e alternativo para a proteção de plantas e mostra-se uma alternativa menos agressiva a saúde humana e ao equilíbrio de agroecossistemas (Stadnik & Maraschin, 2004).

O aumento dos níveis de resistência da planta, como uma consequência da ativação de seus genes ou grupos de genes aparentemente inativos, usando agentes externos, sem a modificação do genoma da planta, é

conhecido como resistência induzida (Stadnik & Maraschin, 2004). Segundo Steiner & Schönbeck (1995), existem alguns critérios básicos para confirmar a real ocorrência de resistência induzida, sendo que estes autores a caracterizaram pela: ausência de efeitos tóxicos do agente indutor sobre o patógeno; possibilidade de se suprimir a resistência induzida por agentes que inibem a expressão de genes do hospedeiro; necessidade de um intervalo de tempo entre exposição da planta ao indutor e a expressão da resistência; falta de relação entre magnitude da resistência expressa e quantidades do indutor aplicado; inespecificidade da proteção e pela dependência do ambiente e do genótipo.

A resistência é resultante da expressão gênica, cujo produto encontra-se relacionado a mecanismos estruturais e/ou bioquímicos. O espessamento da parede celular e cutícula, via aumento da deposição de lignina, cutina e formação de papilas (Sugui, 1998), tiloses e camadas de cortiças são exemplos de fatores de resistência estruturais. A resistência bioquímica ocorre pela ativação de genes que codificam para diversas respostas de defesa, tais como proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP), por exemplo, quitinases e glucanases (Bonald *et al.*, 2005).

### **3- Descrição da empresa:**

A Embrapa Uva e Vinho têm sua sede em Bento Gonçalves - RS, contando também com as estações experimentais de Fruticultura Temperada, em Vacaria - RS, e de Viticultura Tropical em Jales - SP. A empresa desenvolve ações de pesquisa com uva, vinho, maçã e outras fruteiras de clima temperado.

A estação experimental de Fruticultura Temperada foi oficializada 1981, com a criação do Campo Experimental de Vacaria, ligado administrativamente a EMBRAPA UEPAE CASCATA, de Pelotas que na época era responsável pela pesquisa e desenvolvimento em fruteiras de clima temperado. A criação foi possível pelo esforço da Prefeitura Municipal de Vacaria e da EMBRAPA UEPAE CASCATA de Pelotas (Embrapa, 2007a).

A área de 115 ha (Fig.2) serviu de base para a instalação e realização dos primeiros trabalhos na área de pesquisa em fruticultura. Em 1994, o

Campo Experimental foi incorporado ao Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho, Embrapa Uva e Vinho, com sede no município de Bento Gonçalves, passando a denominação de Estação Experimental de Vacaria. Desde a sua fundação, a Estação de Vacaria, muito conhecida como Embrapa Vacaria, tem contribuído para o desenvolvimento da maçã brasileira e particularmente da região de Vacaria, objetivando a sustentabilidade do agronegócio. A partir do final do ano de 2003, a Estação passou a ser denominada Estação Experimental de Fruticultura Temperada (Embrapa, 2007a).

A Estação tem como destaque o Projeto de Produção Integrada de Maçã (PIM), sob a coordenação da pesquisadora Rosa Valdebenito Sanhueza, que trouxe para o Brasil este conceito e viabilizou que a maçã fosse à primeira fruta a ser certificada no Brasil e servisse de referência para outras cadeias produtivas. Inclusive, a Produção Integrada passou a ser um dos programas estratégicos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento em nível nacional (Embrapa, 2007a).

A missão da empresa é viabilizar soluções para o desenvolvimento sustentável do espaço rural com foco no agronegócio da vitivinicultura e da fruticultura de clima temperado por meio da geração, adaptação e transferência de conhecimentos e de tecnologias, em benefício dos diversos segmentos da sociedade brasileira (Embrapa, 2007a).



Figura 2: Área e laboratórios da estação experimental de Fruticultura

Temperada, em Vacaria - RS

#### **4- Avaliação das diferentes formulações de fosfitos de potássio, sobre *C. gloeosporioides***

##### **4.1-Introdução e objetivos**

Em experimentos em casa-de-vegetação, Araújo *et al.* (2007), relataram efeito curativo do fosfito de potássio 0%(N)-40%(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)-20%(K<sub>2</sub>O) sobre a MFG. Plantas pulverizadas 24 hai com fosfito de potássio (3 µL/mL), apresentaram redução de 71% na severidade da doença, em relação a testemunha.

No Brasil existem relatos de campo, que diferentes marcas e formulações de fosfitos de potássio, podem aparentemente não apresentar a mesma eficiência, quando usados para o controle de doenças.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho é testar o efeito *in vitro* e pós-infeccional das diferentes marcas e formulações de fosfitos de potássio, sobre *C. gloeosporioides* em mudas enxertadas de macieira.

##### **4.2- Material e Métodos**

Os experimentos foram realizados em laboratório e em casa-de-vegetação, na Estação Experimental de Fruticultura Temperada da Embrapa Uva e Vinho, do dia 19 de março a 18 de maio de 2007 (Fase externa).

#### 4.2.1- Fosfitos de potássio

Fosfitos de potássio, utilizados nos experimentos (Tab.1).

Tabela 1: Marcas, formulações e doses comerciais dos fosfitos utilizados nos experimentos *in vitro* e *in vivo*.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Empresa	Dose
Bio 40-20 <sup>®</sup>	0%(N)- 40%(P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )- 20%(K <sub>2</sub> O)	Biosul Fertilizantes	150mL/100L
Phós-k 0-40-20 <sup>®</sup>	0%(N)- 40%(P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )- 20%(K <sub>2</sub> O)	Oxiquímica Agrôciencia	150mL/100L
Bio 30-20 <sup>®</sup>	0%(N)- 30%(P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )- 20%(K <sub>2</sub> O)	Biosul Fertilizantes	150mL/100L
Nutex 00-30-20 <sup>®</sup>	0%(N)- 30%(P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )- 20%(K <sub>2</sub> O)	Agroqualità	200 a 300mL/ 100L
Bio 20-20 <sup>®</sup>	0%(N)- 20%(P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )- 20%(K <sub>2</sub> O)	Biosul Fertilizantes	200mL/100L
Nutex 00-20-20 <sup>®</sup>	0%(N)- 20%(P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )- 20%(K <sub>2</sub> O)	Agroqualità	200 a 400mL/ 100L

Mediu-se o pH dos fosfitos de potássio com o auxílio de um medidor de pH (pH metro), com doses semelhantes de íon fosfito, presente nas diferentes formulações 0-40-20: (1,5 µL/mL); 0-30-20: (2,5 µL/mL); 0-20-20: (3,0 µL/mL). Mediu-se, também o pH da água destilada, utilizada no meio BDA da testemunha.

#### 4.2.2- Cultivo e obtenção de inóculo de *C. gloeosporioides*

Foi usado em todos experimentos (Fase externa e interna) o isolado CGF1 de *C. gloeosporioides* da coleção da Embrapa Uva e Vinho, proveniente de plantas infectadas da cultivar Gala. Colônias do isolado foram mantidas ao meio BDA. Para obtenção de inóculo, foram usadas culturas desenvolvidas em BDA por 10 dias a 25°C e 12h de fotoperíodo. As colônias formadas foram

raspadas superficialmente com espátula de Drigalsky e a concentração da suspensão de conídios foi ajustada com o auxílio da câmara de Neubauer, conforme especificado em cada experimento.

#### **4.2.3- Avaliação in vitro das diferentes formulações de fosfitos de potássio**

Para testar o efeito direto sobre *C. gloeosporioides*, realizou-se dois experimentos, onde foram incorporados doses semelhantes de íon fosfito presente nas diferentes formulações 0-40-20:(1.5 µL/mL); 0-30-20:(2.5 µL/mL); 0-20-20:(3 µL/mL) em meio BDA a 45°C, imediatamente antes de verter-lo sobre placas de Petri de 10 cm de diâmetro.

Foi vertido 15 mL de solução em cada placa e testou-se os seguintes tratamentos: 1: Biosul 0-40-20 (1.5 µL/mL); 2: Phós-k 0-40-20 (1.5 µL/1mL); 3: Biosul 0-30-20 (2.5 µL/mL); 4: Nutex 0-30-20 (2.5 µL/mL); 5: Biosul 0-20-20 (3 µL/mL); 6: Nutex 0-20-20 (3 µL/mL); 7: Testemunha ( vertido apenas BDA nas placas).

Para avaliar o crescimento micelial, após a solidificação do meio, um disco de 9 mm de diâmetro contendo micélio do fungo foi transferido para o centro de cada placa (10 cm) e as culturas foram incubadas a 24°C e 12h de fotoperíodo. Diâmetros das colônias em sentido perpendicular foram medidos aos 3,4,5,6 e 7 dias após o início da incubação, com o auxílio de um paquímetro. Com os dados do diâmetro médio das colônias obtido em cada avaliação, foi calculado o IVCM (Índice de Velocidade de Crescimento Micelial) expresso em mm/dia (Abreu, 2005), utilizando-se para tanto a fórmula:

$$IVCM = \sum (D - D_a) / N$$

Onde: D: Diâmetro médio atual; D<sub>a</sub>: Diâmetro médio anterior; N: número de dias após a repicagem.

Para avaliar a formação de colônias, foi repicado e espalhado com o auxílio de uma alça, 100µL de uma suspensão de conídios de 1x10<sup>3</sup> conídios/ml nas placas quando o meio estava solidificado, que em seguida foram incubadas.

Avaliou-se o número de colônias formadas aos 2,3,4,5 e 6 dias após a repicagem. Considerou-se uma colônia, quando esta tinha aproximadamente 2

mm de diâmetro. Com os dados do número médio de colônias obtido em cada avaliação, foi calculado o TIC (Taxa de incremento de colônias) expresso em nº colônias/dia, utilizando-se para tanto a fórmula:

$$\text{TIC} = \frac{\sum (n^{\circ} - n^{\circ a})}{N}$$

Onde: n<sup>o</sup>: número médio atual; n<sup>o</sup>a: número médio anterior; N: número de dias após a repicagem.

#### 4.2.4- Avaliação do tratamento pós-infeccional

As mudas de macieira foram cultivadas em casa-de-vegetação e tinham dois estágios fenológicos. No primeiro grupo, as plantas tinham cerca de um ano de idade, estavam em vasos de dois litros e foram usadas no experimento (5.2.4.2). Enquanto que no segundo grupo, as plantas tinham aproximadamente dois anos de idade, estavam em vasos de seis litros e foram usadas no ensaio (5.2.4.1). Todas as plantas tinham como copa a cv. Gala enxertada sobre o porta-enxerto M7.

Nos dois testes, 24 horas antes da inoculação, as plantas foram incubadas com 100% de umidade, para se ter uma maior abertura dos estômatos. Findo este período, as mudas foram inoculadas com uma suspensão de  $3 \times 10^5$  conídios/ml, e mantidas no escuro a 100% UR e 22°C por 48 horas (Fig. 3). Passado este período as plantas foram pulverizadas com seus respectivos tratamentos.



Figura 3: Estrutura da câmara úmida com umidade e temperatura controlada, utilizada para incubação plantas ou frutos.



#### **4.2.4.1- Avaliação do tratamento pós-infeccional, com diferentes formulações e doses comerciais de fosfito de potássio**

As mudas deste experimento tinham dois anos de idade e foram tratadas as 48 hai com suas doses comerciais: 1: Biosul 0-40-20 (1,5µL/mL); 2: Phós-k 0-40-20 (1,5µL/mL), 3: Biosul 0-30-20 (1,5µL/mL); 4: Nutex 0-30-20 (2,5µL/mL) ; 5: Biosul 0-20-20 (2,0µL/mL) , 6: Nutex 0-20-20 (3,0µL/mL), 7: Água destilada (Testemunha inoculada) e 8: Água destilada (Testemunha absoluta).

Avaliou-se a severidade de MFG baseando-se na estimativa visual da porcentagem de tecido necrosado e número de manchas de quinze folhas de um ramo aos 5, 6, 7, 8 e 10 dias após a inoculação (dai).

Com os dados da % de tecido necrosado e número de manchas necróticas obtido em cada avaliação, foi calculado o TIA (Taxa de incremento de área foliar necrosada) e TIN (Taxa de incremento do número de manchas necróticas) expresso em % área foliar necrosada/dia e nº de manchas necróticas/dia, respectivamente, utilizando-se para tanto as seguintes fórmulas:

$$TIA = \sum (\%AF - \%AFa) / N$$

Onde: %AF: % área foliar necrosada média atual; %AFa: % área foliar necrosada média anterior; N: número de dias após a inoculação.

$$TIN = \sum (n^{\circ}M - n^{\circ}Ma) / N$$

Onde: n°M: número de manchas necróticas média atual; n°Ma: número de manchas necróticas média anterior; N: número de dias após a inoculação.

Fez-se a correlação dos dados de área foliar necrosada e número de manchas necróticas, nas cinco avaliações.

#### **4.2.4.2- Avaliação do tratamento pós-infeccional, com fosfitos de potássio 0-40-20 (N-P-K)**

Utilizou-se mudas de um ano de idade, que foram pulverizadas as 48 hai, com os seguintes tratamentos: 1: Phós-k 0-40-20 (1.5µL/mL), 2: Biosul 0-40-20 (1.5µL/mL), 3: Água destilada (Testemunha inoculada) e 4: Água destilada (Testemunha absoluta). Avaliou-se a porcentagem de tecido necrosado e número de manchas de quinze folhas de um ramo aos 6, 7, 8, 9 e 10 dai. Calculou-se a TIA e TIN.

#### 4.2.5- Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento usado nos experimentos foi o completamente casualizado, com cinco repetições nos testes *in vitro* e três repetições nos ensaios *in vivo*.

Os dados obtidos foram submetidos inicialmente à estatística descritiva através do teste (Levene's test) e conforme as suas características foram classificados como paramétricos ou não. Todos os dados analisados apresentaram-se como paramétricos, procedendo-se a Análise de Variância (ANOVA) das variáveis.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, seguido do teste de separação de médias SNK (P=0,05). Os softwares utilizados foram Statistica 6.0 – Stat Soft®, versão 2001 e Sisvar® (Universidade Federal de Lavras), versão 2005.

### 4.3- Resultados

#### 4.3.1- pH dos fosfitos de potássio

Avaliando o pH dos fosfitos, com doses semelhantes de íon fosfito, pode-se observar que as formulações 0-40-20 tinham o pH ao redor de 3, enquanto as 0-30-20 em torno de 4 e as 0-20-20 tinham pH neutro (7) (Tab.2).

Tabela 2: pH dos fosfitos de potássio, medido com o auxílio de um pH metro, com doses semelhantes de íon fosfito, presente nas diferentes formulações 0-40-20: (1.5 µL/mL); 0-30-20: (2.5 µL/mL); 0-20-20: (3 µL/mL).

Nome comercial	Ingrediente ativo	Dose	pH
Bio 40-20®	00-40-20 (N-P-K)	1,5µ/mL	3,0
Phós-k 0-40-20®	00-40-20 (N-P-K)	1,5µ/mL	3,0
Bio 30-20®	00-30-20 (N-P-K)	2,5µ/mL	3,8
Nutex 00-30-20®	00-30-20 (N-P-K)	2,5µ/mL	4,4
Bio 20-20®	00-20-20 (N-P-K)	3,0µ/mL	6,6
Nutex 00-20-20®	00-20-20 (N-P-K)	3,0µ/mL	7,0
Água destilada	H <sub>2</sub> O		6,5

#### 4.3.2- Efeito dos fosfitos de potássio sobre o crescimento micelial

Todos os fosfitos de potássio testados reduziram o diâmetro das colônias e a velocidade de crescimento micelial em relação à testemunha (Tab.3, Fig.4 e 5). As formulações 0-40-20, 0-30-20, 0-20-20 reduziram em média 94, 85 e 36% o diâmetro das colônias em relação à testemunha (Fig. 4). Os fosfitos de potássio com formulação 00-40-20, mostraram-se superior aos 00-30-20 e 00-20-20, enquanto que os de formulação 00-30-20 exibiram maior redução que os 00-20-20 no crescimento micelial e IVCM (Tab.3 e Fig.5). As colônias que receberam fosfitos tiveram a tendência de ter a coloração mais clara e micélio mais ralo, em relação à testemunha (Fig. 4).

Tabela 3: Efeito das diferentes formulações de fosfito de potássio incorporado ao meio BDA, sobre diâmetro micelial e índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Tratamento <sup>1</sup>	Dose <sup>2</sup>	Crescimento micelial (mm)					IVCM
		Dias após a repicagem					
		3	4	5	6	7	
Bio 0-40-20 <sup>1</sup>	1,5µL/mL	0,19	0,26	0,34	3,07	3,49 a	0,50 a
Phós-K 0-40-20	1,5µL/mL	0,57	0,65	0,81	3,42	3,84 a	0,55 a
Bio 0-30-20	2,5µL/mL	4,60	4,63	5,45	9,13	10,74 b	1,53 b
Nutex 0-30-20	2,5µL/mL	3,39	3,68	4,19	7,53	8,85 b	1,26 b
Bio 0-20-20	3,0µL/mL	17,78	21,28	26,82	32,52	37,86 c	5,38 c
Nutex 0-20-20	3,0µL/mL	21,02	24,69	30,5	37,05	42,52 d	6,07 d
Testemunha	Água	29,13	36,32	45,80	55,25	63,07 e	9,01 e
CV % :						8,76	8,91

1: Formulações de N-P-K dos fosfitos de potássio. 2: Doses semelhantes de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Teste SNK (P≤0,05). Na análise de variância para crescimento micelial, utilizou-se os dados da última avaliação (7 dias após a repicagem do fungo).

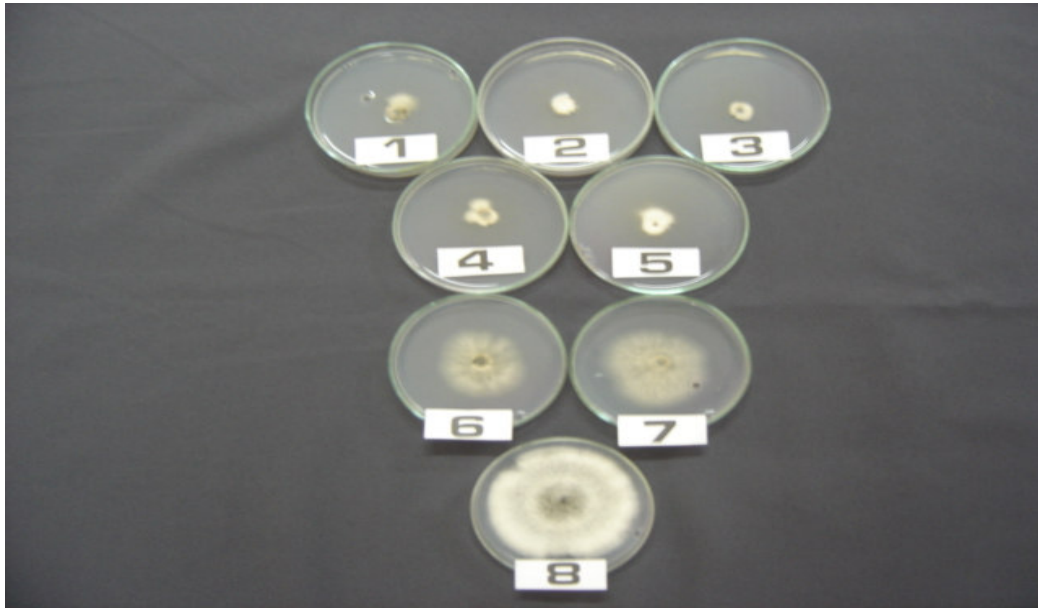


Figura 4: Efeito na redução do tamanho das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides*, pela incorporação de diferentes formulações de fosfito de potássio ao meio BDA, em relação testemunha (placa 8), aos sete dias de incubação. Formulações 0-40-20: (placas 2 e 3); 0-30-20: (placas 4 e 5), 0-20-20: (placas 6 e 7). Placa 1, tratamento eliminado dos experimentos.

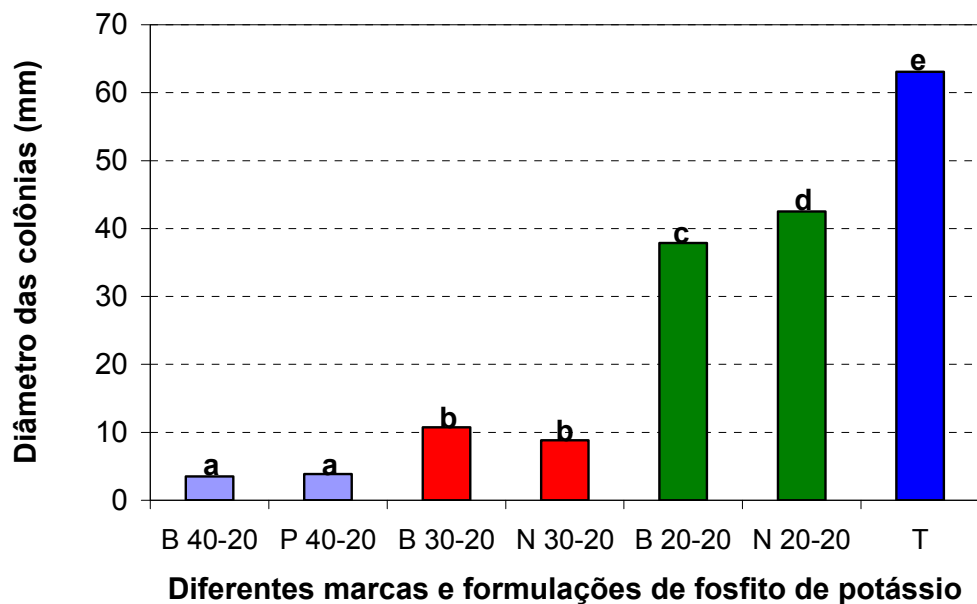


Figura 5: Efeito das diferentes formulações de fosfito de potássio incorporado ao meio BDA, sobre o tamanho das colônias do *Colletotrichum gloeosporioides*

aos sete dias de incubação. Marcas e formulações de N-P-K dos fertilizantes de fosfito de potássio: (B 40-20: Bio 0-40-20<sup>®</sup>); (P 40-20: Phós-k 0-40-20<sup>®</sup>); (B 30-20: Bio 0-30-20<sup>®</sup>); (N 30-20: Nutex 0-30-20<sup>®</sup>); (B 20-20: Bio 0-20-20<sup>®</sup>); (N 20-20: Nutex 0-20-20<sup>®</sup>). T: Testemunha. Teste SNK ( $P \leq 0,05$ ).

#### 4.3.3- Efeito dos fosfitos de potássio sobre a formação de colônias

Aos seis dias após a repicagem, não houve diferença significativa entre os tratamentos que receberam fosfito de potássio e testemunha, para número de colônias formadas e TIC (Tab. 4). Mas os fosfitos de potássio de formulação 0-40-20 atrasaram formação de colônias de *C. gloeosporioides* em três dias, enquanto que os 0-30-20 retardaram em um dia (Fig.6 e Tab.4).

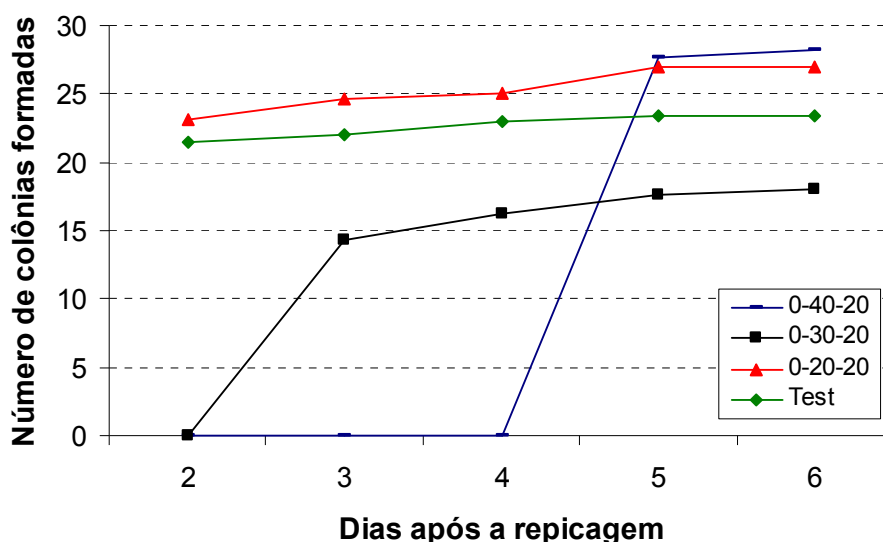


Figura 6: Progresso da formação de colônias de *Colletotrichum gloeosporioides* aos 2,3,4,5 e 6 dias, após a repicagem da suspensão de conídios em BDA incorporado com diferentes formulações de fosfitos. Fosfitos de potássio com formulação de N-P-K: 0-40-20 (Média dos tratamentos; Bio 0-40-20 e Phós-k 0-40-20), 0-30-20 (Média dos tratamentos; Bio 0-30-20 e Nutex 0-30-20) e 0-20-20 (Média dos tratamentos; Bio 0-20-20 e Nutex 0-20-20). Test: Testemunha, somente BDA.

Tabela 4: Efeito das diferentes formulações de fosfito de potássio incorporado ao meio BDA, sobre a formação e taxa de incremento de colônias (TIC) de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Tratamento <sup>1</sup>	Dose <sup>2</sup>	Número de colônias formadas					TIC
		Dias após a repicagem					
		2	3	4	5	6	
Bio 0-40-20	1,5µL/mL	0	0	0	23	23 ab	3,87 ab
Phós-K 0-40-20	1,5µL/mL	0	0	0	32	33 a	5,53 a
Bio 0-30-20	2,5µL/mL	0	16	18	20	21 ab	3,43 ab
Nutex 0-30-20	2,5µL/mL	0	13	14	15	15 b	2,57 b
Bio 0-20-20	3,0µL/mL	25	27	27	31	31 ab	5,13 ab
Nutex 0-20-20	3,0µL/mL	21	23	23	23	23 ab	3,87 ab
Testemunha	Água	21	22	23	23	23 ab	3,90 ab
CV % :						36,42	36,44

1: Formulações de N-P-K dos fosfitos de potássio. 2: Doses semelhantes de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Teste SNK (P = 0,06). Na análise de variância para número de colônias formadas, utilizou-se os dados da última avaliação (6 dias após a repicagem da suspensão de conídios).

#### 4.3.4- Efeito do tratamento pós-infeccional com diferentes formulações, marcas e doses de fosfito de potássio

Quando as mudas de macieira foram tratadas 48 hai, a formulação 0-40-20 (Phós-k) reduziu em 62% a área foliar necrosada 10 dai. O controle para TIA, ficou em torno de 62%. Os demais tratamentos não diferem estaticamente da testemunha (Tab.5 e Tab.7).

Tabela 5: Efeito do tratamento pós-infeccional (48 h após a inoculação), com diferentes formulações e doses comerciais de fosfitos de potássio, sobre a evolução da área foliar necrosado em mudas de macieira inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*.

Tratamento <sup>1</sup>	Doses <sup>2</sup>	Área foliar necrosada (%)				
		Dias após a inoculação				
		5	6	7	8	10
Bio 0-40-20	1,5µL/mL	3,6	5,5	6,4	7,3	10,0 a
Phós-K 0-40-20	1,5µL/mL	1,1	2,2	2,2	2,5	3,4 b
Bio 0-30-20	1,5µL/mL	5,0	6,4	7,0	7,2	8,7 a
Nutex 0-30-20	2,5µL/mL	3,6	5,0	5,6	6,5	8,1 a
Bio 0-20-20	2,0µL/mL	3,8	5,9	6,5	7,0	8,4 a
Nutex 0-20-20	3,0µL/mL	3,3	6,0	6,4	7,4	9,0 a
Testemunha	Água	3,2	5,1	5,8	7,1	8,9 a

1: Formulações de N-P-K dos fosfitos de potássio. 2: Doses comerciais recomendadas CV %: 24,9. Teste SNK ( $P \leq 0,05$ ), realizado na última avaliação (10 dias após a inoculação).

A formulação 0-40-20 (Phós-k) reduziu em 65% o número de manchas necróticas aos 5 dai, em contrapartida aos 10 dai não se encontrou diferença significativa (Tab.6). O controle para TIN, ficou em torno de 61% (Tab.7).

Tabela 6: Efeito do tratamento pós-infeccional (48 h após a inoculação), com diferentes formulações e doses comerciais de fosfitos de potássio, sobre a evolução do número de manchas necróticas, em mudas de macieira inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*.

Tratamento <sup>1</sup>	Doses <sup>2</sup>	Número de manchas necróticas				
		Dias após a inoculação				
		5	6	7	8	10
Bio 0-40-20	1,5µL/mL	95 ab	105	113	129	130 n.s.
Phós-K 0-40-20	1,5µL/mL	57 a	68	78	91	103
Bio 0-30-20	1,5µL/mL	155 ab	180	188	216	219
Nutex 0-30-20	2,5µL/mL	142 ab	147	159	169	173
Bio 0-20-20	2,0µL/mL	132 ab	167	195	215	234
Nutex 0-20-20	3,0µL/mL	102 ab	127	160	162	164
Testemunha	Água	163 b	178	212	230	262
CV % :		30,2				35,5

1: Formulações de N-P-K dos fosfitos de potássio. 2: Doses comerciais recomendadas. Teste SNK ( $P \leq 0,05$ ), realizado na primeira e última avaliação (5 e 10 dias após a inoculação). n.s.: Não significativo.



Tabela 7: Efeito do tratamento pós-infeccional (48 h após a inoculação), com diferentes formulações e doses comerciais de fosfitos de potássio, sobre taxa de incremento de área foliar necrosada (TIA) e taxa de incremento do número de mancha necróticas (TIN), em mudas de macieira inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*.

Tratamento <sup>1</sup>	Doses <sup>2</sup>	TIA	TIN
Bio 0-40-20	1,5µL/mL	1,00 b	13,00 ab*
Phós-K 0-40-20	1,5µL/mL	0,34 a	10,33 a
Bio 0-30-20	1,5µL/mL	0,87 b	21,93 ab
Nutex 0-30-20	2,5µL/mL	0,81 b	17,33 ab
Bio 0-20-20	2,0µL/mL	0,84 b	23,40 ab
Nutex 0-20-20	3,0µL/mL	0,90 b	16,40 ab
Testemunha	Água	0,89 b	26,20 ab
CV % :		24,9	35,3

1: Formulações de N-P-K dos fosfitos de potássio. 2: Doses comerciais recomendadas. Teste SNK ( $P \leq 0,05$  e  $*$  = 0,09).

A correlação dos dados mostrou que há uma alta relação nas avaliações de área foliar necrosada e que existe uma grande relação entre as avaliações do número de manchas necróticas (Tab.8). Porém, só existem dados com coeficiente de correlação significativa, entre área foliar necrosada e número de manchas necróticas na primeira avaliação (5 dai).

Tabela 8: Coeficientes de correlação entre a área foliar necrosada e número de manchas necróticas, em mudas de macieira tratadas com diferentes formulações (N-P-K) e doses comerciais de fosfitos de potássio, aos 5,6,7,8 e 10 dias após a inoculação.

	NL(5)	NL(4)	NL(3)	NL(2)	NL(1)	AF(5)	AF(4)	AF(3)	AF(2)
AF(1)	0,60	0,72	0,69	0,70	0,75**	0,80**	0,85**	0,85**	0,92*
AF(2)	0,59	0,70	0,71	0,64	0,66	0,91*	0,96*	0,72	
AF(3)	0,62	0,68	0,61	0,60	0,74	0,73	0,72		
AF(4)	0,60	0,69	0,72	0,60	0,68	0,98**			
AF(5)	0,48	0,57	0,59	0,45	0,60				
NL(1)	0,90*	0,93*	0,92*	0,94*					
NL(2)	0,95*	0,97*	0,97*						
NL(3)	0,97*	0,99*							
NL(4)	0,98*								

(1) Avaliação aos 5 dias após a inoculação, (2) Avaliação aos 6 dias após a inoculação, (3) Avaliação aos 7 dias após a inoculação, (4) Avaliação aos 8 dias após a inoculação, (5) Avaliação aos 10 dias após a inoculação. AF: Percentagem de área foliar necrosada. NL: Número de lesões necróticas.

\* : Significativo ao nível de 1%; \*\*: Significativo ao nível de 5%.

#### 4.3.5- Efeito pós-infeccional dos fosfitos de potássio 0-40-20 (N-P-K)

Quando as mudas de macieira foram tratadas 48 h, o fosfito de potássio Phós-k (0-40-20), reduziu em 40% área foliar necrosada, em mudas de macieira, aos 10 dai. O controle para TIA, ficou em torno de 40% (Fig. 7 e Tab. 9). Já o fosfito Biosul (0-40-20), apesar de apresentar um controle de 26% para área foliar necrosada e 26% para TIA, este não diferiu estaticamente da testemunha (Fig. 7 e Tab. 9).

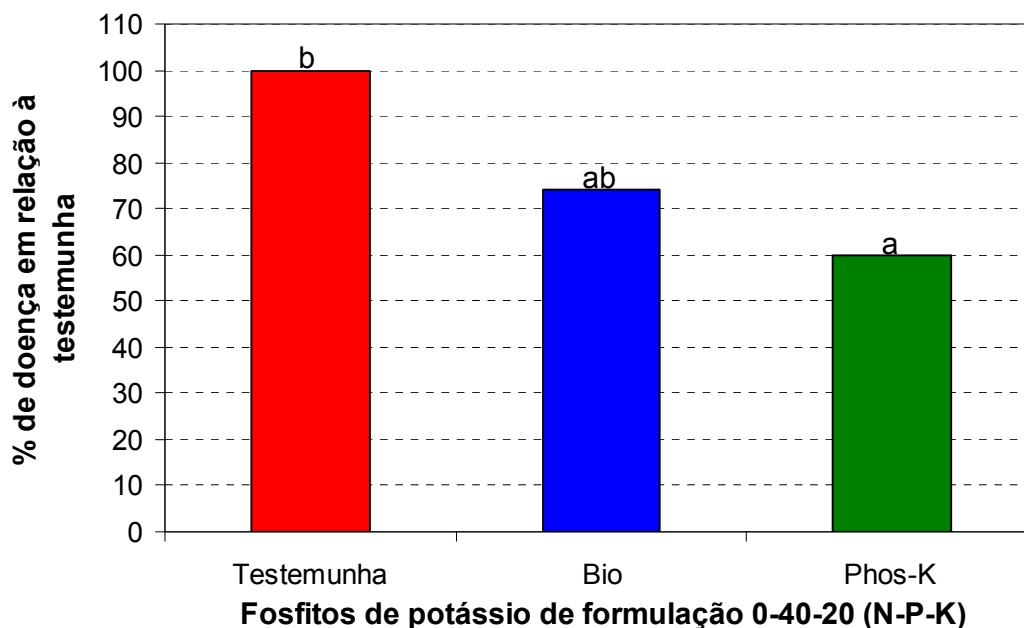


Figura 7: Controle da área foliar necrosada pela Mancha Foliar da Gala (*Colletotrichum gloeosporioides*), em mudas de macieira tratadas 48 h após a inoculação com a formulação 0-40-20 (N-P-K) de fosfitos de potássio. As mudas foram avaliadas aos 10 dias após a inoculação. Marcas dos fosfitos de potássio de formulação 0-40-20 (N-P-K): (Bio: Bio 0-40-20<sup>®</sup>); (Phós-k: Phós-k 0-40-20<sup>®</sup>). Teste SNK ( $P \leq 0,05$ ).

Tabela 9: Efeito do tratamento pós-infeccional (48 h após a inoculação), com a formulação 0-40-20 (N-P-K) de fosfitos de potássio sobre a evolução da área foliar necrosada e taxa de incremento de área foliar necrosada (TIA), em mudas de macieira inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*.

		Área foliar necrosada (%)					
		Dias após a inoculação					
Tratamento <sup>1</sup>	Doses <sup>2</sup>	6	7	8	9	10	TIA
B 0-40-20	1,5µL/mL	9,3	11,3	12,1	12,5	13,6 ab	1,36 ab
Pk 0-40-20	1,5µL/mL	8,0	9,1	9,5	9,9	11,0 a	1,10 a
Testemunha	Água	10,9	14,1	15,0	16,3	18,2 b	1,82 b
CV %:						22,8	22,7

1: Formulações de N-P-K dos fertilizantes de fosfito de potássio. B 0-40-20: Bio 0-40-20<sup>®</sup>; P-k: Phós-k 0-40-20<sup>®</sup>. 2: Doses semelhantes de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Teste SNK (P=0,08), para a variável área foliar necrosada, utilizou-se os dados da última avaliação (10 dias após a inoculação).

Em plantas tratadas com fosfito de potássio as 48 hai, não se observou diferença significativa para número de manchas necróticas e TIN, em relação à testemunha (Tab.10).

Tabela 10: Efeito do tratamento pós-infeccional (48 h após a inoculação), com a formulação 0-40-20 de fosfitos de potássio sobre número de manchas necróticas e taxa de incremento de número de mancha necróticas (TIN) em mudas de macieira inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*.

		Número de manchas necróticas					
		Dias após a inoculação					
Tratamento <sup>1</sup>	Doses <sup>2</sup>	6	7	8	9	10	TIN
B 0-40-20	1,5µL/mL	203	214	210	222	247 n.s.	24,7 n.s.
P-K 0-40-20	1,5µL/mL	230	221	218	204	243	24,3
Testemunha	Água	196	179	189	175	210	21,0
CV% :						30,8	30,8

1: Formulações de N-P-K dos fertilizantes de fosfito de potássio. B 0-40-20: Bio 0-40-20<sup>®</sup>; P-k: Phós-k 0-40-20<sup>®</sup>. 2: Doses semelhantes de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Teste SNK (P≤0,05), para a variável número de manchas necróticas, utilizou-se os dados da última avaliação (10 dias após a inoculação).

#### 4.4- Discussão:

Observou-se que os fosfitos de formulação 0-40-20 tinham pH 3, enquanto os 0-30-20 em torno de 4 e os 0-20-20 tinham um pH neutro (Tab.2). A acidez dos fosfitos de potássio é característica do produto, já que o íon fosfito ( $\text{HPO}_3^{2-}$ ) é oriundo do ácido fosforoso ( $\text{H}_3\text{PO}_3$ ) (Cohen & Coffey, 1986). Mas, quando se utilizou doses semelhantes de íon fosfito, a acidez teria que se equivaler nas diferentes formulações, já que todos os produtos teriam a mesma quantidade de  $\text{HPO}_3^{2-}$ . Porém, quando se ajustou as formulações, para que todos os fosfitos de potássio tivessem 40% de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , pode-se ter desequilibrado a quantidade óxido de potássio ( $\text{K}_2\text{O}$ ) no meio (20% nas formulações). É sabido que o  $\text{K}_2\text{O}$ , dissociado em água forma o Hidróxido de potássio (2KOH), que é uma base forte e poderia ter aumentado o pH dos fosfitos de formulação 0-30-20 e 0-20-20 no ajuste do  $\text{P}_2\text{O}_4$ . Na realidade, quando se utiliza doses comerciais de fosfito de potássio, os produtos que tem maior concentração de  $\text{P}_2\text{O}_4$  em sua formulação, têm o pH mais ácido devido ao ácido fosforoso na solução. Desta forma, compararam-se produtos de pHs diferentes nos experimentos, quando se utilizou doses comerciais ou mesmo quando se utilizou doses semelhantes de íon fosfito.

A maioria dos fungos tolera uma ampla faixa de pH, mas existe uma faixa ótima de crescimento que varia de 5 a 6,5 (Bergamin Filho *et al.*, 1995). Assim, fungos que se encontram em pHs abaixo ou acima da faixa ideal, terão um desenvolvimento prejudicado, em relação a fungos que estão em pH ótimo de crescimento. Liu *et al.* (2005), usando diferentes pHs (3 a 10) *in vitro*, demonstraram que o *C. gloeosporioides* agente causal da antracnose da lichia, apresentou maior crescimento micelial entre pH 5,0 a 6,0. Já na faixa de pH 6,0 a 7,0, observou-se uma maior germinação de conídios.

Os resultados dos experimentos *in vitro*, demonstraram atividade direta dos fosfitos de potássio sobre o crescimento micelial e um retardamento de até três dias no aparecimento das colônias em meio de cultivo com doses semelhantes de íon fosfito presente nas diferentes formulações (Fig.5 e Fig.6). A ação dos fosfitos *in vitro*, foi menor nas formulações que tinham um pH mais elevado, sugerindo que as características ácidas do fertilizante possam também interferir diretamente no desenvolvimento *C. gloeosporioides*. Estes dados demonstram que o fosfito de potássio tem ação fungistática, pois o fungo

não cessou completamente o seu crescimento em nenhum dos tratamentos, além de retardar o aparecimento de colônias em até três dias. Na verdade Araújo *et al.* (2007), conduziram experimentos *in vitro*, usando diferentes concentrações de fosfito de potássio de formulação 0-40-20, incorporado em meio BDA, em pH 2,0 (acidez característica do produto), e pH 7,0 (ajustado com NaOH 5 N). Na maior concentração testada (0,5 µL/mL), houve uma total redução do crescimento micelial do fungo, em relação à testemunha, quando o pH do meio não foi corrigido. Por outro lado, em pH 7,0, nesta mesma concentração, a redução do crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, agente causal da Mancha Foliar da Gala, foi de 50 %.

Os fosfitos testados *in vivo* não tiveram a mesma eficiência que *in vitro*. Porém a formulação 0-40-20 (Phos-k) reduziu em até 62% a área foliar necrosada e 65% o número de manchas necróticas em mudas enxertadas de macieira (Tab.5 e Tab.6). Estes resultados concordam com os trabalhos de Araújo *et al.* (2007), que relataram efeito curativo do fosfito de potássio 0-40-20 sobre a MFG. Além de Smille *et al.*, (1989) e Jackson *et al.*, (2000), que em trabalhos com Oomicetos, afirmaram que quando a concentração for alta, o fosfito atua diretamente sobre o patógeno inibindo seu crescimento antes que ele seja capaz de estabelecer uma associação com o hospedeiro (planta).

Desta forma, podem-se sugerir algumas hipóteses para tentar explicar o efeito pós-infeccional do fosfito de potássio (0-40-20) sobre o *C. gloeosporioides* (*in vivo*): ação curativa do produto, a formulação 0-40-20 tem maior quantidade de íon fosfito que poderia interferir o crescimento do fungo, o baixo pH (3) do produto interfere diretamente o desenvolvimento do *C. gloeosporioides*, ou a ação fungistática pode ter deixando o fungo exposto por mais tempo a radiação UV, dessecação, temperaturas desfavoráveis, injúrias mecânicas e ação de antagonistas.

Em alguns experimentos, fosfitos de mesma formulação e pH similares, não manifestaram a mesma eficiência no controle do *C. gloeosporioides*, indicando possa haver excesso ou falta de algum elemento na solução do produto. Desta maneira, o pH das diferentes formulações de fosfitos não é o único fator que pode interferir no desenvolvimento do fungo.

A correlação dos dados mostrou que há uma alta relação nas avaliações de área foliar necrosada (Tab.8) e que existe uma grande relação entre as

avaliações do número de manchas necróticas (Tab.8), podendo-se diminuir o número de avaliações para estas variáveis.

Porém, só existe dados com coeficiente de correlação significativa, entre área foliar necrosada e número de manchas necróticas na primeira avaliação (5 dai) (Tab.8). Isso indica que com o passar do tempo (dias), não existe mais correlação entre estas variáveis. Algumas hipóteses para explicar este fato são: a) provavelmente as lesões coalescerem e ficaram menos espaçadas entre uma mancha e outra; b) com o passar do tempo (dias), houve um aumento do CV e não se enxergou mais diferença significativa para as variáveis.

Os dados deste estudo indicam que os fosfitos de potássio tem ação fungistática sobre *C. gloeosporioides*, pois a uma diminuição no crescimento micelial e atraso na formação de colônias *in vitro*. Já *in vivo*, só foi observado controle significativo na severidade da MFG, em aplicações curativas com fosfito de potássio de formulação 0-40-20. Estes resultados, demonstram que as características ácidas dos fosfitos de potássio de formulação 0-40-20 (pH 3), podem interferir o desenvolvimento do *Colletotrichum gloeosporioides* tanto *in vitro* quanto *in vivo*.



## **5- Avaliação do tratamento pós-infeccional e preventivo do fosfito de potássio e da ulvana, sobre *C. gloeosporioides***

### **5.1- Introdução e objetivos**

Em experimentos em casa-de-vegetação, Araújo *et al.* (2007), relataram efeito curativo do fosfito de potássio 0%(N)- 40%(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)-20%(K<sub>2</sub>O) sobre a MFG. Plantas pulverizadas 24 hai com fosfito de potássio (3 µL/mL), apresentaram redução de 71% na severidade da doença, em relação a testemunha.

A ulvana (10 mg/mL), aplicada uma vez 24 hai em plântulas de macieira, não afetou o desenvolvimento das manchas necróticas nas plantas tratadas (Araújo *et al.*, 2007).

Aplicações preventivas de ulvana, com maior intervalo de tempo entre tratamento e inoculação, possivelmente induzem uma maior expressão de genes de resistência. Em experimentos em casa-de-vegetação, plântulas de macieira foram pulverizadas com ulvana (10 mg/mL) três ou seis dias antes da inoculação. Araújo *et al.* (2007), verificaram uma redução significativa de 50% (P≤0,08) na severidade da doença, somente aos 6 dai. Steiner & Schönbeck (1995), afirmam que existe a necessidade de um intervalo de tempo entre o tratamento e a inoculação, para ativação de genes de resistência (indução de resistência induzida).

Assim, neste trabalho testaram-se: a) o efeito curativo do fosfito de potássio (0-40-20) sobre a MFG, aplicado as 48 ou 72 hai em plântulas; b) a verificação de que aplicações pós-infeccionais de ulvana, não reduzem a MFG em plântulas; c) e a hipótese de que em maior intervalo de tempo entre o tratamento e a inoculação, resultam em um maior nível de controle da severidade da MFG em plântulas (Indução de resistência).

## **5.2- Material e Métodos**

Os ensaios foram realizados em casa-de-vegetação, no Laboratório de Fitopatologia (Labfitop) no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), do dia 21 de maio a 18 de junho de 2007 (Fase interna).

### **5.2.1- Fosfito de potássio e ulvana**

O fosfito de potássio, usado teve a concentração de NPK com 0%(N) - 20%(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) - 20%(K<sub>2</sub>O) sob nome comercial Fitofos k plus<sup>®</sup> da empresa Suquimo, S.L.

O polissacarídeo solúvel ulvana, foi obtido de *Ulva fasciata* conforme descrito por Paulert *et al.* (2007). Para tanto, 100g da alga seca foram autoclavados por duas horas a 110°C em 1 litro de água destilada. A solução aquosa foi filtrada, o polissacarídeo foi precipitado pela adição de três volumes de etanol por 48 horas a 20°C. Os compostos precipitados foram coletados por filtração e secos a 40-45°C. Em seguida, os compostos foram mantidos a 5°C até utilização nos ensaios.

### **5.2.2- Cultivo de plântulas**

As plântulas de macieira foram cultivadas em casa-de-vegetação e foram obtidas a partir de sementes de frutos de maçã Gala com base em metodologia adaptada de Brisset *et al.* (2000), Epagri (2002), Ortega *et al.* (1998) como segue: Distribuiu-se equidistantemente 25 sementes entre camadas de algodão previamente umedecido, em caixa plástica tipo “gerbox” (11 cm x 11 cm e 3,5 cm de altura). Para a quebra da dormência, as sementes foram incubadas a 5°C por um período de 50 dias.

Sementes germinadas que apresentavam radículas de comprimento  $\geq 5$  mm foram transferidas para sementeiras de isopor (68 cm x 34 cm e 6 cm de altura), contendo substrato solo argiloso esterilizado previamente com formalina 1%.

Após 30 dias as plântulas foram repicadas para vasos plásticos de 1L contendo o mesmo substrato das sementeiras, onde cresceram por mais 45 dias, até apresentarem em média 15 folhas expandidas.

Foram realizadas irrigações de acordo com as necessidades hídricas da planta. Na adubação foi usado fosfato monoamônio (12-61-0), colocando-se 0,25 g em cada vaso aos 45 dias de idade. Para controle de Oídio e pulgões pulverizou-se a cada 7 dias, enxofre 80% (5g/L) e inseticida Organodictorvos C.E. (5ml/L). Um dia antes do tratamento/inoculação, as folhas foram lavadas para retirar o resíduo de enxofre. Com o objetivo de separar as folhas inoculadas e/ou tratadas, daquelas que se desenvolveram posteriormente a inoculação e/ou tratamento foi inserido um anel plástico colorido na região do pecíolo foliar, logo acima da última folha expandida.

### **5.2.3- Avaliação do tratamento pós-infeccional com fosfito de potássio e ulvana**

Para avaliar o efeito pós-infeccional da aplicação de fosfito de potássio e ulvana no controle de *C. gloeosporioides*, as plântulas foram inoculadas com uma suspensão de  $3 \times 10^5$  conídios/ml, e mantidas em câmara úmida e escuro por 24 horas. Plantas foram pulverizadas as 48 ou 72 hai com fosfito de potássio (3  $\mu$ L/mL) ou ulvana (10 mg/ml). Plantas testemunhas foram pulverizadas com água destilada. Os tratamentos ficaram assim: Fitofós-k-plus (0-40-20) aplicado 48 hai; Fitofós-k-plus (0-40-20) aplicado 72 hai; Ulvana aplicado 48 hai; Ulvana aplicado 72 hai e testemunha aplicada água destilada as 48 e 72 hai. Avaliou-se a porcentagem de tecido necrosado de cada folha aos 4, 6 e 8 dai.

### **5.2.4- Avaliação do tratamento preventivo com ulvana**

Para avaliar o efeito preventivo da ulvana no controle de *C. gloeosporioides*, utilizou-se plântulas. Para tanto, protegeu-se as quatro folhas superiores com um saco plástico e em seguida, pulverizou-se as 10 folhas inferiores das plântulas com uma solução de ulvana (10 mg/ml) com o auxílio de uma pistola acoplada a um motocompressor de ar (Marca Schulz<sup>®</sup>, 20L/min, 25lbf/pol2) até o ponto de escorrimento. Uma hora após o tratamento, os sacos plásticos foram retirados e as plantas permaneceram em casa-de-vegetação até o momento da inoculação.

A solução de ulvana foi aplicada 9 dias antes da inoculação. Plantas

tratadas com água destilada serviram como testemunhas. As plantas foram inoculadas com uma suspensão de  $3 \times 10^5$  conídios/ml do *C. gloeosporioides* e incubadas por 24 horas em câmara úmida e escuro.

Avaliou-se a porcentagem de tecido necrosado de cada folha. Com estes dados se calculou a média aritmética da severidade aos 4, 6 e 8 dai das quatro folhas superiores (efeito sistêmico) e das folhas inferiores diretamente tratadas (efeito local).

#### **5.2.5- Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento usado nos experimentos foi o completamente casualizado, com 11 repetições por tratamento. Na análise estatística, foram considerados somente os segregantes suscetíveis, ou seja de 4 a 7 repetições.

Os dados obtidos foram submetidos inicialmente à estatística descritiva através do teste (Levene's test) e conforme as suas características foram classificados como paramétricos. Todos os dados analisados apresentaram-se como paramétricos, procedendo-se a Análise de Variância (ANOVA) das variáveis.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, seguido do teste de separação de médias SNK ( $P=0,05$ ). Os softwares utilizados foram Statistica 6.0 – Stat Soft®, versão 2001 e Sisvar® (Universidade Federal de Lavras), versão 2005.

### **5.3- Resultados**

#### **5.3.1- Efeito do tratamento pós-infeccional do fosfito de potássio e ulvana**

O tratamento com fosfito de potássio e ulvana em pulverizações pós-infeccionais, não diferiram estaticamente da testemunha, em aplicações as 48 ou 72 hai (Tab.11).

Tabela 11: Efeito do tratamento pós-infeccional (48,72 h após a inoculação), com fosfito de potássio e ulvana, sobre a evolução da área foliar necrosada em plântulas de macieira inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*.

Tratamento*	Área foliar necrosada (%)		
	Dias após a inoculação		
	4	6	8
Fosfito aplicado 48 hai	10,4	14,8	19,1 a
Fosfito aplicado 72 hai	16,9	19,6	23,1 a
Ulvana aplicado 48 hai	14,2	18,0	22,2 a
Ulvana aplicado 72 hai	23,9	32,5	41,1 b
Testemunha	21,9	26,5	30,0 ab

hai: Horas após inoculação. CV %: 36,9. Teste SNK ( $P \leq 0,05$ ), realizado na última avaliação (8 dias após a inoculação).

### 5.3.2 - Efeito do tratamento preventivo com ulvana

O tratamento preventivo com ulvana 9 dias antes da inoculação, não diferiu estatisticamente da testemunha em folhas tratadas e superiores (protegidas) (Tab.12).

Tabela 12: Efeito local e sistêmico de ulvana, aplicada nove dias antes da inoculação, sobre a percentagem de tecido foliar necrosado por *Colletotrichum gloeosporioides*.

Tratamento	Área foliar necrosada (%)			CV %
	Dias após a inoculação			
	4	6	8	
Efeito Local <sup>1</sup>	0,4	7,4	13,5	
Testemunha	1,0	10,0	17,6 n.s.	32,0
Efeito Sistêmico <sup>2</sup>	2,5	5,7	12,4	
Testemunha	3,4	4,9	9,8 n.s.	56,4

1: Na avaliação das folhas inferiores (efeito local) usou-se a média de 8 a 10 folhas. 2: Na avaliação das folhas superiores (efeito sistêmico) fez-se a média das 4 últimas folhas. n.s.: Não significativo. Teste SNK ( $P \leq 0,05$ ), realizado na avaliação aos 8 dias após a inoculação.

#### 5.4- Discussão

O tratamento curativo com fosfito de potássio (0-40-20) sobre a MFG em plântulas de macieira, não diferiu estaticamente da testemunha. Assim, o presente trabalho, onde se aplicou o fosfito as 48 ou 72 hai, poderia ter sua ineficiência explicada, por uma ou mais das seguintes hipóteses: a) na temperatura (30°C) em que foi realizado o ensaio, o fungo poderia ter se desenvolvido mais rapidamente e estar com uma relação parasitária estável, onde o produto não afetou o *C. gloeosporioides* (Bergamin Filho *et al.*, 1995); b) o fosfito teria se translocado rapidamente e acumulado em partes mais ativas de crescimento como: gemas, folhas novas emitidas não avaliadas ou até mesmo raízes, que são drenos conhecidos de fotoassimilados (Epagri, 2002); c) aplicações de fosfito em plântulas as 48 ou 72 hai não afetam o *C. gloeosporioides*; d) em temperaturas mais baixas e uma relação parasitária mais instável, talvez se encontrasse efeito na aplicação de fosfito em plântulas as 48 ou 72 hai, assim como foi observado em experimentos na Embrapa para a formulação 0-40-20 em aplicações as 48 hai.

Assim como se imaginava, o tratamento pós-infeccional de ulvana as 48 ou 72 hai, não diminui a severidade da MFG. Estes resultados reforçam os estudos de Araújo *et al.* (2007), que constataram que a ulvana (10 mg/mL), aplicada uma vez 24 hai em plântulas de macieira, não afeta o desenvolvimento da MFG em plantas tratadas. Sabe-se que este polissacarídeo não inibe diretamente o crescimento de diferentes espécies de fungos e bactérias patogênicas (Paulert *et al.*, 2007).

No tratamento preventivo, quando a solução de ulvana (10 mg/mL) foi pulverizada nas plântulas de macieira aos 9 dias antes da inoculação, não houve nenhuma redução significativa de severidade da MFG. Não se confirmando desta forma, a hipótese de que em um maior intervalo de tempo entre o tratamento e a inoculação, resultaria em um maior nível de controle do desenvolvimento da MFG em plântulas (Indução de resistência). Porém conhece-se que a ulvana pulverizada 6 dias antes da inoculação, apresenta efeito sistêmico, reduzindo a severidade da doença. Em experimentos em casa-de-vegetação Araújo *et al.* (2007) avaliaram o efeito da ulvana (10 mg/ml)

no controle da MFG (*C. gloeosporioide*). Plântulas de macieira, variedade “Gala”, foram pulverizadas 3 ou 6 dias antes da inoculação. A pulverização da ulvana 6 dias antes da inoculação, apresentou efeito sistêmico, reduzindo a severidade da doença em 50% ( $P \leq 0,08$ ) nas folhas superiores protegidas com os sacos plásticos durante a pulverização das plântulas. Em contraste, uma aplicação de ulvana aos 3 dias antes da inoculação, não diminuiu significativamente a severidade da doença, em relação à testemunha. Steiner & Schönbeck (1995), afirmam que existe a necessidade de um intervalo de tempo entre o tratamento e a inoculação, para ativação de genes de resistência (indução de resistência induzida).

Na verdade polissacarídeos da macroalga verde *Ulva*, induzem resistência em plantas de alfafa contra *Colletotrichum trifolii*, onde Cluzet et al. (2004), demonstrou ativação de vários genes de resistência nas plantas previamente tratadas. Polissacarídeos complexos são comumente encontrados nas paredes celulares de algas, os quais podem apresentar diferentes formas de atividade biológica, tais como eliciação de respostas de defesa da planta (Cluzet et al., 2004; Klarzynski et al., 2000; Stadnik & Maraschin, 2004). Uma das mais estudadas a respeito é alga marrom *Laminaria digitata* que acumula a laminarana, um oligômero linear de  $\beta$ -1,3 glucano, capaz de estimular as reações de defesa da planta contra vários patógenos. Isso acontece porque oligossacarídeos são naturalmente envolvidos no reconhecimento celular das interações de planta-patógeno exógenas (resultantes da degradação das paredes de fungos) ou endógenas (calose fragmentada no hospedeiro) (Klarzynski et al., 2000).

Porém, ainda existem poucos relatos sobre indução de resistência em macieira. Ortega et al. (1998) descreveram que o tratamento com o indutor sintético acibenzolar protege as plantas contra infecção por *Venturia inaequalis*. Em plântulas de macieira a indução de resistência por acibenzolar-s-methyl tem sido frequentemente associada com a ativação de peroxidases e  $\beta$ -1,3-glucanase, que se acumularam local e sistematicamente (Brisset et al., 2000).

Os resultados deste estudo indicam que aplicações pós-infeccionais de fosfito de potássio as 48 ou 72 hai, não reduzem a severidade da MFG em

plântulas de macieira. Já os resultados do tratamento pós-infeccional com ulvana as 48 ou 72 hai, reforçam os estudos de Araújo *et al.* (2007), que afirmaram que este polissacarídeo não afeta diretamente o desenvolvimento da MFG. Em aplicações preventivas com ulvana, não foi confirmando a hipótese de que aumentando o intervalo de tempo (de 6 para 9 dias) entre o tratamento e a inoculação, resultaria em um maior nível de controle do desenvolvimento da MFG em plântulas.



## **6- Outras atividades:**

### **Isolamento de *C. gloeosporioides* realizado na Embrapa**

Método: Imersão das folhas em hipoclorito de sódio (1%) por 30 segundos, lavagem em água destilada, secagem das folhas em papel toalha e realização de cortes nos tecidos foliares, para colocá-los em meio BDA (Valdebenito-Sanhueza, comunicação pessoal). Resultados: Isolados de *C. gloeosporioides* do pomar da Rasip, isolado do pomar da Schio e isolado do pomar de Embrapa. Todos os pomares estão localizados em Vacaria-RS.

### **Isolamento de *C. gloeosporioides* realizado na UFSC**

Método: Corte de pedaços de folhas com área de transição entre tecido sadio e doente e imersão em álcool 70% por 30 segundos, em seguida imersão em hipoclorito de sódio (0,5%) por 1 minuto e trinta segundos e por último lavagem dos pedaços de tecido foliar em água destilada, para colocar estes em placas com BDA. Resultados: Isolados de *C. gloeosporioides*, oriundos de pomares de Urubici-SC.

### **Avaliação da incidência de fuligem, sujeira da mosca e podridões em frutos de macieira**

Auxiliou-se o mestrando Pierri Spolti, em suas avaliações de frutos no campo e pós-colheita. Avaliou-se a incidência em frutos da fuligem (*Gloeodes pomigena*), sujeira da mosca (*Schyzothyrium pomi*), podridão amarga (*Glomerella cingulata*), podridão branca (*Botryosphaeria dothidea*), podridão carpelar (*Alternaria spp.* e *Fusarium sp.*) e podridão olho de boi (*Cryptosporiopsis perennans*).

### **Avaliação MFG em cultivares resistentes de macieira**

Auxiliou-se o doutorando Denis Salvati, em avaliações da severidade da MFG, em mudas antigas da coleção da Embrapa Uva e Vinho, de macieiras com e sem viroses.

### **Inoculação em fruto de maçã com *C. perennans***

Auxiliou-se o estagiário Vinicius Batnilei, em inoculações de *C. perennans* (podridão olho de boi) em frutos de macieira.

## 7- Experimentos com problemas:

Não foi possível utilizar os resultados obtidos em dois experimentos *in vitro* com *V. inaequalis*. Um por contaminação com Trichoderma (contaminação do laboratório). E outro por erro experimental.

Para *C. gloeosporioides*, não foi possível utilizar os resultados obtidos em dois experimentos *in vitro*. Um por erro experimental e outro pela baixa concentração de inoculo adotada.

Quando se avaliou a viabilidade de conídios de *C. gloeosporioides*, em folhas pulverizadas com fosfitos, não se utilizou os dados dos dois experimentos. Um por erro experimental e outro pela baixa concentração de inoculo escolhida.

Já em testes *in vivo* não foi possível avaliar um experimento com *V. inaequalis*, pois muitas plantas não apresentaram sintomas da doença. Em outro teste com MFG, não foi possível utilizar os resultados obtidos, pela baixa severidade de doença que as plantas apresentaram.

Avaliando os resultados dos experimentos realizados na Embrapa, observou-se que o tratamento com Fitofos-K-Plus<sup>®</sup> 0(N)-40%(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)-20%(K<sub>2</sub>O), estava com um controle diferente dos outros fosfitos de formulação 0-40-20. Desta forma, mediu-se o pH do Fitofos-K-Plus<sup>®</sup> utilizado na Embrapa, UFSC e de um produto novo, para comparar os pHs. Detectou-se que o pH do Fitofos-K-Plus<sup>®</sup> utilizado nos experimentos da Embrapa, estava em torno de 5.5, enquanto que Fitofos-K-Plus<sup>®</sup> usado na UFSC e de um produto novo, tinham pH 3. Assim eliminou-se o tratamento de Fitofos-K-Plus<sup>®</sup> de todos os experimentos realizados na Embrapa, pois este produto deveria estar com algum problema em sua solução.

## 8- Considerações finais

O estágio realizado na Embrapa Uva e Vinho foram de grande valia para a minha formação acadêmica, pois graças a esta oportunidade, foi possível compartilhar da experiência de vários pesquisadores, doutorandos, mestrandos e estagiários da empresa. O estágio trouxe-me a chance de conhecer a infraestrutura da empresa, de ver como é realizadas pesquisas na Embrapa, de adquirir mais conhecimentos sobre a cultura da maçã, pêra, morango e de aprofundar os estudos sobre *C. gloeosporioides* agente causal da MFG. Além disto, este estágio na Embrapa Uva e Vinho (Vacaria) abriram as portas para futuros ensaios com a MFG durante uma futura pós-graduação.

O trabalho de conclusão de curso me mostrou a importância de algumas técnicas para melhor condução de experimentos como: a) planejar bem os experimentos para realizá-los uma vez só, utilização de plantas e vasos homogêneos para diminuir o coeficiente de variação, manutenção de um laboratório sempre limpo para evitar contaminação com fungos indesejáveis.

Enfim o estágio na Embrapa (Vacaria) foi positivo em todos os aspectos e espero sinceramente trabalhar novamente nesta empresa durante a pós-graduação e ter as orientações da Dr(a) Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza, pesquisadora do maior gabarito na cultura da macieira.

## 9- Literatura citada:

ABREU, G. F. de. Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Dissertação (Mestrado). Florianópolis SC. Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

ARAÚJO, L.; BORSATO, L.C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; STADNIK, M.J. Modo de ação do fosfito de potássio e da ulvana sobre a Mancha Foliar da Gala (*Colletotrichum gloeosporioides*) em macieira. (Artigo submetido a Fitopatologia Brasileira), 2007.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. Vol. 1, Ceres: São Paulo. 919p. 1995.

BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F. & ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V de. & ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: FEALQ, p.11-28. 2005.

BONETI, J.I. da S.; KATSURAYAMA, Y. Doenças da macieira. São Paulo: Basf 1998.

BONETI, J.I. da S.; KATSURAYAMA, Y. Viabilidade do uso de fosfitos no controle da sarna-da-macieira. Agropecuária catarinense 18:51-54. 2005.

BRISSET, M.N.; CESBRON, S.; THOMSON, S.V.; PAULIN J.P. Acibenzolar-S-methyl induces the accumulation of defense-related enzymes in apple and protects from fire blight. European Journal of Plant Pathology 106:529-536. 2000.

COHEN, M.D.; COFFEY, M.D. Systemic fungicides and the control of oomycetes. Annual Review of Phytopathology 24:311-338. 1986.

CLUZET, S., TORREGROSA, C., JACQUET, C., LAFITE, C., FOURNIER, J., MERCIER, L., SALAMAGNE, S., BRIAND, X., ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M.T. & DUMAS, B. Gene expression profiling and protection of *Medicago truncatula* against a fungal infection in response to an elicitor from green algae *Ulva* spp. *Plant, Cell and Environment* 27:917-928. 2004.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em <http://www.cnpuv.embrapa.br/unidade/bases.html/>. Acesso em 06 Jun. 2007, 16:30.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>. Acesso em 09 Jun. 2007, 16:30.

EPAGRI, A cultura da macieira. 743 p. 2002.

FENN, M.E.; COFFEY, M.D. Studies on the in vitro and in vivo antifungal activity of Fosetyl-Al and Phosphorous acid. *Phytopathology* 75:1064-1068. 1984.

GEELLEN, J.A. An evaluation of Agri-Fos Supra 400 for the control of black spot and powdery mildew of apple in Hawke's Bay. North Hastings: Jar Geelen Research Ltda., Independent Horticultural Consultants, 15p. 1999.

GOËMAR, Laboratório do mar. Disponível em [www.goëmar.com](http://www.goëmar.com). Acesso em 09 Jun. 2007. 21:03.

GUEST, D.I.; GRANT, B.R. The complex action of phosphonates antifungal agents. *Biological Review* 66:59-187. 1991.

HAMADA, N.A. Caracterização morfológica, patogênica e molecular de isolados de *Colletotrichum* spp. em macieira. Dissertação (Mestrado). Florianópolis SC. Universidade Federal de Santa Catarina. 2005.

HAMADA, N.A. Influência da temperatura e do período de molhamento foliar na incidência e severidade da mancha-foliar-da-gala (*Colletotrichum sp.*). *Agropecuária catarinense* 18:73-77. 2005.

ICEPA, Disponível em <http://cepa.epagri.sc.gov.br/> Acesso em 06 Jun. 2007. 17:06.

JACKSON, T.J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G.E. St. J. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology*, 49:147-154, 2000.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I. da S. Avaliação da eficiência do Fitofos-K plus aplicado em diferentes esquemas de tratamento pré-colheita no controle da mancha da gala em macieira (*Colletotrichum sp.*), cv Gala (ciclo 2001/02). Disponível em <http://www.agrowiser.com.br/index.asp?tela=bibliografia&id=69>. Acesso em 06 Jun. 2007. 13:15.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I. da S. Previsão da sarna e da mancha da gala: sistema sempre alerta. In: Seminário nacional sobre fruticultura de clima temperado, 7. São Joaquim, SC. Anais, p. 33-39. 2006.

KLARZYNSKI, O.; PLESSE, B.; JOUBERT, J.M.; YVIN, J.C.; KOOP, M.; KLOAREG, B.; FRITIG, B. Linear beta-1,3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco. *Plant Physiology* 124(3):1027-1037. 2000.

LEITE JUNIOR, R.P.; TSUNETI, M.; KISHINA, A.Y. Ocorrência da mancha foliar de *Glomerella* em macieira no estado do Paraná. Londrina: (IAPAR, Informe de pesquisa 81, 6p.) .1988.

LIU, A.; CHEN, W.; LI, X. Changes in the postharvest physiology and lychee fruits latently infected by anthracnose fungus and the biological characteristic of the pathogenic fungus of the disease. *Acta-Horticulturae*. 665:365-371. 2005.

MALUSA, E.; TOSI, L. Phosphorous acid residues in apples after foliar

fertilization: results of field trials. *Food Additives and Contaminants* 22:541-548. 2005.

ORTEGA, F.; STEINER, U.; DEHNE, H.W. Induced resistance: a tool fungicide management. *Pesticide science* 53:193-196. 1998.

PAULERT, R. Atividade antimicrobiana e controle da antracnose do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizando polissacarídeo e extratos da macroalga marinha *Ulva fasciata*. Florianópolis SC. Dissertação Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. 2005.

PAULERT, R.; SMANIA, A.; STADNIK, M.J.; PIZZOLATTI, M. Antimicrobial properties of extracts from the green seaweed *Ulva fasciata* Delile against pathogenic bacteria and fungi. *Algological Studies* (No prelo), 2007.

SMILLE, R.; GRANT, B.R.; GUEST, D. The mode of action of phosphate: Evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. in plants. *Phytopathology*, 79:921-926, 1989.

STADNIK, M.J. Uso potencial de algas no controle de doenças de plantas. In: VIII Reunião de controle biológico de fitopatógenos, Cepec, Ilhéus, p.70-74. 2003.

STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. Manejo ecológico de doenças de plantas In: GARRIDO L.R. da; SONEGO O.R.; VALDEBENITO-SANHUEZA R.M. Controle racional de doenças da videira e da macieira. Florianópolis, SC: CCA/ UFSC. p 17-44. 2004.

STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. Manejo ecológico de doenças de plantas In: STADNIK, M.J.; MARASCHIN, M. Indução de resistência de plantas a fitopatógenos. Florianópolis, SC: CCA/ UFSC. pp. 221-244. 2004.

STADNIK, M.J. & PAULERT, R. Uso biotecnológico de macroalgas marinhas na agricultura. *Memórias do Museu Nacional*. Rio de Janeiro (No prelo). 2007

SAINDRENANT, P.; BARCHIETTO, T.; AVELINOP, J.; BOMPEIX, G. Effect of phosphite on phytoalexin accumulation in leaves of cowpea infected with *Phytophthora cryptogea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 32:425-435.1988.

STEINER, U. SHONBECK, F. Induced disease resistance in monocots. In: HAMMERSCHMIDT, R. & KUC, J. Induced resistance to disease in plants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p.86-110. 1995.

SUGUI, J.A. Estudos de matrizes extracelulares secretadas pelos fungos *Cochliobolus heterostrophus*, *Colletotrichum graminicola* e *Pestalotia malicola*. (Tese de Doutorado). Departamento de Bioquímica/UFPR.127p. 1998.

TALAMINI, V.; STADNIK, M.J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: Manejo ecológico de doenças de plantas. Florianópolis, SC: CCA/ UFSC. 2004. p 45-62. 2004.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; BECKER, W.; BONETI, J.I. da S.; KATSURAYAMA, Y; CZERMAINSKI, A.B.C. Manejo das doenças de verão na Produção Integrada de Maçã. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho2002. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 36, 11p). 2002.



# ANEXOS

## ANEXO 1

Variáveis analisadas no experimento *in vitro* com avaliação do efeito dos fosfitos de potássio sobre o crescimento micelial

### Crescimento micelial aos 7 dar

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	6	16466.664354	2744.444059	603.484	0.0000
erro	28	127.334600	4.547664		
Total corrigido	34	16593.998954			
CV (%) =	8.76				
Média geral:	24.3368571	Número de observações:		35	

### IVCM: Índice de velocidade de crescimento micelial

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	6	335.469874	55.911646	584.492	0.0000
erro	28	2.678440	0.095659		
Total corrigido	34	338.148314			
CV (%) =	8.91				
Média geral:	3.4728571	Número de observações:		35	

## ANEXO 2

Variáveis analisadas no experimento *in vitro* com avaliação do efeito do fosfito de potássio sobre a formação de colônias

Número de colônias formadas aos 6 dar

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	6	1087.885714	181.314286	2.324	0.0603
erro	28	2184.800000	78.028571		
Total corrigido	34	3272.685714			
CV (%) =	36.42				
Média geral:	24.2571429	Número de observações:		35	

TIC: Taxa de incremento de colônias

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	6	30.191634	5.031939	2.318	0.0608
erro	28	60.771320	2.170404		
Total corrigido	34	90.962954			
CV (%) =	36.44				
Média geral:	4.0431429	Número de observações:		35	

### ANEXO 3

Variáveis analisadas no experimento com avaliação do efeito das diferentes formulações comerciais de fosfito de potássio sobre a severidade da MFG, em plantas tratadas as 48 hai

#### Percentagem de tecido foliar necrosado aos 10 dai

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	6	83.651133	13.941856	3.451	0.0263
erro	14	56.553333	4.039524		
Total corrigido	20	140.204467			
CV (%) =	24.88				
Média geral:	8.0766667	Número de observações:		21	

#### Número de manchas necróticas aos 5 dai

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	6	25663.904762	4277.317460	3.205	0.0340
erro	14	18684.666667	1334.619048		
Total corrigido	20	44348.571429			
CV (%) =	30.23				
Média geral:	120.8571429	Número de observações:		21	

#### Número de manchas necróticas aos 10 dai

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	7	59982.291667	8568.898810	2.061	0.1095
erro	16	66534.666667	4158.416667		
Total corrigido	23	126516.958333			
CV (%) =	35.49				
Média geral:	181.7083333	Número de observações:		24	

## TIA: Taxa de incremento de área foliar necrosada

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	6	0.838629	0.139771	3.468	0.0259
erro	14	0.564267	0.040305		
Total corrigido	20	1.402895			
CV (%) =	24.90				
Média geral:	0.8061905	Número de observações:		21	

## TIN: Taxa de incremento de número de manchas necróticas

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	6	593.062857	98.843810	2.353	0.0878
erro	14	588.020000	42.001429		
Total corrigido	20	1181.082857			
CV (%) =	35.28				
Média geral:	18.3714286	Número de observações:		21	

## ANEXO 4

Variáveis analisadas no experimento com avaliação do efeito dos fosfitos de potássio (0-40-20) sobre a severidade da MFG, em plantas tratadas as 48 hai

### Porcentagem de tecido foliar necrosado aos 10 dai

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	2	81.683467	40.841733	3.858	0.0837
erro	6	63.516333	10.586056		
Total corrigido	8	145.199800			
CV (%) =	22.83				
Média geral:	14.2533333	Número de observações:		9	

### TIA: Taxa de incremento de área foliar necrosada

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	2	0.812067	0.406033	3.862	0.0835
erro	6	0.630733	0.105122		
Total corrigido	8	1.442800			
CV (%) =	22.73				
Média geral:	1.4266667	Número de observações:		9	

### Número de manchas necróticas aos 10 dai

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	2	2548.666667	1274.333333	0.247	0.7888
erro	6	30977.333333	5162.888889		
Total corrigido	8	33526.000000			
CV (%) =	30.79				
Média geral:	233.3333333	Número de observações:		9	

## TIN: Taxa de incremento de número de mancha necróticas

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	2	25.486667	12.743333	0.247	0.7888
erro	6	309.773333	51.628889		
Total corrigido	8	335.260000			
CV (%) =	30.79				
Média geral:	23.333333		Número de observações:	9	

## ANEXO 5

Variáveis analisadas no experimento com avaliação efeito do tratamento pós-infeccional do fosfito de potássio e ulvana sobre a severidade da MFG, em plântulas pulverizadas às 48,72 horas após a inoculação

Percentagem de tecido foliar necrosado aos 8 dai

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	4	1586.116867	396.529217	4.061	0.0129
erro	22	2148.010940	97.636861		
Total corrigido	26	3734.127807			
CV (%) =	36.91				
Média geral:	26.7681481	Número de observações:		27	



## ANEXO 6

Variáveis analisadas no experimento com avaliação do efeito do tratamento preventivo com ulvana

### Percentagem de tecido foliar necrosado (Efeito Local) aos 8 dai

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	1	40.844410	40.844410	1.635	0.2369
erro	8	199.901600	24.987700		
Total corrigido	9	240.746010			
CV (%) =	32.08				
Média geral:	15.5830000	Número de observações:		10	

### Percentagem de tecido foliar necrosado (Efeito sistêmico) aos 8 dai

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
trat	1	16.900000	16.900000	0.434	0.5283
erro	8	311.200000	38.900000		
Total corrigido	9	328.100000			
CV (%) =	56.44				
Média geral:	11.0500000	Número de observações:		10	