

CLAUDIA CARDOSO NUNES

**INTERAÇÃO ENTRE TEMPERATURA E
MOLHAMENTO NO DESENVOLVIMENTO DA
ENTOMOSPORIOSE DA PEREIRA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Amauri Bogo

Coorientador 1: Ricardo Trezzi Casa

Coorientador 2: Silvio André Meirelles
Alves

LAGES, SC

2015

CLAUDIA CARDOSO NUNES

**INTERAÇÃO ENTRE TEMPERATURA E
MOLHAMENTO NO DESENVOLVIMENTO DA
ENTOMOSPORIOSE DA PEREIRA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Banca examinadora:

Orientador:

Prof. PhD. Amauri Bogo
Universidade do Estado de Santa Catarina

Coorientador:

Prof. Dr. Ricardo Trezzi Casa
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro:

Dr. Silvio André Meirelles Alves
Embrapa Uva e Vinho

LAGES, SC 23/02/2015

Aos meus pais e ao meu
irmão que significam
minha base de vida, com
muito Amor

**DEDICO E
OFEREÇO!**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, pelas oportunidades proporcionadas e por ser minha fortaleza durante todos os momentos.

À minha família, de modo especial aos meus pais Janete e Claudinei e ao meu irmão Diego pelo apoio, respeito, amor e carinho que foram fundamentais nesta etapa.

À Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Centro Agroveterinário (CAV), Lages/SC pelo ensino de qualidade.

A todos os professores do CAV-UDESC, de modo especial à professora Aike Anneliese Kretzschmar, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo apoio financeiro.

Ao meu orientador Dr. Amauri Bogo pela orientação, comprometimento e, principalmente, pela credibilidade.

Ao meu coorientador, Dr. Silvio André Meirelles Alves pelos ensinamentos, essenciais na realização dos experimentos, pela disponibilidade e colaboração na discussão, análise dos dados e na revisão do abstract. Agradeço também a amizade e confiança.

Ao meu coorientador Dr. Ricardo Trezzi Casa pelas sugestões na revisão do trabalho.

Ao professor Fábio Nascimento da Silva pela dedicação e apoio durante a realização da minha docência supervisionada.

À Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado (EFCT) da Embrapa Uva e Vinho, pelo apoio

e subsídios oferecidos, e a todos os funcionários que contribuíram nas diversas etapas do projeto.

À Dra Andrea de Rossi Rufato pelo incentivo e fornecimento de equipamentos.

Aos assistentes de pesquisa do Laboratório de Fitopatologia da EFCT, Faustina Verlindo de Lima e Vanderlei Cândido da Silva pela amizade, carinho e auxílio na montagem dos experimentos. Ao assistente de pesquisa Claudio Barros pelo apoio no fornecimento de materiais.

Ao Senhor Olavo Caieron por ter possibilitado a coleta de material vegetal em seu pomar de peras localizado no município de Vacaria/RS.

Ao colega e amigo Jonatas Campos pela dedicação e contribuição em etapas decisivas, que me ajudaram a crescer pessoal e profissionalmente. Às demais colegas da Fitopatologia Claudia Piva e Mayra Juline Gonçalves pela amizade.

À amiga Diane Lima pela presença em momentos importantes. À amiga Leninha Armiliato Turmina pelas conversas e pelo incentivo.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação Pâmella, Bruna, Liese, Ricardo e Fernanda pela parceria nos momentos de estudo e nas viagens.

A todos que contribuíram na realização deste projeto meu carinho, respeito e gratidão.

*“La Agricultura es la
profesión propia del
sábido; la más adecuada
al sencillo y la ocupación
más digna para todo
hombre libre”*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Conídios de *Entomosporium mespili* visualizados em microscópio ótico com aumento aproximando de 100 vezes. 28
- Figura 2 - Colônias de *Entomosporium mespili* preservadas em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), em placa de Petri (A); visão lateral (B) e frontal (C) de colônias em tubos de ensaio com 20 dias de crescimento. 29
- Figura 3 - Sintomas de entomosporiose em folha de pereira cultivar Rocha vistos da face abaxial (A), e adaxial (B); Sintomas de entomosporiose em em fruto de pera cultivar William's (C). 31
- Figura 4 - Placas de Petri com meio de cultura ágar-água utilizadas em experimento de germinação de esporos de *Entomosporium mespili* (A) armazenadas em bandejas plásticas cobertas com saco plástico transparente acondicionadas em BOD (B). 39
- Figura 5 - Câmara úmida utilizada para o armazenamento de folhas de pereira inoculadas com *Entomosporium mespili*. 42
- Figura 6 - Folha de pereira apresentando lesões circulares de entomosporiose nos quatro pontos de inoculação (A); lesões de entomosporiose esporuladas apresentando acérvulos (*ac*) (B). 43
- Figura 7 - Mudras de pereira armazenadas em câmara de crescimento 'fitotron' sob condições controladas: mudras sem folhas logo após a quebra de dormência química (A) e mudras após a brotação (B). 47

- Figura 8 - Inoculação de *Entomosporium mespili* em folhas de pereira através do método de aspersão.....48
- Figura 9 - Mudanças de pereira envoltas em saco plástico (câmara úmida) após a inoculação com *Entomosporium mespili* (A); etapa de remoção das câmaras úmidas (B).49
- Figura 10 - Escala diagramática com sete níveis para quantificação da severidade de entomosporiose (*Entomosporium mespili*) em folhas de pereira (*Pyrus* spp.).50
- Figura 11 - Conídios de *Entomosporium mespili* vistos em microscópio óptico em aumento aproximado de 100 vezes apresentando tubo germinativo (*tg*) após 6 horas (A) e 48 horas de incubação (B).52
- Figura 12 - Germinação de conídios de *Entomosporium mespili* em diferentes tempos de incubação: 4 horas (A); 6 horas (B); 8 horas (C); 12 horas (D); 24 horas (E) e 48 horas (F).54
- Figura 13 - Germinação de conídios de *Entomosporium mespili* em diferentes temperaturas: 10°C (A); 15°C (B); 20°C (C); 25°C (D) e 30°C (E).55
- Figura 14 - Superfície de resposta de germinação de conídios de *Entomosporium mespili*, em função da temperatura e do tempo de incubação em meio de cultura ágar-água, descrita pela função $Y = B_1 * ((T - B_2)^{B_4}) * ((B_3 - T)^{B_5}) * (B_6 * (1 - (1 - B_7 / B_6)^* \exp(B_8 M)))$, onde Y é a germinação, T é a temperatura, M é o tempo de incubação e B₁ a B₈ são parâmetros do modelo.....56
- Figura 15 - Progresso da entomosporiose, em número de lesões por folha, em folhas de pereira sob diferentes temperaturas.62

- Figura 16 - Número de lesões de entomosporiose em folhas de pereira em diferentes temperaturas, 14 dias após a inoculação. . 63
- Figura 17 - Número de lesões de entomosporiose aos 14 dias após a inoculação em folhas mantidas na temperatura de 20°C, com diferentes modos de inoculação: face adaxial (superior) e abaxial (inferior). 64
- Figura 18 - Progresso da entomosporiose, em número de lesões por folha, em folhas de pereira sob diferentes temperaturas, após um período de 24 horas na temperatura de 20°C. 66
- Figura 19 - Progresso da entomosporiose em folhas de pereira mantidas por 24 horas em diferentes temperaturas e posteriormente armazenadas na temperatura de 20°C por 17 dias. Temperaturas de infecção: 5°C (A); 10°C (B); 15°C (C); 20°C (D); 25°C (E) e 30°C (F). 67
- Figura 20 - Progresso da entomosporiose em folhas de pereira sob diferentes períodos de molhamento foliar, na temperatura de 20°C, 21 dias após a inoculação. 69
- Figura 21 - Progresso da entomosporiose em folhas de pereira, na temperatura de 20°C, em diferentes períodos de molhamento foliar: 6 horas (A); 12 horas (B); 24 horas (C); 48 horas (D). 70

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Coeficiente de determinação (R^2) e valores da função Monomolecular, $Y=B_6*((1-(1-B_7/B_6)*\exp(-B_8*M)))$ onde Y é a germinação, M é o tempo de incubação, B_6 é a assíntota máxima, B_7 é um parâmetro do modelo, B_8 está relacionado à taxa de crescimento.57
- Tabela 2 - Coeficiente de determinação (R^2), e valores da função Beta-generalizada, $Y=B_1*((T-B_2)^{B_4}*(B_3-T)^{B_5})$, onde Y é a germinação, T é a temperatura, os valores B_2 e B_3 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima, B_1 , B_4 e B_5 são parâmetros da equação, sem significado biológico.....57
- Tabela 3 - Coeficiente de determinação (R^2), e valores da função Beta-monomolecular, $Y= B_1*((T-B_2)^{B_4}*((B_3-T)^{B_5})(B_6*(1-(B_7/B_6)*\exp(B_8M)))$, onde Y é a germinação, T é a temperatura, M é o tempo de incubação, os valores B_2 e B_3 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima, B_6 é a assíntota máxima, B_7 é um parâmetro do modelo, B_8 está relacionado à taxa de crescimento, onde, B_1 , B_4 e B_5 são os parâmetros da equação, sem significado biológico.....58
- Tabela 4 - Efeito da temperatura nos componentes monocíclicos da entomosporiose em folhas de pereira em ambiente controlado.61
- Tabela 5 - Parâmetros da regressão linear da severidade de entomosporiose com diferentes períodos de molhamento foliar.71

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1	A CULTURA DA PEREIRA.....	20
2.1.1	Classificação botânica, origem e evolução.....	20
2.1.2	Exigências climáticas.....	21
2.1.3	Cultivo de pereira no mundo.....	23
2.1.4	Cultivo de pereira no Brasil, importância econômica e situação atual.....	24
2.2	ENTOMOSPORIOSE.....	27
2.2.1	Etiologia.....	27
2.2.2	Ocorrência da entomosporiose da pereira.....	30
2.2.3	Sintomatologia.....	30
2.2.4	Ciclo das relações patógeno- hospedeiro.....	32
2.2.5	Estratégias de controle.....	36
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1	EFEITO DA TEMPERATURA E DO TEMPO DE INCUBAÇÃO NA GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE <i>Entomosporium mespili</i> EM MEIO DE CULTURA ÁGAR-ÁGUA.....	38
3.2	EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO DA ENTOMOSPORIOSE EM FOLHAS DE PEREIRA.....	41
3.3	EFEITO DA TEMPERATURA NA INFECÇÃO DE <i>Entomosporium mespili</i> EM FOLHAS DE PEREIRA.....	44
3.4	EFEITO DA DURAÇÃO DO	

	MOLHAMENTO FOLIAR NO PERÍODO DE INCUBAÇÃO E NA SEVERIDADE DA ENTOMOSPORIOSE DA PEREIRA.....	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1	EFEITO DA TEMPERATURA E DO TEMPO DE INCUBAÇÃO NA GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE <i>Entomosporium mespili</i> EM MEIO DE CULTURA ÁGAR-ÁGUA.....	52
4.2	EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO DA ENTOMOSPORIOSE EM FOLHAS DE PEREIRA.....	60
4.3	EFEITO DA TEMPERATURA NA INFECCÃO DE <i>Entomosporium mespili</i> EM FOLHAS DE PEREIRA.....	65
4.4	EFEITO DA DURAÇÃO DO MOLHAMENTO FOLIAR NO PERÍODO DE INCUBAÇÃO E NA SEVERIDADE DA ENTOMOSPORIOSE DA PEREIRA.....	68
5	CONCLUSÕES.....	75
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76
	REFERÊNCIAS.....	77

RESUMO

NUNES, Claudia Cardoso. **Interação entre temperatura e molhamento no desenvolvimento da entomosporiose da pereira**. 2015. 88f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2015.

A cultura da pereira é uma alternativa para a diversificação da fruticultura temperada na região Sul do Brasil. Dentre os problemas que afetam a expansão da cultura destaca-se a entomosporiose, doença causada pelo fungo *Entomosporium mespili*. Essa doença provoca lesões em folhas, frutos e eventualmente pode formar cancrios. O objetivo deste trabalho foi determinar a influência dos fatores ambientais temperatura e período de molhamento na germinação de conídios, infecção e colonização de *E. mespili*. Quatro experimentos foram realizados, sendo: (1) avaliação da germinação de conídios de *E. mespili* em meio de cultura ágar-água, nas temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25 e 30°C e 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 e 48 horas de incubação; (2) efeito das temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25 e 30°C no desenvolvimento da entomosporiose em folhas destacadas de pereira em câmaras úmidas; (3) efeito da temperatura de 20°C por 24 horas, na infecção de conídios de *E. mespili* em folhas destacadas de pereira e posterior colonização nas temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25 e 30°C, em câmara úmida; e (4) efeito dos períodos de molhamento foliar de 0, 6, 12, 24 e 48 horas na severidade da entomosporiose em mudas de pereira mantidas em fitotron à 20°C. As avaliações de germinação foram realizadas contando-se o número de conídios germinados e não germinados para obtenção da superfície resposta. Nos experimentos 2, 3 e 4 foram utilizadas folhas e mudas de pereira 'Rocha'. O efeito da temperatura na infecção e colonização foi avaliado em cada

tratamento através da determinação do período latente, do número de lesões e da esporulação, 14 dias após a inoculação. A severidade das folhas foi avaliada aos 4, 7, 11, 14, 17 e 21 dias após a inoculação. Os dados de germinação de conídios permitiram a obtenção de uma superfície resposta com base na multiplicação dos modelos Beta-generalizado (temperatura) e Monomolecular (incubação). As condições ótimas para germinação dos conídios foram de 12, 6 e 8h de incubação nas temperaturas de 10, 20 e 25°C, respectivamente. O período de incubação foi de 5 dias para as temperaturas de 15, 20 e 25°C e na temperatura de 10°C aumentou para 7 dias. A esporulação teve início 9 dias após a inoculação nas temperaturas de 20 e 25°C. O período latente foi de 10 dias na temperatura de 20°C. Nas temperaturas de 5 e 30°C não houve desenvolvimento de sintomas da doença. A temperatura durante a infecção teve efeito sobre o número máximo de lesões. A temperatura de 20°C proporcionou maior número de lesões/folha, seguida das temperaturas de 25 e 15°C. O aumento da duração do período de molhamento foliar resultou em aumento proporcional da severidade. A doença não ocorreu na ausência de molhamento foliar. A duração do período de molhamento foliar não influenciou o período de incubação, sendo que o início do aparecimento de sintomas foi de 4-5 dias em todos os tratamentos avaliados. A severidade máxima observada foi em torno de 4% para os períodos de molhamento foliar de 24 e 48h. O crescimento da doença no monociclo foi ajustado ao modelo linear. Os coeficientes de determinação da regressão linear da severidade apresentaram valores acima de 0,90.

Palavras-chave: *Entomosporium mespili*; Temperatura; Molhamento foliar; Infecção.

ABSTRACT

NUNES, Claudia Cardoso. **Effect of temperature and wetness duration on fabraea leaf spot development in pear.** 2015. 88f. Dissertation (Master of Plant Production) University of the State of Santa Catarina. Postgraduate Program in Plant Production, Lages, 2015.

The pear crop production is an alternative for diversification of temperate fruit production in southern Brazil. The fabraea leaf spot, caused by the fungus *Entomosporium mespili*, is a major disease of pear. This disease causes lesions on leaves, fruits and sometimes cankers are formed. The objective of this study was to determine the influence of environmental factors temperature and wetness duration on germination of conidial, infection and colonization of *E. mespili*. Four experiments were carried out as follows: (1) assessment of conidial germination of *E. mespili* in vitro at temperatures of 5, 10, 15, 20, 25 and 30 °C and incubation times of 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 and 48 hours; (2) effect of temperatures of 5, 10, 15, 20, 25 and 30 °C in the development of fabraea leaf spot in detached leaves of pear in humid chambers; (3) effect of temperature of 20° C by exposure for 24 h, in infection of *E. mespili* conidia on detached leaves of pear, and colonization after at temperatures of 5, 10, 15, 20, 25 and 30 °C in a humid chamber; and (4) effect of wetness period of 0, 6, 12, 24 and 48 hours after inoculation in severity of fabraea leaf spot on young pear trees in phytotron at 20 °C and 65% relative humidity. Germination was assessed by counting the spores germinated and non-germinated to obtainment of surface response. In experiments 2, 3 and 4 were used leaves and young trees of Rocha pear variety. The temperature effect on the infection and colonization in each treatment was evaluated by

determining the latent period, the number of lesions and sporulation at 14 days after inoculation. The severity on leaves was measured at 4, 7, 11, 14, 17 and 21 days after inoculation. The germination conidial data allowed fitting to Beta-generalized (temperature) and Monomolecular (incubation) models. The conditions for germination were 12, 6, and 8 hours wetness in 10, 20 and 25°C, respectively. Incubation period was 5 days in temperatures of 15, 20 and 25°C and increased to 7 days in 10°C. The sporulation began 9 days after inoculation at temperatures of 20 to 25°C. The latent period was 10 days at 20°C. There were no disease symptoms at temperatures of 5 to 30°C. The temperature during infection interfered on the final numbers of lesions. The temperature of from 20°C provides a greater number of lesions/leaf than temperatures of 25 and 15°C. The disease did not occur in the absence of leaf wetness. The increase of leaf wetness duration was proportional to severity increase. The duration of leaf wetness period did not influence the incubation period. The beginning of symptoms was 4-5 days in all treatments. Maximum observed severity was around 4% for the periods of 24 and 48 hours of leaf wetness. The disease growth in monocycle was fitted to the linear model. The coefficients of determination were above 0.90 for all treatments.

Keywords: *Entomosporium mespili*; Temperature; Leaf wetness; Infection.

1 INTRODUÇÃO

A pereira (*Pyrus* spp.) é uma fruteira pertencente à família *Rosaceae*. Dentre as frutas de clima temperado, a pera é a terceira mais consumida no Brasil, sendo superada pela maçã e o pêsego. Neste contexto, a pera representa um grande potencial de mercado na Região Sul do Brasil, que apresenta condições climáticas adequadas para seu cultivo. O cultivo da pereira é uma alternativa para reduzir a necessidade de importação dessa fruta. Como a produção brasileira não atende o consumo interno, estima-se que sejam importados anualmente cerca de 230 mil toneladas de fruta fresca, destacando o Brasil como o quarto maior importador de peras (IBRAF, 2014).

A cultura da pereira apresenta-se como alternativa para aumentar a diversificação da fruticultura na região sul do Brasil, que dispõe de potencialidade para produção de frutas de clima temperado e um grande número de pequenos e médios produtores, de modo que a diversificação da produção é uma necessidade para aumentar a eficiência das propriedades. Contudo, no Brasil a cultura da pereira tem tido pouco desenvolvimento devido à baixa produtividade das plantas, principalmente de cultivares europeias (*Pyrus communis* L.), as mais difundidas no país (CAMELATTO, 1997).

As principais causas limitantes para a expansão da cultura são: falta de cultivares produtores de frutas de qualidade, adaptados às condições climáticas; indefinição de portaenxerto e problemas fitossanitários, dentre eles a entomosporiose, considerada a principal doença da pereira no Brasil. A falta de informações sobre o monitoramento epidemiológico, a suscetibilidade de cultivares e formas eficientes de manejo integrado da

entomosporiose vem limitando a produção de peras (JONES; ALDWINCKLE, 1990; SILVA, 1997; FIORAVANÇO, 2007).

A entomosporiose, causada pelo fungo *Entomosporium mespili*, provoca pequenas lesões escuras e circulares em folhas e frutos. Também podem ser verificada a formação de cancrios em ramos. Quando não controlada provoca desfolha precoce das plantas no início do verão, reduzindo o potencial fotossintético da planta e, conseqüentemente, seu rendimento (JONES; ALDWINCKLE, 1990).

Além disso, quando as manchas atingem os frutos podem inviabilizar sua comercialização *in natura* devido a depreciação da epiderme.

Essa doença é comum na maioria dos países produtores de pera do mundo, sendo favorecida por verões quentes e úmidos. Por isso a entomosporiose é bastante problemática nas regiões produtoras de pera do Brasil, as quais apresentam as condições climáticas favoráveis.

Há poucas informações sobre a epidemiologia do patossistema pereira-*E. mespili* para as condições ambientais das regiões produtoras do Sul do Brasil.

Os processos epidemiológicos relacionados aos elementos da infecção do fungo são afetados pelos fatores meteorológicos, principalmente temperatura e umidade. Estes fatores ambientais têm efeito sobre etapas importantes no desenvolvimento de uma epidemia (VALE; ZAMBOLIM; CHAVES, 1990).

O período crítico (PC) de uma doença é dado pela interação dos fatores duração do molhamento e temperatura média ($PC = hM \times T^{\circ}C$). Uma infecção é bem sucedida quando a duração do molhamento for suficiente, a uma temperatura média, para dar início à colonização do hospedeiro. Sem período crítico não há infecção (REIS, 2005).

O conhecimento do período crítico permite inferir sobre o desenvolvimento da epidemia no campo. O desenvolvimento epidêmico no campo pode ser explicado através de ensaios realizados em câmaras de crescimento, os quais permitem isolar efeitos de fatores ambientais específicos (HAU; KRANZ, 1980; ROTEM, 1988).

Ainda existem muitas lacunas no conhecimento dos períodos críticos para o desenvolvimento da entomosporiose em pereira. Neste contexto o objetivo do presente trabalho foi determinar a influência da temperatura e do período de molhamento na germinação de conídios e na infecção de *E. mespili* e na severidade da entomosporiose, através de experimentos realizados sob condições controladas em câmaras de crescimento.

A melhor compreensão de etapas da epidemiologia da entomosporiose em pereira, a exemplo de outros estudos que envolvem o mesmo agente causal em outros hospedeiros, fornecerá subsídios para fundamentar o manejo integrado da doença, como a elaboração de estratégias de controle químico baseado no modo de ação dos diferentes fungicidas e a época adequada para realização das aplicações.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DA PEREIRA

2.1.1 Classificação botânica, origem e evolução

A pereira (*Pyrus* spp.) é uma espécie de fruteira pertencente à família *Rosaceae*, subfamília *Pomoideae*, gênero *Pyrus* (VAVILOV, 1951). A esta família também pertencem outras espécies bastante conhecidas como pessegueiro, macieira e morangueiro.

A pera possui dois centros de origem primários: (i) China, onde são cultivadas as espécies *Pyrus pyrifolia*, *P. ussuriensis* e *P. calleryana*; (ii) Oriente Médio, considerado o centro de origem primário da espécie *P. communis* (VAVILOV, 1951).

Em termos de classificação, as cultivares de pera mais consumidas no mundo podem ser divididas em dois tipos: europeias (*P. communis* L.) e asiáticas (*P. pyrifolia* var. *Culta*, *P. bretschneideri* e *P. ussuriensis*) (FAORO; YASUNOBU, 2001). Há também outras espécies de pereira que são utilizadas como plantas ornamentais (QUEZADA; NAKASU, 2003).

As cultivares europeias apresentam formato piriforme, polpa amanteigada, suculenta e aromática. São bastante apreciadas no mercado Europeu, nos Estados Unidos, América do Sul e países da Oceania. De modo geral as peras europeias devem ser colhidas na maturidade fisiológica, geralmente muito firmes, sendo amadurecidas antes do consumo, mediante o armazenamento refrigerado (FAORO, 2009).

As peras asiáticas são subdivididas em dois grupos: japonesa e chinesa. A pera japonesa (*P. pyrifolia*) apresenta frutos de formato arredondado, semelhante à maçã. A polpa é crocante, macia, doce e muito suculenta.

Para as pereiras asiáticas o amadurecimento do fruto pode ocorrer normalmente na planta. A pera chinesa (*P. ussuriensis*, *P. bretschnideri*) apresenta fruto piriformeovalado, com sabor pronunciado e pouco doce (FAORO, 2009).

Em relação ao uso de portaenxertos, há referências ao uso de *P. calleryana*, *P. betulaefolia*, os quais são considerados vigorosos, retardam a entrada em frutificação e proporcionam plantas de alto vigor, dificultando as práticas de manejo das plantas (AYUB; GIOPPO, 2009).

Os portaenxertos mais utilizados nos principais países produtores de peras são pertencentes à pereira europeia (*P. communis* L.) e ao marmeleiro (*Cydonia oblonga*) (FIDEGUELI; LORETI, 2009). Dentre os marmeleiros utilizados como portaenxerto para a pereira, destacam-se o 'Marmeleiro C' ('EMC') e o marmeleiro 'Adams' (RUFATO et al., 2012).

Os marmeleiros vem sendo utilizados no Brasil com o propósito de proporcionar plantas de pequeno porte e com frutificação a partir do segundo ano (MACHADO et al., 2013). Outra característica desejável conferida pelo uso do portaenxerto de marmeleiro é a uniformidade dos pomares (MILOSEVIC; MILOSEVIC, 2011).

Os portaenxertos marmelo A e Adams são os mais utilizados nas regiões produtoras do Sul do Brasil e podem exercerem também efeito sobre a susceptibilidade a entomosporiose (BOGO et al., 2013).

2.1.2 Exigências climáticas

A pereira é uma fruteira típica de clima temperado, o que a torna exigente em determinadas condições climáticas para o seu melhor desenvolvimento e frutificação. A exigência em frio, medida em unidade de frio (UF) é definida como o equivalente a uma hora de

exposição à temperatura de máxima eficiência, que é 7,2°C para a maioria das pereiras europeias (AYUB; GIOppo, 2009).

A pereira necessita de um período de inverno com frio suficiente para entrar em repouso hibernar e um período vegetativo com dias quentes e claros, considerando-se adequados os locais com climas frescos e temperaturas médias anuais de 20°C (PENTEADO, 1986). Regiões frias tendem a colher mais tardiamente que regiões quentes, além de produzirem frutas de melhor qualidade (AYUB; GIOppo, 2009).

As pereiras asiáticas apresentam média exigência em frio, de 300-550 horas $\leq 7,2$ °C. Já as pereiras europeias são mais exigentes, e necessitam de aproximadamente 700 horas $\leq 7,2$ °C. No Brasil três tipos de peras são plantadas e comercializadas: as europeias, as asiáticas e as híbridas, que podem ser consideradas como peras d'água (AYUB; GIOppo, 2009).

A maioria das cultivares de pereira produtoras de frutas de alta qualidade não tem boa adaptação às condições climáticas da região Sul do Brasil, principalmente, devido ao frio hibernar insuficiente para a satisfação da dormência (PETRI et al., 2001).

Para a região sul do Brasil recomendam-se cultivares de pereira que apresentem média a baixa exigência em frio, pois nessas regiões não ocorrem invernos com longo período de baixas temperaturas, necessárias para a superação do período de dormência. A exigência em frio requerida pela pereira é obtida com maior frequência em regiões situadas em altitudes acima de 700 metros (FAORO; LEITE; PETRI, 2001).

De acordo com Faoro (2002), nas regiões mais altas do Rio Grande do Sul, como as situadas nos municípios de Bom Jesus e Cambará do Sul, podem ser plantados cultivares europeias e asiáticas de alta

qualidade, enquanto na região de Vacaria existe alguma restrição ao plantio desses cultivares devido à menor incidência de frio.

2.1.3 Cultivo de pereira no mundo

No ano de 2010 a produção mundial de peras foi de 22,64 milhões de toneladas. Cerca de 85,15% da produção de pera no mundo é proveniente dos dez países com maior produção, demonstrando grande concentração. O maior produtor de peras do mundo é a China, sendo responsável por 67,3% da produção global (15.231.858 t). A Itália é o segundo maior produtor mundial, responsável por apenas 3,2% da produção mundial (736.646 t). Os Estados Unidos, com um percentual bastante semelhante ao da Itália foi o terceiro maior produtor (732.642 t) (FAO, 2012; MELLO, 2013).

Dentre os maiores produtores mundiais, os países que apresentaram maior aumento na produção, entre 2001 e 2010, foram: a Índia (91,0%), a China (71,2%), a África do Sul (35,0%) e a Argentina (20,3%). No ranking de maiores produtores de pera no mundo estes países são, respectivamente, quarto, primeiro, sexto e oitavo colocados (MELLO, 2013).

De 2001 a 2010, houve redução da área mundial plantada com pereiras, o que indica que o aumento da produção ocorreu especialmente em decorrência do aumento da produtividade. Entretanto, alguns países apresentaram aumento da área plantada, como a China, a Índia, a Argentina e a Argélia. A China aumentou a área em apenas 0,54%. A Argélia (que não faz parte dos dez países considerados os maiores em produção, mas está incluída nos dez maiores em área cultivada com a pereira), apresentou aumento de 113,85% na área. A Argentina apresentou aumento de área de 14,78%. Na

Itália e na Espanha ocorreu a redução da área cultivada em 6,93% e 24,27%, respectivamente (MELLO, 2013)

Na América do Sul, os principais países produtores são Argentina (738.500 t), Chile (154.500 t), Brasil (16.367 t) e Uruguai (15.800 t). A Argentina liderou a exportação de peras até 2008, registrando em 2010 um total de 419.587 toneladas de pera. A partir de 2009 a China passou a liderar as exportações, com 437.929 t (FAO, 2012).

Em relação a produtividade média, a Holanda ocupa o primeiro lugar (34,3 t ha⁻¹), seguida por Estados Unidos (31,8 t ha⁻¹), África do Sul (30 t ha⁻¹) e Argentina (26,7 t ha⁻¹). A China ocupa a oitava posição nesse ranking (14,64 t ha⁻¹) (FAO, 2012).

2.1.4 Cultivo de pereira no Brasil, importância econômica e situação atual

A cultura da pereira teve um período de desenvolvimento na década de 1930 no estado de São Paulo, quando as cultivares do tipo d'água predominavam em cultivos em inúmeros sítios e quintais, em uma fruticultura ainda incipiente. Após um período de alta oferta, o cultivo foi entrando em decadência no Brasil, até a quase dizimação no estado de São Paulo (CAMPO DALL'ORTO et al., 1996).

A introdução das primeiras cultivares de pereira japonesa no Brasil aconteceu no ano de 1950. Entre 1970 e 1980, ocorreu uma retomada da cultura com o plantio de cultivares desenvolvidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas. Uma nova tentativa ocorreu em 1990, quando houve o plantio de cultivares japonesas, em Santa Catarina (BRIGHENTI, 2011).

No Sul do Brasil a cultura da pereira foi introduzida simultaneamente à cultura da macieira (*Malus domestica*), a qual desde o início obteve

resultados satisfatórios. Em contrapartida, a cultura da pereira, como não obteve bons resultados, foi praticamente abandonada, recebendo poucos investimentos e tendo pouca pesquisa (AYUB; GIOPO, 2009).

A cultura da pereira, caracterizou-se por períodos alternantes de expansão e retração, sem evidenciar um crescimento sustentável (FIORAVANÇO, 2007). A produção de pera europeia, de alta qualidade, está concentrada no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina (FAORO; ORTH, 2010).

A área plantada com peras no Brasil vem diminuindo com o passar dos anos. Em 1990 havia 2.192 ha cultivados com pereira e atualmente a área é de aproximadamente 1.668 ha (IBGE, 2015). Ademais, a produtividade brasileira de peras fica em torno de 10,7 t ha⁻¹, deixando o país na 10^o posição do ranking de produtividade. Este valor é bastante inferior se comparado com a produtividade da Argentina que ocupa o 4^o lugar no ranking, com cerca de 26,7 t ha⁻¹ (FAO, 2012).

A produção de peras no Brasil atualmente está estimada em 22.078 t. O estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor nacional, sendo responsável por mais de 50% da produção total do país, registrando 11.060 t produzidas. Os demais estados brasileiros produtores de pera são: Santa Catarina (7.002 t), Paraná (3.191 t), Minas Gerais (527 t) e São Paulo (298 t) (IBGE, 2015).

A pera é uma das frutas de clima temperado mais consumidas no Brasil, e a produção nacional não chega a representar 10% do que é consumido. Neste contexto de enorme disparidade consumo *versus* produção, a alternativa para abastecer o mercado interno é a importação.

São importadas para nosso país, atualmente, cerca de 230 mil toneladas de pera ao ano, colocando o Brasil

na 3^o posição entre os maiores importadores de pera do mundo. As duas primeiras posições são ocupadas pela Rússia e União Europeia. A pera é o primeiro item em termos de volume e valores a impulsionar a balança comercial de frutas no Brasil, e chega a representar 50% da importação total de frutas in natura (FAO, 2014).

A pereira é a única frutífera relevante, de clima temperado, cuja área de plantio ainda não está plenamente desenvolvida no Brasil. É também uma das espécies menos estudadas em nosso meio (FAORO, ORTH, 2010).

A maioria das peras consumidas no Brasil é oriunda da Argentina, aproximadamente 87% do total importado. São fornecedores de peras para o Brasil também os países Portugal, Estados Unidos, Espanha, Uruguai, Chile e Itália (FAO, 2014).

Com uma demanda de consumo bastante alta e produção incipiente, o mercado não é fator limitante para a expansão do cultivo de pereiras. Além disso, as condições de solo e clima na região Sul do Brasil são favoráveis de produção de peras (FAORO; NAKASU, 2001).

Visto que o mercado e condições edafoclimáticas são favoráveis, Faoro e Orth (2010) relatam que a estagnação ou pouca importância da cultura da pereira no Brasil deve-se à baixa produtividade e qualidade dos frutos obtidos até o momento, essencialmente devido à falta de cultivares com frutos de alta qualidade que sejam bem adaptadas às condições do pouco frio hibernal existente no País.

Outros fatores também contribuem para isso, tais como a falta de informações referentes ao comportamento de portaenxertos; o controle inadequado de doenças e pragas; a falta de financiamento de longo prazo para a implantação de novos pomares; a falta de disponibilidade de mudas de alta qualidade; a deficiência

no manejo das plantas e a competição de outras frutíferas de retorno econômico mais rápido, como a macieira (FIORAVANÇO, 2007; FAORO; ORTH, 2010).

No Brasil, os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina reconhecidamente oferecem as melhores condições climáticas para a cultura da pereira. Entretanto, deve-se ressaltar que essas condições não são ideais, principalmente devido ao excesso de umidade que geralmente ocorre durante o período de desenvolvimento vegetativo, favorecendo a incidência de doenças foliares e podridões em frutos.

Neste contexto, é muito importante o aumento de pesquisas e o consequente repasse das informações sobre a pereira aos produtores rurais além de outras ações governamentais, objetivando o aumento da área plantada. Assim, oferecer-se-á mais uma importante opção de renda, e o desenvolvimento da cultura trará economia de divisas ao Brasil (FAORO; ORTH, 2010).

2.2 ENTOMOSPORIOSE

2.2.1 Etiologia

A entomosporiose causada pelo fungo *Entomosporium mespili* (DC. Sacc), é a principal doença da cultura da pereira (*Pyrus* spp.) no Brasil.

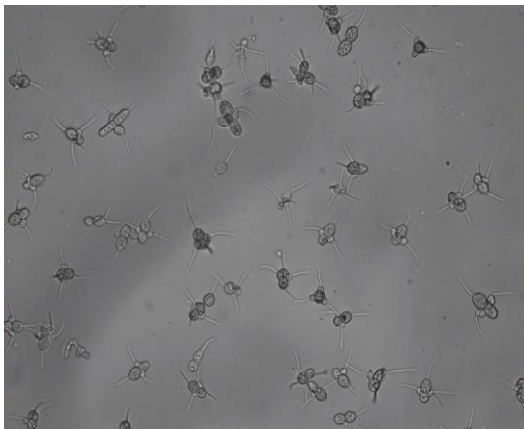
O estágio conidial do fungo já foi referido como *Entomosporium maculatum* Lévl. (BAUDOIN, 1986a). Entretanto, Sivanesan e Gibson (1976) deram como nome prioritário *E. mespili* (DC, ex Duby) Sacc (anamorfo: forma imperfeita), o qual é o nome atualmente usado. Dentre os teleomorfos (forma perfeita) encontram-se *Fabraea maculata* Atk. e *Diplocarpon maculatum* Atk. (BELL, VAN der ZWET, 2005).

Os conídios são hialinos e formados por quatro células, geralmente em forma de cruz, sendo duas células

centrais (basal e apical) e duas células laterais menores. O corpo de frutificação do fungo é formado pelos acérvulos. Com exceção da célula basal, as demais células podem conter cerdas finas nas extremidades. O tamanho dos conídios é de 18-20 μm de largura e 12-14 μm de comprimento (Figura 1). Essas características conferem a aparência semelhante a um inseto (do grego “Éntomon”, que significa inseto e, por sua vez, é derivado do radical “éntomos”, que significa cortado, dividido). Portanto, o nome *Entomosporium* se refere ao fato do conídio ser dividido em partes.

Na forma perfeita há formação de um apotécio, constituído pelos ascos, dos quais são liberados os ascósporos.

Figura 1 - Conídios de *Entomosporium mespili* visualizados em microscópio óptico com aumento aproximando de 100 vezes.



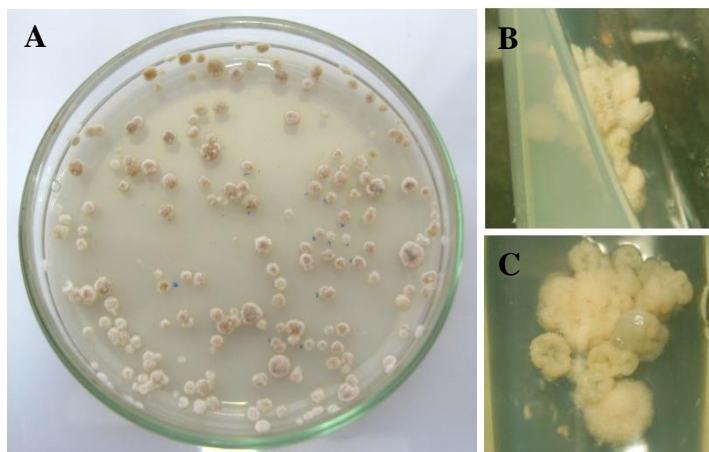
Fonte: produção do próprio autor, 2015.

O patógeno é de difícil isolamento e crescimento em meio de cultura (Figura 2A) (VAN Der ZWET;

STROO, 1984). Para a realização destes procedimentos, com êxito, torna-se necessário seguir um protocolo específico, através da técnica de isolamento direto (ALVES; SILVA; NUNES, 2012).

O isolamento pode ser realizado em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), porém as colônias apresentam crescimento lento, atingindo de 2 a 3 mm de diâmetro, com textura veludosa após 20 dias. As bordas são bem delimitadas e com variação de coloração em relação ao centro da colônia. A coloração das colônias apresenta variações de bege rosado e as bordas adquirem tonalidades mais claras (Figura 2, B-C) (ALVES; SILVA; NUNES, 2012).

Figura 2 - Colônias de *Entomosporium mespili* preservadas em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), em placa de Petri (A); visão lateral (B) e frontal (C) de colônias em tubos de ensaio com 20 dias de crescimento.



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

2.2.2 Ocorrência da entomosporiose da pereira

A entomosporiose ocorre na maioria das regiões produtoras de pera do mundo (JONES; ALDWINCKLE, 1990). Há relatos da ocorrência de entomosporiose nos países África do Sul, Austrália, Canadá, Estados Unidos, Índia, Israel, Japão e Nova Zelândia (STOWELL; BAUCKUS, 1966). Na América do Sul, a entomosporiose já foi registrada na Argentina, Brasil e Paraguai (JONES, ALDWINCKLE, 1990).

O patógeno *E. mespili* causa infecções em mais de 50 espécies de plantas, sendo a maioria da família *Rosaceae*, como a pereira, a macieira e o marmeleiro, sem diferenças de patogenicidade entre as espécies da sub-família *Pomoideae* (JONES, ALDWINCKLE, 1990). No Brasil os hospedeiros comuns são a pereira, o marmeleiro e a macieira.

Há estudos sobre *E. mespili* causando doenças em plantas dos gêneros *Armelanchier alnifolia* Nutt, uma planta frutífera perene pertencente à família *Rosaceae*, e em *Photinia x fraseri* Dress nos Estados Unidos (BAUDOIN, 1986a; LANGE et al., 1998; RONALD; ST-PIERRE, 2002; HOLSTAG et al., 2003). Também são hospedeiros comuns os gêneros *Chaenomeles*, *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Mespilus*, *Pyracantha* e *Sorbus* (JONES, ALDWINCKLE, 1990).

Embora a entomosporiose seja mais problemática no Brasil do que nos demais países produtores ainda não se sabe qual o período crítico para a doença nas principais regiões produtoras no Sul do país.

2.2.3 Sintomatologia

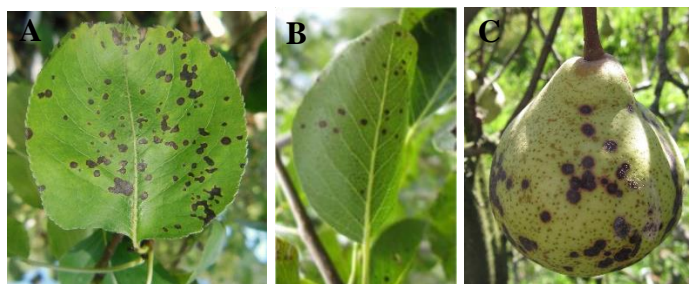
Também conhecida como requeima, a entomosporiose da pereira provoca o aparecimento de pequenas lesões no limbo foliar e na epiderme dos frutos.

Sabe-se que em altas severidades pode provocar desfolha e reduzir o potencial fotossintético da planta e, conseqüentemente, o seu rendimento (NAKASU et al., 2007). Contudo, ainda não há estudos que determinem o limiar de dano econômico ou estabeleçam uma relação entre severidade e desfolha.

Os sintomas são visíveis em ambas as faces das folhas jovens, constituindo lesões pequenas (Figura 3A-B), avermelhadas a púrpuras, tornando-se marrom-escuras, podendo aparecer rodeadas por um halo clorótico. Em severidades acima de 10% pode ocorrer coalescimento de lesões (Figura 3A) (NUNES, ALVES, 2012).

As folhas severamente infectadas apresentam aspecto necrótico, amarelecem e caem. Nos frutos, há formação de manchas necróticas semelhantes às folhas (Figura 3C) que, porém, ficam deprimidas à medida que o fruto cresce. Além disso, podem aparecer rachaduras que favorecem o estabelecimento de outros microorganismos (JONES; ALDWINCKLE, 1990).

Figura 3 - Sintomas de entomosporiose em folha de pereira cultivar Rocha vistos da face abaxial (A), e adaxial (B); Sintomas de entomosporiose em em fruto de pera cultivar William's (C).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Os ramos de crescimento anual podem apresentar lesões no início ou no meio do verão, com manchas enegrecidas bastante visíveis. Estas lesões podem evoluir para cancos (BELL; VAN der ZWET, 2005).

2.2.4 Ciclo das relações patógeno-hospedeiro

As doenças que causam manchas foliares, como é o caso da entomosporiose, são tipicamente doenças policíclicas (AGRIOS, 1997). Para esse grupo de doenças, além da quantidade de inóculo inicial, a taxa de crescimento da doença assume um papel importante na epidemia.

As epidemias se desenvolvem por processos distintos que compreendem as fases de infecção, colonização, produção de inóculo, disseminação e sobrevivência. Estes processos são afetados pelos fatores meteorológicos principalmente temperatura, umidade relativa do ar, orvalho e chuva. Conhecer as interações entre os fatores climáticos e as diferentes fases do ciclo da doença permite prever a ocorrência das epidemias, bem como a taxa de aumento das doenças (VALE; ZAMBOLIM; CHAVES, 1990).

A inclusão do fator tempo no ciclo de infecção permite a definição de diversos períodos de interesse epidemiológico: período de incubação, período latente e período infeccioso. Período de incubação pode ser definido como o período de tempo decorrido entre a deposição do patógeno na superfície do hospedeiro e o aparecimento dos primeiros sintomas; período latente como período de tempo decorrido entre a deposição do patógeno na superfície do hospedeiro e o aparecimento dos primeiros sinais (estruturas reprodutivas); período infeccioso representa o período de tempo em que uma lesão permanece produzindo estruturas reprodutivas (AMORIM; PASCHOLATI, 2011).

A duração dos períodos latente e infeccioso tem grande importância no desenvolvimento de epidemias, já que influenciam sua velocidade e/ou duração (AMORIM; PASCHOLATI, 2011). Sendo assim, o conhecimento destes períodos são de fundamental importância no estudo de doenças policíclicas.

Os fatores atmosféricos influenciam as epidemias por intermédio dos seus efeitos nas várias fases do ciclo de vida dos patógenos, à medida que elas interagem com respostas específicas de plantas individuais. Geralmente os estudos sobre fatores climáticos envolvem o binômio temperatura-molhamento foliar, e permitem determinar as condições favoráveis ao desenvolvimento da doença (VALE, 1990).

A temperatura é o fator mais comumente correlacionado com a incidência e severidade de doenças. Existe um ótimo de temperatura para o desenvolvimento de fitopatógenos e uma temperatura máxima e mínima, além das quais os patógenos sobrevivem, mas não são capazes de se desenvolver. A maioria dos fungos depende da disponibilidade de um filme de água na superfície da folha para sua germinação e infecção (VALE; ZAMBOLIM; CHAVES, 1990).

A alta umidade do ambiente caracterizada pela umidade relativa do ar e pelo tempo de molhamento foliar, originado por chuva, orvalho, nevoeiro ou irrigação, facilita o início do processo infeccioso de muitos fungos. Assim, a chuva é um fator meteorológico importante, pois eleva a umidade relativa do ar, proporciona molhamento foliar e pode influenciar na dispersão e disseminação dos esporos (HELDWEIN, 1997).

É difícil medir acuradamente o molhamento foliar e, não raro, ele é estimado por meio da umidade relativa do ar, considerando os períodos em que a mesma se encontra acima de 90% (GLEASON et al., 1994;

WILSON et al., 1999). O molhamento foliar depende de vários fatores, dentre eles umidade relativa do ar e do solo, radiação, principalmente no período noturno, precipitação e velocidade do vento.

A influência da temperatura na quantificação dos componentes monocíclicos como período latente, frequência de infecção, período infeccioso e produção de esporos tem sido estudada em diversos sistemas patógeno-hospedeiro, já que esses dados são de grande utilidade na construção de modelos de simulação de epidemias (ZADOKS; SCHEIN, 1979). No entanto, para o patossistema *E. mespili*-pereira, há poucos dados sobre a epidemiologia da doença.

A principal fonte de inóculo primário de *E. mespili* são as folhas de pereira caídas do ano anterior que permanecem no local de cultivo (JONES; ALDWINCKLE, 1990). Os esporos sobrevivem durante o inverno por meio da formação de corpos de frutificação (apotécio), constituído pelos ascos, dos quais são liberados os ascósporos (fase sexuada) na primavera, quando as condições climáticas adequadas são reestabelecidas.

Dentro dos apotécios encontram-se as ascas, compostas por oito ascósporos, os quais são hialinos e com duas células. Quando atingem a maturidade os apotécios projetam-se acima da superfície da cutícula foliar e podem ser disseminados

Os ascósporos são liberados dos apotécios em folhas caídas durante o inverno durante períodos chuvosos do final do inverno - início da primavera (BOGO et al., 2012; GONÇALVES et al., 2013).

Não há informações sobre períodos críticos ideais para a liberação dos ascósporos nas regiões produtoras de pera no Brasil.

Conídios e ascósporos produzidos em folhas podem sobreviver ao inverno (STOWELL; BAUCKUS,

1966), constituindo a principal fonte de inóculo primário. Entretanto, cancos de ramos jovens podem assumir maior importância na sobrevivência do patógeno sob diferentes condições climáticas e para algumas cultivares, através da manutenção do inóculo secundário (PLAKIDAS, 1941; ROSENBERGER, 1981).

Não há relatos de que nas condições brasileiras exista a forma perfeita do fungo (*F. maculata*). A forma perfeita também não foi observada no Japão (HORIE; KOBAYASHI, 1980). Neste contexto, a ocorrência da doença nos pomares brasileiros pode estar associada a sobrevivência do patógeno na forma assexuada a partir das fontes de inóculo de restos culturais ou cancos de ramos.

De acordo com Jones e Aldwinckle (1990), as condições para que ocorra a infecção de *E. mespili* em pereira são de 12, 8 e 8 horas de molhamento para 10, 20 e 25°C, respectivamente. As lesões em folhas de pereira começam a aparecer sete dias após o início da infecção. A suscetibilidade da doença em folhas e frutos não diminui com o avanço da maturidade.

Em folhas jovens a penetração ocorre em ambas as faces da folha (abaxial e adaxial) via células da cutícula e células guarda, devido a sua menor espessura. Em folhas maduras a penetração ocorre preferencialmente na superfície abaxial através de células-guarda e estômatos (VAN der ZWET; STROO, 1985; BAUDOIN, 1986a).

Os conídios são disseminados a partir dos cancos de ramos e folhas através da ação do vento e respingos, pelo impacto de gotas sobre as folhas presentes nos restos culturais. Os cancos de entomosporiose raramente persistem em ramos de dois anos (BELL; VAN der ZWET, 2005).

Em condições de severidades acima de 10% a doença apresenta curva de crescimento do tipo exponencial, o que pode ser explicado pela sua característica policíclica, em virtude do aumento do

inóculo no decorrer do processo da epidemia (NUNES et al., 2013).

2.2.5 Estratégias de controle

Podas de limpeza para retirar os ramos e folhas velhas com sintomas e remover restos culturais são eficientes para reduzir as fontes de inóculo de *E. mespili* (CORRÊA et al., 2014).

Dentre as pereiras cultivadas, não há nenhuma cultivar resistente a entomosporiose (JONES, ALDWINCKLE, 1990; BOGO et al., 2013). Nunes et al. (2013) confirmam essa afirmação aos descrevem que a suscetibilidade à doença não esteve associada a uma cultivar específica em experimentos realizados em condições de campo com cultivares europeias. Gonçalves et al. (2013) relatam que a cultivar Santa Maria possui maior suscetibilidade à entomosporiose do que outras cultivares Rocha e Abate Fetel.

Uma vez que todas as cultivares são suscetíveis à doença, a principal medida de controle para a entomosporiose é a utilização de fungicidas. O agente causal pode ser controlado com o uso de fungicidas (HAGAN et al., 1982; LAMBE; BAUDOIN, 1984) sendo necessárias pulverizações frequentes para proteger novas áreas de crescimento que ficam predispostas à infecção (HAGAN et al., 1982; PIERCE McCAIN, 1983).

A aplicação de fungicida a base de Mancozeb é eficiente para o controle de *F. maculata* em pereira e marmeleiro nos Estados Unidos (ROSEMBERGUER et al., 2009).

O programa de melhoramento da pereira no Brasil busca desenvolver variedades adaptadas às condições locais e resistentes a entomosporiose (NAKASU; LEITE, 1992).

Há diversas cultivares de pereira sendo testadas, principalmente pelas Estações Experimentais da EPAGRI, da EMBRAPA e do IAC. Na Epagri/Estação Experimental de Caçador, está localizado o maior Banco de Germoplasma de pera do Brasil, no qual existem 34 acessos do tipo asiático e mais 164 acessos de cultivares europeias e híbridos.

Em face das mudanças climáticas, ora em andamento, tornam-se estratégicos a pesquisa e o lançamento de novas cultivares de pereira, mais adaptadas às condições edafoclimáticas do Sul do Brasil (FAORO; ORTH, 2010). Porém a busca de resistência é geralmente lenta e laboriosa, podendo demorar vários anos para o lançamento de cultivares.

No Brasil o controle químico da entomosporiose pode ser realizado através de pulverizações com produtos fungicidas cúpricos. Corrêa et al. (2014) citam que o controle da entomosporiose pode ser realizado através dos fungicidas Mancozeb e Tiofanato Metílico.

O conhecimento das condições climáticas que favorecem o desenvolvimento da doença é fundamental para se delimitar estratégias de controle (BOGO et al., 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado (EFCT), localizado no município de Vacaria, RS.

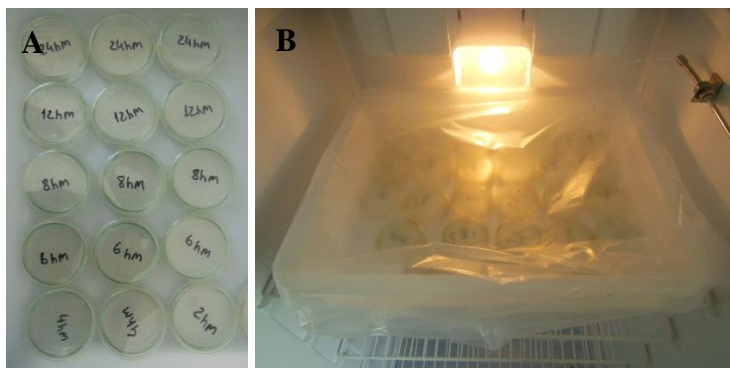
3.1 EFEITO DA TEMPERATURA E DO TEMPO DE INCUBAÇÃO NA GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE *Entomosporium mespili* EM MEIO DE CULTURA ÁGAR-ÁGUA

Folhas de pereira cultivar Rocha com sintomas de entomosporiose foram coletadas e lavadas em água destilada esterilizada. As lesões foram raspadas cuidadosamente com um bisturi e os conídios colocados em um Becker contendo água destilada e esterilizada e Tween 80 (1 gota para 50 mL de água), e em seguida a suspensão foi homogeneizada em agitador magnético. A concentração dos conídios foi estimada em câmara de Neubauer e ajustada para 10^5 esporos.mL⁻¹.

Em placas de Petri de vidro (15 x 60 mm) contendo meio de cultura ágar-água (2%) adicionou-se uma alíquota de 50µL da suspensão, a qual foi espalhada no meio de cultura através de uma alça de Drigalsky (Figura 4). As placas foram colocadas em bandejas plásticas desinfestadas com álcool (70 %) e cobertas com saco plástico transparente e armazenadas em câmaras de crescimento, tipo BOD (Biochemical Oxygen Demand), (Figura 4B) nas temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25 e 30°C, no escuro.

De maneira combinada, após os intervalos de tempo de 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 e 48 horas adicionou-se às placas 100µL de lactoglicerol para interrupção do processo de germinação.

Figura 4 - Placas de Petri com meio de cultura ágar-água utilizadas em experimento de germinação de esporos de *Entomospodium mespili* (A) armazenadas em bandejas plásticas cobertas com saco plástico transparente acondicionadas em BOD (B).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Os tratamentos foram avaliados quanto à germinação em microscópio óptico em aumento de 100 vezes, contando-se 100 conídios em cada placa classificando-os como germinados e não-germinados. Foram considerados germinados os conídios que apresentaram tubo germinativo maior que o diâmetro do conídio.

Para a verificação da eficiência do lactoglicerol na paralização da germinação dos conídios, as placas de Petri do tratamento de período de molhamento zero foram avaliadas em dois momentos.

A primeira contagem de germinação foi realizada logo após a colocação do lactoglicerol (tempo zero), e posteriormente as placas foram armazenadas novamente nas temperaturas de cada combinação. A segunda contagem de germinação foi realizada ao final do experimento juntamente com as placas do tratamento de 48 horas de molhamento. Sendo assim, a eficiência do

lactoglicerol pode ser confirmada através da repetibilidade do resultado obtido na primeira contagem (germinação=0%).

O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com seis temperaturas e oito tempos de incubação. Cada parcela foi constituída de uma placa de Petri e cada tratamento teve quatro repetições. A análise estatística dos dados obtidos foi realizada por meio de regressões não lineares, utilizando o programa STATISTICA, versão 6.0 (STATSOFT, 2001).

O efeito da temperatura sobre a germinação de *E. mespili* foi ajustado ao modelo Beta generalizado: $Y = B_1 * (((T - B_2)^{B_4}) * ((B_3 - T)^{B_5}))$, onde B_2 e B_3 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima, B_1 , B_4 e B_5 são os parâmetros da equação, sem significado biológico, T é a temperatura e Y é a variável resposta, germinação (HAU; KRANZ, 1990). Para a estimativa das equações foram utilizados os dados de temperatura entre 10 e 30°C.

O efeito da incubação na germinação de *E. mespili* foi ajustado ao modelo Monomolecular: $Y = B_6 * (1 - (1 - B_7 / B_6) * \exp(-B_8 M))$, onde Y representa a variável resposta, B_6 é a assíntota máxima, B_7 é um parâmetro do modelo, B_8 está relacionado à taxa de crescimento e M representa o tempo de incubação.

Posteriormente os modelos foram multiplicados para a elaboração de uma superfície de resposta, e assim possibilitaram a verificação do efeito de diferentes combinações de temperatura e de incubação na germinação de *E. mespili*. O experimento foi repetido em duas ocasiões e os resultados expressos como média.

3.2 EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO DA ENTOMOSPORIOSE EM FOLHAS DE PEREIRA

Uma suspensão de inóculo foi preparada a partir de colônias de *E. mespili*, as quais foram maceradas em cadinho de porcelana e transferidas para um Becker de vidro contendo água destilada esterilizada e Tween 80 (1 gota para 50 mL de água). Em seguida a suspensão foi homogeneizada em agitador magnético e a concentração dos conídios foi estimada em câmara de Neubauer e ajustada para 10^4 esporos.mL⁻¹.

Esta suspensão foi utilizada para inocular folhas de pereira (cultivar Rocha) que foram destacadas das mudas num período máximo de 60 dias após a brotação e colocadas sobre lâminas de isopor, dentro de bandejas plásticas contendo água no seu interior.

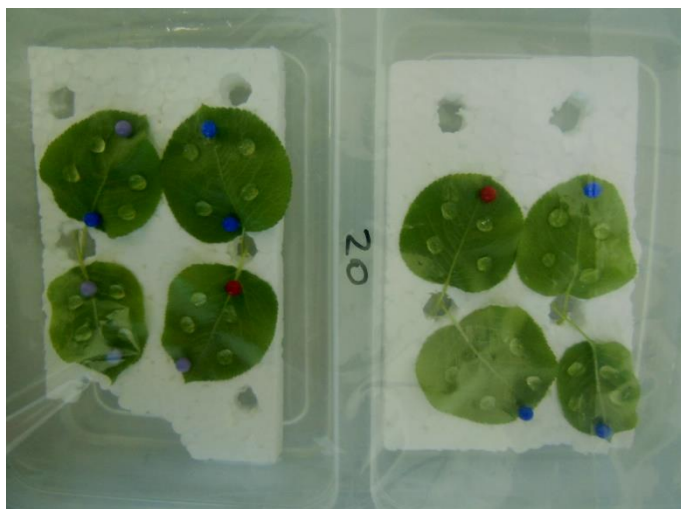
As lâminas de isopor foram perfuradas para deixar o pecíolo das folhas em contato com a água, mantendo assim a turgescência das células foliares. As folhas foram armazenadas nas bandejas com a face abaxial voltada para cima.

Em cada folha foram inoculadas quatro gotas de 40µL de suspensão de inóculo na face abaxial, distribuídas de forma equidistante nos quatro quadrantes da folha. Após a inoculação as bandejas com as folhas foram cobertas com saco plástico transparente (Figura 5) e armazenadas em câmaras de crescimento tipo BOD nas temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25 e 30°C e fotoperíodo de 12 horas.

Considerou-se cada temperatura como um tratamento e para cada tratamento foram inoculadas oito folhas, sendo cada folha uma repetição, com quatro gotas de inóculo, em pontos diferentes da folha, totalizando 32 pontos de avaliação.

Para a temperatura de armazenamento de 20°C, além das folhas inoculadas na superfície inferior (face abaxial), também foram inoculadas folhas na superfície superior (face adaxial).

Figura 5 - Câmara úmida utilizada para o armazenamento de folhas de pereira inoculadas com *Entomosporium mespili*.



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

As folhas inoculadas foram avaliadas diariamente até o surgimento dos primeiros sintomas para a determinação do período de incubação. Considerou-se como primeiros sintomas o aparecimento de pequenas lesões escuras (pintas pretas) na face abaxial das folhas.

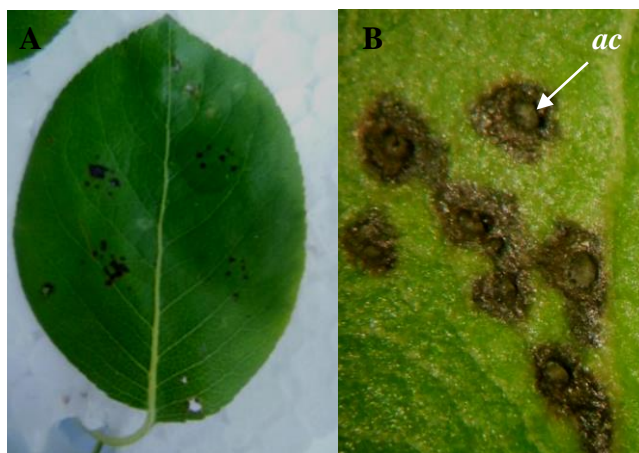
Após a verificação de que se atingiu o período de incubação, as avaliações foram realizadas aos 5, 6, 7, 9, 10 e 14 dias após a inoculação (DAI).

Nessas avaliações, com o auxílio de microscópio estereoscópio, em cada ponto de inoculação das folhas fez-se a contagem do número de lesões características da

doença (Figura 6A) e do número de lesões esporuladas (Figura 6B). Foram consideradas esporuladas as lesões que apresentaram a formação de acérvulo em seu interior.

A inoculação foi realizada em gotas e não através de pulverização da superfície das folhas devido a facilidade na contagem posterior das lesões que ficaram agrupadas em quadrantes. Além disso, o método de gotas possibilita a realização de mais de uma repetição na mesma folha.

Figura 6 - Folha de pereira apresentando lesões circulares de entomosporiose nos quatro pontos de inoculação (A); lesões de entomosporiose esporuladas apresentando acérvulos (*ac*) (B).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Como as folhas foram inoculadas na face abaxial, a partir de 7 DAI procedeu-se a inversão das mesmas sobre o isopor, deixando assim a face adaxial voltada para cima para que se pudesse avaliar a presença de lesões esporuladas.

Para o período latente foi considerado o intervalo de tempo (em dias) decorrido entre a inoculação e o aparecimento de 50% das lesões esporuladas.

O término das avaliações foi determinado quando a porcentagem de tecido atacado não apresentou mais aumento devido a impossibilidade de se contar separadamente as lesões devido a coalescimento das mesmas. O experimento foi realizado em duas ocasiões e os resultados expressos como médias.

3.3 EFEITO DA TEMPERATURA NA INFECÇÃO DE *Entomosporium mespili* EM FOLHAS DE PEREIRA

Uma suspensão de inóculo foi preparada a partir de colônias de *E. mespili*, as quais foram maceradas em cadinho de porcelana e transferidas para um Becker contendo água destilada esterilizada e Tween 80 (1 gota para 50 mL de água). Em seguida a suspensão foi homogeneizada em agitador magnético e a concentração dos conídios foi estimada em câmara de Newbauer e ajustada para 10^4 esporos.mL⁻¹.

Esta suspensão foi utilizada para inocular folhas de pereira (cultivar Rocha) que foram destacadas das mudas num período máximo de 60 dias após a brotação e colocadas sobre lâminas de isopor, dentro de bandejas plásticas contendo água no seu interior. As lâminas de isopor foram perfuradas para deixar o pecíolo das folhas em contato com a água, mantendo assim a turgescência das células foliares. As folhas foram armazenadas nas bandejas com a face abaxial voltada para cima.

Em cada folha foram inoculadas quatro gotas de 40µL de suspensão de inóculo na face abaxial, distribuídas de forma equidistante nos quatro quadrantes da folha. Após a inoculação as bandejas com as folhas foram cobertas com saco plástico transparente (Figura 5) e armazenadas em câmaras de crescimento tipo BOD nas

temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25 e 30°C e fotoperíodo de 12 horas, por um período de 24 horas.

Após este período todas as bandejas foram transferidas para uma câmara de crescimento com temperatura de 20°C e fotoperíodo de 12 horas, onde permaneceram até o término das avaliações

Como não existem na literatura informações sobre o tempo necessário para o término da etapa de infecção e início da colonização de *E. mespili* em pereira, neste experimento adotou-se o tempo de 24 horas como padrão para o estabelecimento desta etapa.

Considerou-se cada temperatura como um tratamento e para cada tratamento foram inoculadas quatro folhas, sendo cada folha uma repetição, com quatro gotas de inóculo, em pontos diferentes da folha, totalizando 16 pontos de avaliação.

As folhas inoculadas foram avaliadas diariamente até o surgimento dos primeiros sintomas para a determinação do período de incubação.

Após a verificação de que se atingiu o período de incubação, as avaliações foram realizadas aos 5, 6, 7, 10, 11, 13, 14 e 17 DAI.

Em cada ponto de inoculação das folhas fez-se a contagem do número de lesões e do número de lesões esporuladas com o auxílio de microscópio estereoscópio

Os critérios para a avaliação de primeiros sintomas, lesões e de lesões esporuladas foram os mesmos seguidos na metodologia do item 3.2.

Como as folhas foram inoculadas na face abaxial, a partir de 7 DAI procedeu-se a inversão das mesmas nas bandejas, deixando assim a face adaxial voltada para cima para que se pudesse avaliar a presença de lesões esporuladas.

O período latente foi considerado o intervalo de tempo (em dias) decorrido entre a inoculação e o aparecimento de 50% das lesões esporuladas. Avaliou-se

em cada ponto de inoculação o número de lesões e número de lesões esporuladas.

O término das avaliações foi determinado quando a porcentagem de tecido atacado não apresentou mais aumento. O experimento foi realizado em duas ocasiões e os resultados expressos como médias.

3.4 EFEITO DA DURAÇÃO DO MOLHAMENTO FOLIAR NO PERÍODO DE INCUBAÇÃO E NA SEVERIDADE DA ENTOMOSPORIOSE DA PEREIRA

Para a realização deste experimento mudas de pereira de cultivar Rocha, acondicionadas em vasos de 5 litros foram submetidas a quebra de dormência com cianamida hidrogenada (H_2CN_2), regulador de crescimento vegetal mais utilizado para superar a dormência das gemas de plantas decíduas (ARAÚJO et al., 1991). Foi utilizado o produto comercial Dormex® (BASF), que possui 49% de ingrediente ativo em combinação com 3% de óleo mineral.

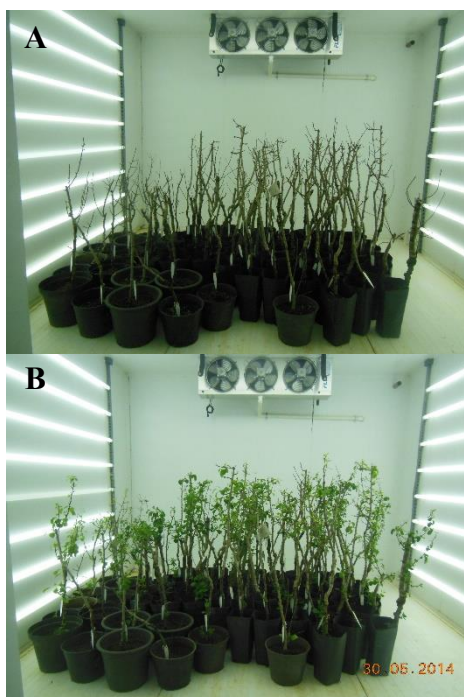
Uma semana após a quebra de dormência as mudas foram colocadas em casa de vegetação tipo fitotron sob condições controladas, com umidade relativa de 65%, temperatura de $20 \pm 2^\circ C$ e fotoperíodo de 12 horas (Figura 7A).

Durante todo o período de permanência no fitotron as mudas receberam regas conforme a necessidade hídrica, verificada pela textura do solo nos vasos e pelas características de turgescência das folhas. As condições de umidade relativa, temperatura e fotoperíodo também foram monitoradas constantemente através do painel de controle da casa de vegetação e com um termômetro instalado no seu interior.

As mudas permaneceram no fitotron por um período de 30 dias para a ocorrência de brotação e

aclimatação, antes de se proceder a inoculação (Figura 7B).

Figura 7 - Mudanças de pereira armazenadas em câmara de crescimento 'fitotron' sob condições controladas: mudas sem folhas logo após a quebra de dormência química (A) e mudas após a brotação (B).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Após a brotação das mudas, cinco folhas de cada vaso foram inoculadas, nas faces abaxial e adaxial, com uma suspensão de esporos de *E. mespili*.

A inoculação foi realizada por meio de um borrifador manual, com aspensão de aproximadamente 200 μ L de inóculo (Figura 8).

O inóculo utilizado foi obtido de folhas de pereira com sintomas de entomosporiose. As folhas foram coletadas e lavadas em água destilada esterilizada. As lesões foram raspadas cuidadosamente através de um bisturi e os conídios colocados em um Becker contendo água destilada esterilizada e Tween 80 (1 gota para 50 mL de água). Em seguida a suspensão foi homogeneizada em agitador magnético.

A concentração da suspensão para inoculação foi estimada por contagem em câmara de Neubauer e ajustada para 5×10^4 esporos.mL⁻¹.

Figura 8 - Inoculação de *Entomosporium mespili* em folhas de pereira através do método de aspersão.



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Após a inoculação as mudas foram cobertas com saco plástico transparente para conferir o efeito de uma câmara úmida (Figura 9A). No interior de cada saco plástico colocou-se um chumaço de algodão umedecido.

A interrupção do molhamento foliar foi feita através da remoção das câmaras úmidas envoltas nas

mudas após os períodos de zero (sem a colocação da câmara úmida), 6, 12, 24 e 48 horas após a inoculação (Figura 9B).

Figura 9 - Mudanças de pereira envoltas em saco plástico (câmara úmida) após a inoculação com *Entomosporium mespili* (A); etapa de remoção das câmaras úmidas (B).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

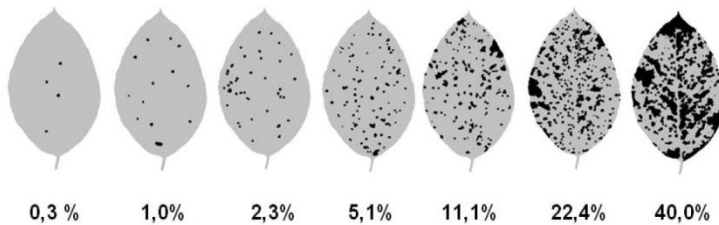
Após a remoção das câmaras úmidas as mudas permaneceram no fitotron até o término das avaliações. É importante destacar que no interior do fitotron haviam ventiladores (Figura 11), promovendo um fluxo contínuo de ar para que após a remoção das câmaras úmidas não houvesse acúmulo de umidade na superfície das folhas.

Cada tratamento teve quatro repetições, sendo cada muda considerada uma repetição e de cada muda foram inoculadas cinco folhas, totalizando 20 folhas inoculadas para cada tratamento.

As folhas inoculadas foram marcadas e numeradas para posterior avaliação de severidade. No dia seguinte após a inoculação as folhas foram avaliadas diariamente até o surgimento dos primeiros sintomas para a determinação do período de incubação.

Após a constatação do período de incubação, as avaliações foram realizadas aos 4, 7, 11, 14, 17 e 21 DAI, com auxílio de uma escala diagramática, para avaliação da severidade de entomosporiose em folhas de pereira (NUNES; ALVES, 2012) (Figura 10).

Figura 10 - Escala diagramática com sete níveis para quantificação da severidade de entomosporiose (*Entomosporium mespili*) em folhas de pereira (*Pyrus* spp.).



Fonte: Nunes; Alves, 2012.

Em cada inoculação, três alíquotas de 100 μ L da suspensão foram adicionadas a placas de Petri contendo meio de cultura ágar-água (2%) para se obter a estimativa da germinação dos esporos. As placas foram mantidas por 24 horas na temperatura de 20°C no escuro, e em seguida fez-se a contagem de 100 esporos em cada placa, classificando-os como germinado ou não germinado.

O experimento foi repetido duas vezes e os valores obtidos expressos como médias. As médias de germinação de conídios dos testes 1 e 2 foram, respectivamente, 67% e 40%.

O delineamento foi inteiramente casualizado, com uma temperatura e cinco períodos de molhamento foliar. Cada tratamento teve quatro repetições, sendo cada muda considerada uma repetição e de cada muda foram

inoculadas cinco folhas, totalizando 20 folhas inoculadas para cada tratamento.

A análise estatística dos dados obtidos foi feita por meio de regressões não lineares, utilizando o programa STATISTICA, versão 6.0 (STATSOFT, 2001). Através dos dados obtidos, foram avaliados período de incubação e severidade da doença.

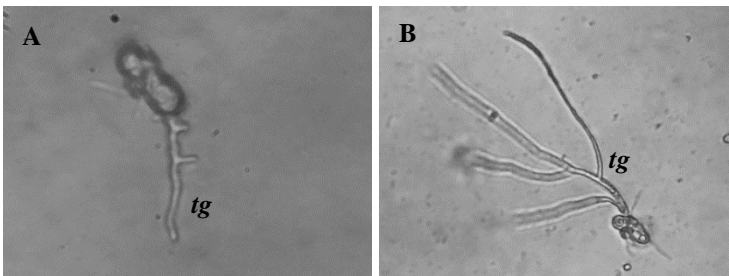
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EFEITO DA TEMPERATURA E DO TEMPO DE INCUBAÇÃO NA GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE *Entomosporium mespili* EM MEIO DE CULTURA ÁGAR-ÁGUA

As combinações do binômio temperatura-período de incubação afetaram o percentual de germinação de esporos de *E. mespili*. A maior germinação ocorreu na combinação de 48 horas de incubação (período máximo avaliado) e temperatura de 20°C, sendo estes considerados os valores ótimos.

O período de incubação mínimo requerido para a germinação foi de 6 horas, na temperatura de 20°C (Figura 11). Com tempo de incubação zero não ocorreu germinação nem mesmo na temperatura ótima.

Figura 11 - Conídios de *Entomosporium mespili* vistos em microscópio óptico em aumento aproximado de 100 vezes apresentando tubo germinativo (*tg*) após 6 horas (A) e 48 horas de incubação (B).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

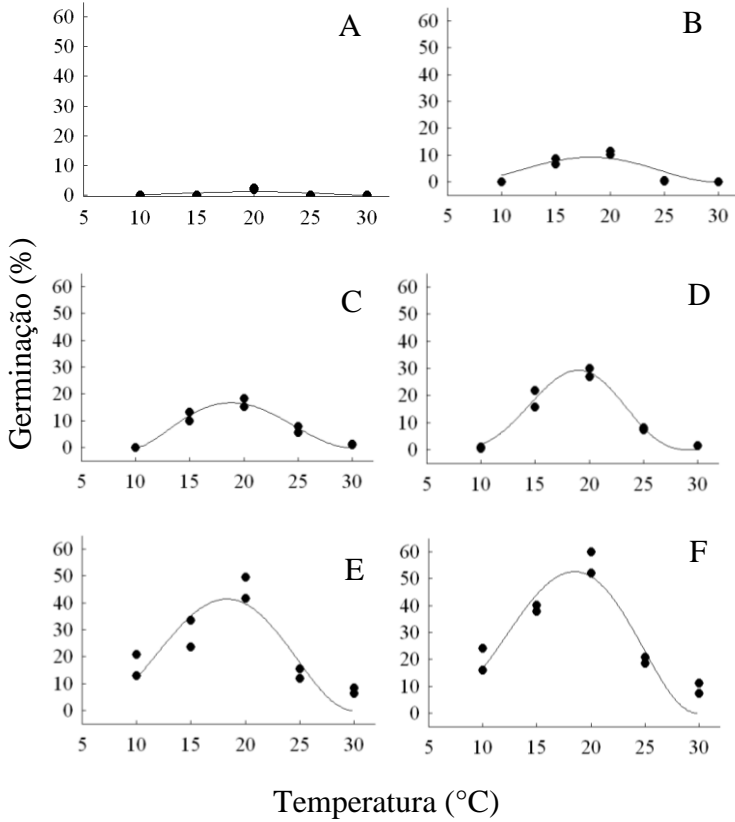
O incremento de temperatura foi acompanhado por aumento na germinação até a temperatura de 20°C,

uma vez que nas temperaturas de 25 e 30°C verificou-se decréscimo gradual de germinação.

Na temperatura de 5°C não houve germinação de conídios em nenhum dos períodos de incubação avaliados e a temperatura mínima em que se verificou germinação foi de 10°C.

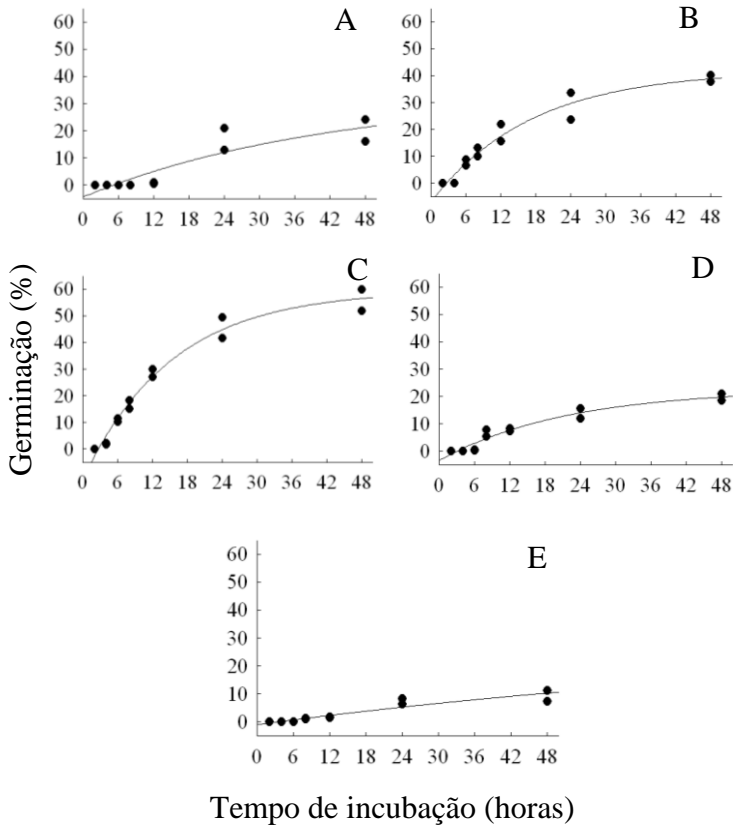
De forma geral, as condições para a ocorrência de germinação de *E. mespili* foram de 12, 6 e 8 horas de incubação para 10, 20 e 25°C, respectivamente (Figuras 12, 13 e 14).

Figura 12 - Germinação de conídios de *Entomosporium mespili* em diferentes tempos de incubação: 4 horas (A); 6 horas (B); 8 horas (C); 12 horas (D); 24 horas (E) e 48 horas (F).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Figura 13 - Germinação de conídios de *Entomosporium mespili* em diferentes temperaturas: 10°C (A); 15°C (B); 20°C (C); 25°C (D) e 30°C (E).

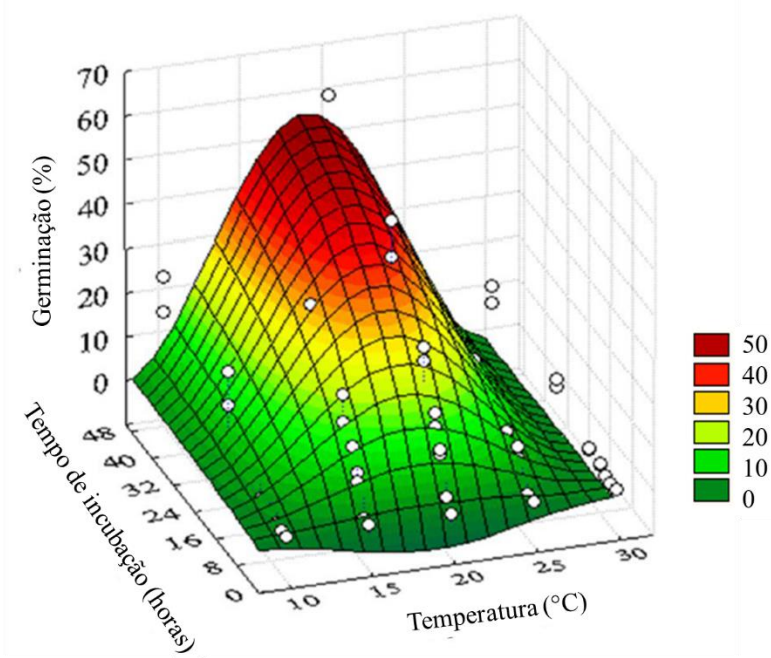


Fonte: produção do próprio autor, 2015.

A combinação dos dados de temperatura (Tabela 1) e tempos de incubação (Tabela 2) permitiu calcular a superfície de resposta e os dados foram ajustados ao modelo Beta-Monomolecular: $\text{Germinação} = B_1((\text{Temperatura} - B_2)^{B_4} ((B_3 - \text{temperatura})^{B_5}) (B_6(1 - B_7/B_6 \exp(-B_8 \text{incubação})))$. Os parâmetros B_2 e B_3

representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima (Tabela 3, Figura 14).

Figura 14 - Superfície de resposta de germinação de conídios de *Entomosporium mespili*, em função da temperatura e do tempo de incubação em meio de cultura ágar-água, descrita pela função $Y = B_1 * ((T - B_2)^{B_4}) * ((B_3 - T)^{B_5}) * (B_6 * (1 - (1 - B_7 / B_6) * \exp(B_8 M)))$, onde Y é a germinação, T é a temperatura, M é o tempo de incubação e B₁ a B₈ são parâmetros do modelo.



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Tabela 1 - Coeficiente de determinação (R^2) e valores da função Monomolecular, $Y=B_6*((1-(1-B_7/B_6)*exp(-B_8*M)))$ onde Y é a germinação, M é o tempo de incubação, B_6 é a assíntota máxima, B_7 é um parâmetro do modelo, B_8 está relacionado à taxa de crescimento.

Parâmetros	Temperatura (°C)				
	10	15	20	25	30
B₆	32,90	41,84	59,54	22,61	30,51
B₇	-4,32	-6,91	-11,40	-3,45	-0,98
B₈	0,02	0,06	0,06	0,05	0,01
R²	0,83	0,95	0,98	0,94	0,88

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Tabela 2 - Coeficiente de determinação (R^2), e valores da função Beta-generalizada, $Y=B_1*((T-B_2)^{B_4}*((B_3-T)^{B_5}))$, onde Y é a germinação, T é a temperatura, os valores B_2 e B_3 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima, B_1 , B_4 e B_5 são parâmetros da equação, sem significado biológico.

Parâmetros	Tempo de incubação (horas)					
	4	6	8	12	24	48
B₁	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B₂	5,23	5,40	10,00	5,08	4,74	2,81
B₃	30,13	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
B₄	2,88	2,43	1,71	4,78	2,54	3,09
B₅	1,93	2,23	2,15	3,79	2,18	2,27
R²	0,42	0,78	0,95	0,97	0,75	0,85

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Tabela 3 - Coeficiente de determinação (R^2), e valores da função Beta-monomolecular, $Y = B_1 * ((T - B_2)^{B_4}) * ((B_3 - T)^{B_5}) * (B_6 * (1 - (B_7 / B_6)^* \exp(B_8 M)))$, onde Y é a germinação, T é a temperatura, M é o tempo de incubação, os valores B_2 e B_3 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima, B_6 é a assíntota máxima, B_7 é um parâmetro do modelo, B_8 está relacionado à taxa de crescimento, onde, B_1 , B_4 e B_5 são os parâmetros da equação, sem significado biológico.

Parâmetros	Modelos		
	Beta-generalizado	Monomolecular	Beta-monomolecular
B_1	0,00	-	0,00
B_2	5,08	-	5,57
B_3	30,02	-	30,11
B_4	4,78	-	2,95
B_5	3,79	-	3,28
B_6	-	59,54	29,80
B_7	-	-11,40	-2,65
B_8	-	0,06	0,45
R^2	0,97	0,98	0,90

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Esporos de patógenos foliares, após serem depositados na superfície do hospedeiro devem ali se fixar para, posteriormente, emitir o tubo germinativo e iniciar a penetração. A germinação é o primeiro sub processo da infecção em que as condições climáticas (umidade, luz e temperatura) podem determinar se haverá sucesso na penetração no hospedeiro (AMORIM; PASCCHOLATI, 2011)

O parâmetro B_5 , determinado pelo ajuste da função beta generalizada, está relacionado à forma da curva e pode ser utilizado para determinar a amplitude do

intervalo de temperatura ótima em cada componente epidemiológico analisado (BASSANEZI et al., 1998).

Valores pequenos (próximos a zero) indicam que o componente em estudo apresenta valor máximo em uma ampla faixa de temperatura em torno da ótima. Valores maiores como o determinado neste trabalho pelo ajuste dos dados de germinação em função da temperatura (3,28 - Tabela 3), mostram que o intervalo de temperatura ótima é estreito. Dessa forma, a germinação dos esporos, e conseqüentemente o potencial para infecção, é bastante reduzida em temperaturas que diferem da ótima, evidenciando a importância da temperatura neste patossistema.

Em ensaios de clareamento de folhas, a germinação de conídios de *E. mespili* foi visualizada 6 horas após a inoculação e o tamanho máximo dos tubos germinativos foi atingido 24 horas após a inoculação, na temperatura de 25°C (BAUDOIN, 1986a).

O período de molhamento ótimo para o surgimento de lesões em plantas ornamentais é de 12 horas na temperatura de 20°C (BAUDOIN, 1986b). Esses valores estão em concordância com os resultados obtidos no presente estudo das condições temperatura e tempos de incubação para germinação de *E. mespili* causador da entomosporiose em pereira (*P. communis*).

Os experimentos de germinação realizados *in vitro* podem ser utilizados para inferir como acontece a germinação *in vivo*. Entretanto, este processo pode acontecer de modo diferente na superfície do hospedeiro devido às interações e alterações hormonais e bioquímicas da relação patógeno-hospedeiro (PASCHOLATI et al., 2008).

A tentativa de infecção dos tecidos de uma planta por um patógeno inicia uma progressão complexa de interações biológicas e moleculares, que culmina nos

sintomas visuais associados com resistência ou suscetibilidade (PASCHOLATI, 2011)

O período mínimo de 6 horas de incubação necessário para a germinação *in vitro* pode indicar necessidade de molhamento para a germinação dos conídios na superfície do hospedeiro.

Para verificar a relação do efeito da temperatura e do período de molhamento foliar no desenvolvimento da entomosporiose, foram realizados experimentos *in vivo* com folhas destacadas e mudas de pereira, que serão apresentados a seguir.

4.2 EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO DA ENTOMOSPORIOSE EM FOLHAS DE PEREIRA

A temperatura teve efeito sobre todos os componentes avaliados (severidade, período de incubação e período latente).

O período de incubação foi de 5 dias para as temperaturas de 15°, 20° e 25°C e na temperatura de 10°C aumentou para 7 dias (Tabela 4).

O período latente foi de 10 dias na temperatura de 20°C, e o máximo de esporulação foi atingido aos 14 dias (tempo máximo avaliado). Na temperatura de 25° o período latente foi atingido 14 dias após a inoculação (Tabela 4).

Tabela 4 - Efeito da temperatura nos componentes monocíclicos da entomosporiose em folhas de pereira em ambiente controlado.

Componentes monocíclicos	Temperatura (°C)			
	10	15	20	25
Período de incubação ¹ (dias)	7	5	5	5
Início da esporulação ² (dias)	14	14	9	9
Período latente ³ (dias)	NA ⁴	NA	10	14

⁽¹⁾período de incubação: tempo (dias) para o surgimento de sintomas;

⁽²⁾início da esporulação: determinada com base na visualização de acérvulo presente na lesão;

⁽³⁾período latente: intervalo de tempo (dias) decorrido entre a inoculação e o aparecimento de 50% das lesões esporuladas;

⁽⁴⁾NA: não atingiu 50% de lesões esporuladas.

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

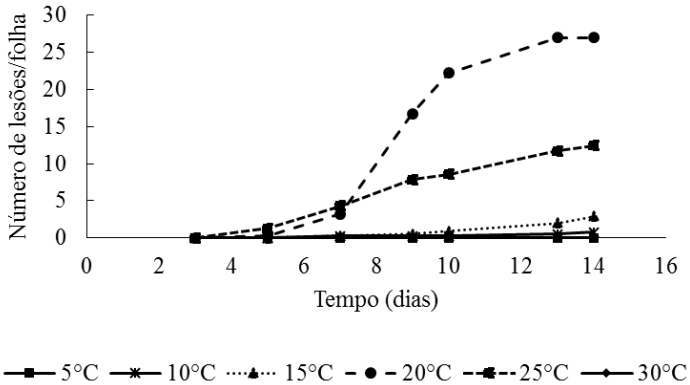
A curva de progresso de uma doença, usualmente expressa pela plotagem da proporção da doença *versus* tempo, é a melhor representação de uma epidemia (BERGAMIN FILHO, 2011).

Na Figura 15 são apresentadas as curvas de progresso da entomosporiose nas diferentes temperaturas testadas a partir do número de lesões por folha no tempo.

Nas temperaturas de 5° e 30°C não houve desenvolvimento de sintomas da doença. A temperatura de 20°C proporcionou o maior número de lesões por folha (aproximadamente 28 lesões por folha).

A temperatura mínima para a ocorrência da doença foi de 10°C, porém com baixo número de lesões por folha, assim como na temperatura de 15°C (em torno de 4 lesões por folha). Na temperatura de 25°C foram contabilizadas aproximadamente 12 lesões por folha (Figura 15).

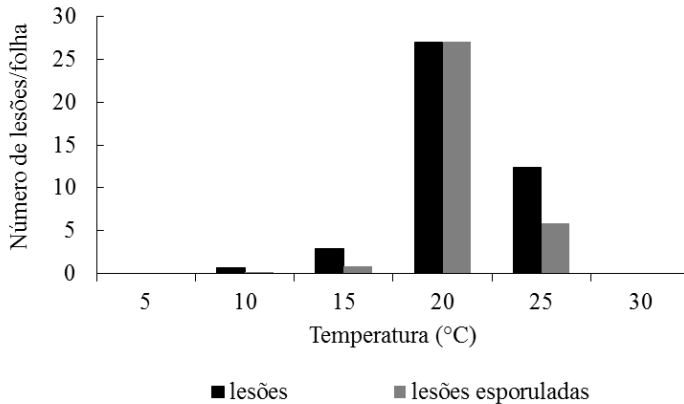
Figura 15 - Progresso da entomosporiose em número de lesões por folha, em folhas de pereira sob diferentes temperaturas.



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

A temperatura de 20°C foi a que proporcionou o maior número de lesões e de lesões esporuladas aos 14 dias após a inoculação, seguida da temperatura de 25°C. Nas temperaturas de 10 e 15°C as lesões esporularam, porém não atingiram 50% das lesões esporuladas até 14 dias após a inoculação (Figura 16).

Figura 16 - Número de lesões de entomosporiose em folhas de pereira em diferentes temperaturas, 14 dias após a inoculação.

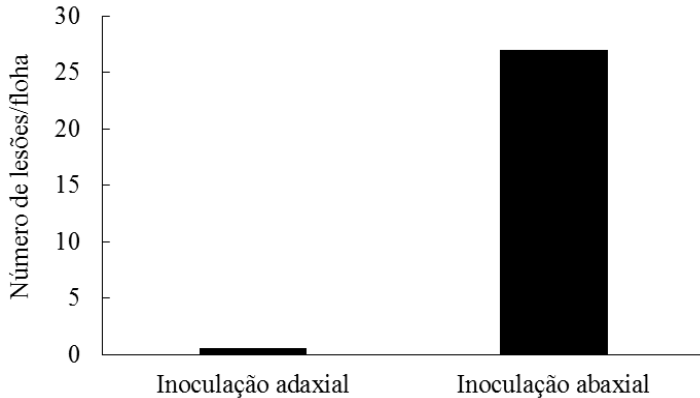


Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Como já citado anteriormente na metodologia, para a temperatura de 20°C foram realizadas inoculações em ambas as faces da folha (abaxial e adaxial).

As folhas inoculadas na face abaxial apresentaram número mais elevado de lesões do que as folhas inoculadas na face adaxial, sendo que as lesões provenientes deste último método de inoculação não apresentaram esporulação (Figura 17).

Figura 17 - Número de lesões de entomosporiose aos 14 dias após a inoculação em folhas mantidas na temperatura de 20°C, com diferentes modos de inoculação: face adaxial (superior) e abaxial (inferior).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

O sucesso na infecção de *E. mespili* através da inoculação abaxial das folhas já havia sido citado na literatura. Em experimento realizado por Baudoin (1986a) a densidade das lesões resultantes da inoculação de *E. mespili* na face abaxial das folhas jovens destacadas de *Photinia* foi mais elevada do que quando a inoculação foi realizada na face adaxial.

Baudoin (1986b) descreve que a 10°C a taxa de infecção de *E. mespili* em rosáceas ornamentais é muito baixa e na temperatura de 30°C não há ocorrência de infecção ou ocorre de forma pouco expressiva. Esta situação foi comprovada no presente experimento para a temperatura de 30°C em que não houve aparecimento de sintomas, e para 10°C que apresentou o menor número de lesões/folha e baixa esporulação.

Para a maioria dos patógenos, a temperatura pode determinar a rapidez e a extensão da infecção

(CAMPBELL; MADDEN, 1990). A temperatura influenciou o número de lesões, e conseqüentemente, a severidade da entomosporiose em folhas de pereira.

4.3 EFEITO DA TEMPERATURA NA INFECÇÃO DE *Entomosporium mespili* EM FOLHAS DE PEREIRA

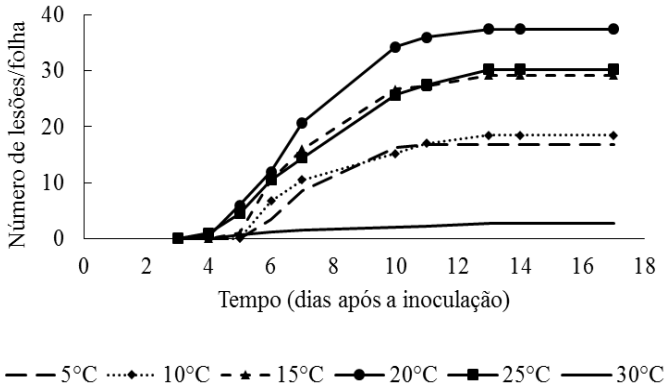
A temperatura de infecção (na qual as folhas inoculadas foram mantidas por um período de 24 horas) teve efeito sobre o número de lesões.

O número máximo de lesões/folha foi observado na temperatura de 20°C, seguida das temperaturas de 25°C, 15°C. O menor número de lesões/folha foi observado na temperatura de 30°C (Figura 16). Há um decréscimo no número de lesões para as temperaturas que se afastam da ótima (20°C).

Todas as curvas de progresso da doença apresentaram estabilização do número de lesões aos 13 DAI, se mantendo com valores inalterados até os 17 DAI.

Na Figura 18 são apresentados os valores de número de lesões e número de lesões esporuladas/folha para cada temperatura de infecção (5, 10, 15, 20, 25 e 30°C).

Figura 18 - Progresso da entomosporiose em número de lesões por folha, em folhas de pereira sob diferentes temperaturas, após um período de 24 horas na temperatura de 20°C.

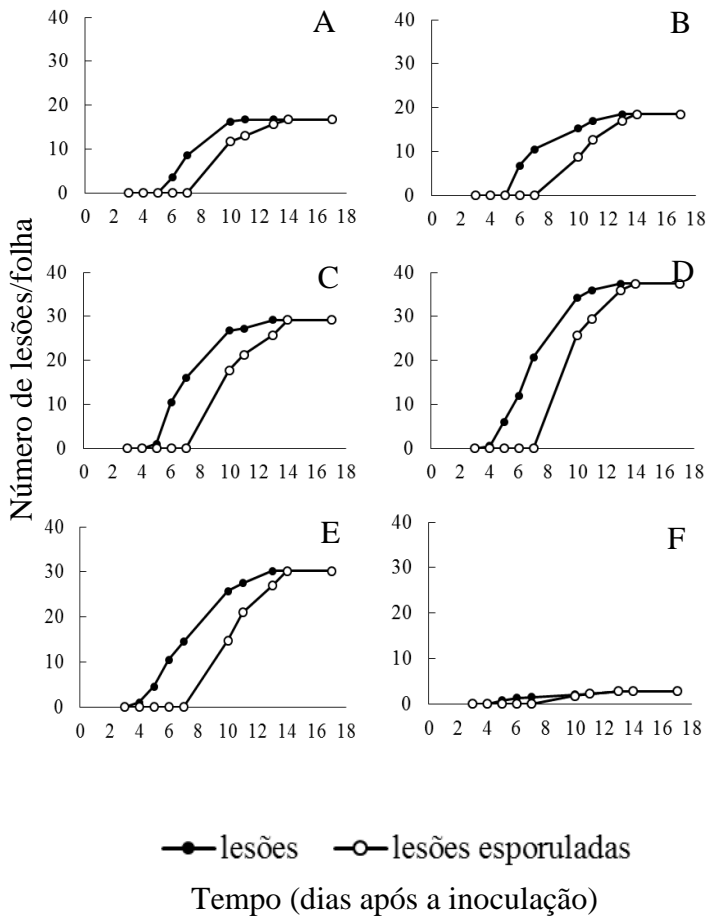


Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Após o período de infecção em diferentes temperaturas, a fase de colonização apresentou o mesmo padrão de crescimento, o que pode ser visualizado nas curvas de progresso da doença. Exceção é feita para a temperatura de infecção de 30°C, na qual o crescimento da doença foi cerca de 10 vezes menor que na temperatura ótima.

Todas as lesões foram capazes de esporular quando as folhas foram transferidas para a temperatura de 20°C após as 24 horas nas temperaturas de infecção. O período latente ficou em torno de 9 dias. O período de incubação foi influenciado pela temperatura, ficando em torno de 6 dias para as temperaturas de infecção de 5, 10 e 15°C; e em 5 dias para as temperaturas de 20, 25 e 30°C (Figura 19).

Figura 19 - Progresso da entomosporiose em folhas de pereira mantidas por 24 horas em diferentes temperaturas de infecção e posteriormente armazenadas na temperatura de 20°C por 17 dias. Temperaturas de infecção: 5°C (A); 10°C (B); 15°C (C); 20°C (D); 25°C (E) e 30°C (F).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Os resultados obtidos estão de acordo com Baudoin (1986a) que constatou que os sintomas de entomosporiose são visíveis em folhas de fotínia (*Photinia x fraseri*) 5 dias após a inoculação em plantas mantidas na temperatura de 25°C.

Neste experimento foram utilizadas folhas jovens, uma vez que lesões em folhas mais velhas apesar de ocorrerem, são incomuns (VAN der ZWET; STRO, 1985; BAUDOIN, 1986 a,b; HSOLSTAG, 2003).

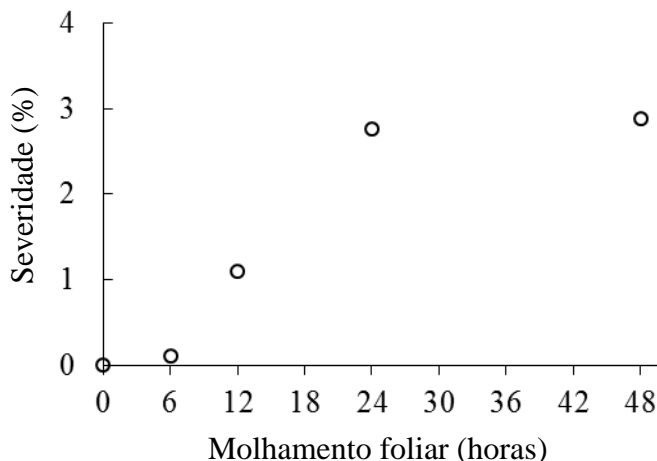
Van der Zwet e Stroo (1985) relatam período de incubação de 4-7 dias para *Entomosporium maculatum*, o que foi semelhante ao encontrado no presente experimento (5-7 dias) para *E. mespili* em pereira.

4.4 EFEITO DA DURAÇÃO DO MOLHAMENTO FOLIAR NO PERÍODO DE INCUBAÇÃO E NA SEVERIDADE DA ENTOMOSPORIOSE DA PEREIRA

A entomosporiose em folhas de pereira não ocorreu na ausência de molhamento foliar. Nas condições avaliadas, o período de molhamento foliar de 6 horas foi suficiente para a observação de sintomas (Figura 20).

Os valores máximos de severidade foram atingidos nos períodos de molhamento de 24 e 48 horas (máximo período testado). A severidade máxima observada foi em torno de 4% para os períodos de molhamento foliar de 24 e 48 horas; 1% para 12 horas, e inferior a este valor no molhamento foliar de 6 horas.

Figura 20 - Progresso da entomosporiose em folhas de pereira sob diferentes períodos de molhamento foliar, na temperatura de 20°C, 21 dias após a inoculação.



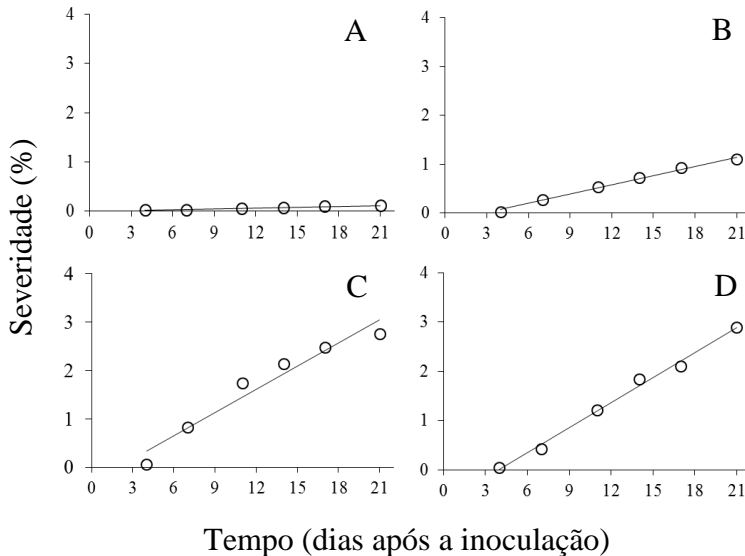
Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Os primeiros sintomas de entomosporiose foram observados 5 dias após a inoculação. O aumento da severidade da doença foi proporcional ao aumento da duração do período de molhamento foliar nas temperaturas testadas. O crescimento da doença no monociclo foi ajustado ao modelo linear (Figura 21).

A duração do período de molhamento foliar não influenciou o período de incubação, sendo que o início do aparecimento de sintomas foi em torno de 5 dias em todos os tratamentos avaliados.

Figura 21 - Progresso da entomosporiose em folhas de pereira, na temperatura de 20°C, em diferentes períodos de molhamento foliar: 6 horas (A); 12 horas (B); 24 horas (C); 48 horas (D).

Parâmetros da regressão: Tabela 5.



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Uma das formas de avaliar a qualidade do ajuste do modelo é através do coeficiente de determinação (R^2). Este coeficiente indica se o modelo proposto é adequado ou não para descrever o fenômeno. O valor de R^2 varia num intervalo de 0 a 1. Valores próximos de 1 indicam que o modelo proposto é adequado para descrever o evento. A qualidade do ajuste será tanto maior quanto mais R^2 se aproximar da unidade (GUNST; MASON, 1980).

Os coeficientes de determinação da regressão linear da severidade tiveram bons ajustes para os

períodos de molhamento foliar avaliado, sendo que todos apresentaram valores acima de 0,90 (Tabela 5).

A variável y_0 representa a interceptação da reta com o eixo vertical (coeficiente linear); a variável r representa a inclinação da reta (coeficiente angular). Sendo assim, para os valores avaliados, os valores de y_0 e r estão relacionados, respectivamente, a quantidade de inóculo inicial no tempo zero e a taxa de crescimento da doença.

Os valores de y_0 ficaram entre -0,028 e -0,664. Os valores de r indicaram que taxas de crescimento aumentam em decorrência da duração do período de molhamento foliar. Os valores de r para os molhamentos foliares de 24 e 48 horas não apresentaram diferença estatística (Tabela 5).

Tabela 5 - Parâmetros da regressão linear da severidade de entomosporiose com diferentes períodos de molhamento foliar.

Período de molhamento foliar (horas)	y_0	r	R^2
6	-0,028 a ⁽¹⁾	0,0069 a	0,98
12	-0,183 abc	0,0633 b	0,99
24	-0,296 b	0,1593 c	0,94
48	-0,664 c	0,1691 c	0,99

Representação gráfica dos dados: Figuras 21.

⁽¹⁾ Letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t a 5% de probabilidade.

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Como a entomosporiose é uma doença policíclica, seu desenvolvimento é influenciado pela quantidade de inóculo inicial (ciclo primário) e de forma ainda mais relevante pela taxa de crescimento da doença, que vai originar o inóculo secundário (ciclos secundários). O que,

por sua vez, é influenciado pelas variáveis ambientais como já mencionado anteriormente.

Em condições de campo, o nível máximo observado de entomosporiose em folhas de pereira europeia foi de 40% ao final do ciclo da cultura, antes da queda das folhas. Em níveis de severidade acima de 11% é comum o surgimento de lesões coalescidas (NUNES, ALVES, 2012).

A máxima severidade observada neste experimento, realizado em casa de vegetação, foi de aproximadamente 4%, aos 21 dias após a inoculação. Estudos realizados por Gonçalves et al. (2013) avaliando o comportamento da entomosporiose em diferentes combinações de cultivares copa e portaenxertos, encontraram severidades máximas em torno de 6%, em aproximadamente 56 dias após a primeira avaliação.

Como as lesões de entomosporiose são tipicamente pequenas (JONES; ALDWINCKLE, 1990), há relação entre o tamanho e número das lesões. Dessa forma, muitas lesões de pequeno tamanho são necessárias para proporcionar um incremento na severidade da doença.

A escala diagramática para quantificação da entomosporiose (NUNES; ALVES, 2012), foi utilizada neste experimento para reduzir os erros sistemáticos das avaliações, já que ilusão proporcionada pelas pequenas lesões em grande número conduz a uma tendência natural de superestimação da doença (VALE et al., 2011).

A análise de epidemias também pode ser realizada por meio de modelos matemáticos relacionados às curvas de progresso da doença.

Gonçalves et al. (2013) evidenciaram que os modelos matemáticos Logístico e Gompertz permitem os melhores ajustes para a entomosporiose no Sul do Brasil. Este estudo refere-se ao crescimento da doença durante o policiclo, isto é, considerando a existência de novas

infecções. Estes modelos permitem observar que a velocidade de aumento da doença é proporcional à quantidade de inóculo previamente existente (inóculo inicial) e a taxa de infecção (MADDEN, 2007).

Os dados obtidos no presente experimento permitiram ajustar o crescimento da doença ao modelo linear no monociclo. Esses dados permitem avaliar o crescimento da entomosporiose considerando a não ocorrência de novas infecções.

A temperatura de 20°C foi escolhida para a realização do experimento com mudas de pereira porque foi a que apresentou maior percentual de germinação de *E. mespili* no ensaio conduzido *in vitro*. Além disso, nos experimentos anteriores, esta temperatura também proporcionou maior número de lesões e de esporulação em ensaios realizados com folhas destacadas.

Jones e Aldwinckle (1990) mencionam que os sintomas de entomosporiose em folhas de pereira são visíveis sete dias após a inoculação. Nas condições avaliadas neste experimento verificou-se uma redução no período de incubação para de cinco dias. Estes resultados concordam Baudoin (1986a) que cita este mesmo período de incubação para *E. mespili* causando entomosporiose em folhas jovens de fotínia.

Com base no presente experimento, é necessária a presença de molhamento foliar para que a entomosporiose se desenvolva. O molhamento foliar de seis horas foi suficiente para o desenvolvimento da doença. Resultado semelhante foi encontrado por Holstag et al., (2003) para entomosporiose em cerejeira saskatoon.

Entretanto, Jones e Aldwinckle (1990) descrevem que a entomosporiose em pereira se desenvolve a partir de 8 horas de molhamento.

Os resultados obtidos no presente conjunto de experimentos, embora sejam semelhantes aos

encontrados para o desenvolvimento da entomosporiose em outros hospedeiros, diferem das informações existentes para o desenvolvimento da entomosporiose em pereira, principalmente quanto ao período de molhamento foliar.

5 CONCLUSÕES

A germinação de conídios de *E. mespili* acontece a partir de 6 horas de incubação, na temperatura de 20°C.

A temperatura de 20°C foi a que proporcionou o maior número de lesões e de lesões esporuladas aos 14 dias após a inoculação.

O período de incubação da doença é de 5-6 dias e o período latente é de 10 dias na temperatura ótima (20°C).

Em condições controladas, e na ausência de novas infecções, não há incremento da doença a partir de 14 dias após a inoculação com a estabilização do número de lesões.

A entomosporiose não ocorre na ausência de molhamento foliar. O período de molhamento foliar de 6 horas foi suficiente para a observação de sintomas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para o patossistema *E. mespili*-pereira o período de molhamento é um fator determinante para que se estabeleça o processo infeccioso, enquanto o fator temperatura determina a rapidez e a extensão da infecção.

As novas informações apresentadas neste trabalho sobre período de molhamento foliar mínimo para surgimento de sintomas e período latente podem contribuir para definição de estratégias de manejo da doença, com base no monitoramento dos períodos críticos da mesma.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 4 ed., San Diego: Academic Press, 1997. 635p.

ALVES, S.A.M.; SILVA, V.C.; NUNES, C.C. Metodologia para cultivo e preservação do fungo causador da entomosporiose da pereira, Bento Gonçalves, **Embrapa Uva e Vinho**, 2012. 8 p. (Circular Técnica, 92), ISSN 1516-5914.

AMORIM, L.; PASCHOLAT, S.F. Ciclo das relações patógeno-hospedeiro. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agrônômica Ceres, 2011. v.1, p.59-99.

ARAÚJO, M.M.; FORTES, G.R. de L.; SANTOS FILHO, B. Thiadizuron: uma alternative para superar a dormência de gemas de macieira (*Malus domestica*, Borkh). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.223, n.3p.249-253. 1991.

AYUB, R. A.; GIOPPO, M. A Cultura da pereira. In: ENCONTRO DE FRUTICULTURA DOS CAMPOS GERAIS, 2, 2009, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2009. v.1, p.25-33.

BASSANEZI, R.B. et al. Effects of bean line pettern mosaic vírus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of *Phaseolus bean* at different temperatures. **Plant Pathology**, 47:289-298. 1998.

BAUDOIN, A.B.A.M. 1986a. Infection of photinia leaves by *Entomosporium mespili*. **Plant Disease**, 70: 191-194.

BAUDOIN, A.B.A.M. 1986b. Environmental conditions required for infection of photinia leaves by *Entomosporium mespili*. **Plant Disease**, 70: 519-521.

BELL, R.L.; VAN Der ZWET, T. 1985. Effects of cultural conditions on sporulation, germination and pathogenicity of *Entomosporium maculatum*. **Phytopathology**, 2:94-7.

BELL, R.L.; VAN Der ZWET, T. 2005. Host Resistance in *Pyrus* to *Fabraea* Leaf Spot. **Hortscience** 40: 21-3.

BERGAMIN FILHO, A. Epidemiologia: conceitos e objetivos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995a. v.1, p.540-553.

BERGAMIN FILHO, A. Curvas de Progresso de doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. v.1, p.647-665.

BOGO, A. et al. Epidemiologia e manejo das principais doenças da pereira. **Revisão Anual de Patologia de Plantas** (RAPP). v. 21, 2013.

BOGO, A. et al. Doenças da pereira. In: RUFATO, L. KRETZSCHMAR, A.A.; BOGO, A. **A cultura da Pereira**. 1. Ed. Florianópolis: DIOESC, 2012. p. 204-224.

BRIGHENTI, A. F. **A cultura da pereira no brasil**. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais), Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, 2011.

CAMELATTO, D. Avaliação da necessidade de tratamento para superação da dormência de pereiras (*Pyrus communis*, L.) cvs. Packham's Triumph e William's Bon Chretien, em Santana do Livramento, RS. Pelotas: **EMBRAPA-CPACT**, 1997. 5p. (EMBRAPA-CPACT. Comunicado Técnico, 5).

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 532p. 1990.

CAMPO DALL'ORTO, F. et al. Frutas de clima temperado: II. Figo, maçã, marmelo, pêra e pêssego em pomar compacto. In: **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 1996. p.139-140.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations: <<http://faostat3.fao.org/home/index.html>>. Acesso em: 31 out. 2012.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 10 ago. 2013.

FAO. Food Agriculture Organization of the United Nations. **Faostat Database Prodstat**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/servlet/>>. Acesso em: 11 dez. 2014.

FAORO, I. D.; ORTH, A. I. Qualidade de frutos da pereira-japonesa colhidos em duas regiões de Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.1, p.308- 315, 2010.

FAORO, I. D.; YASUNOBU, Y. **Cultivares e porta-enxertos de pereira japonesa**. JICA Boletim Informativo, Caçador, n.3, p.7, 2001.

FIORAVANÇO, J. C. A cultura da pereira no Brasil: situação econômica e entraves para o seu crescimento. **Informações Econômicas**, São Paulo. v.37, n.3, p52-60, 2007.

GONÇALVES, M. J. G.; BOGO, A.; JESUS Jr. Comportamento de cultivares de pereira europeia sob diferentes de porta-enxertos de marmeleiro para Entomosporiose no Sul do Brasil. **Crop Protection**, v.49, p. 26-30, 2013.

GUNST, R.F., MASON, R.L. 1980. **Regression Analysis and Its Application: A Data-Oriented Approach**. Marcel Dekker, New York.

HAGAN, A.K. et al. 1982. Fungicidal control of Entomosporium leaf spot on Photinia. **Journal of Environmental Horticulture**, v.1., p. 31-33.

HAU, B.; KRANZ, J. Mathematics and statistics for analysis in epidemiology. In: KRANZ, J. (Ed.). **Epidemics of plant diseases**. Mathematical analysis and modeling. Berlin: Springer, 1990. chap. 2, p. 12-52.

HELDWEIN, A. B. Alerta Fitossanitário: Suplemento dos Anais: Mesas Redondas. In: X Congresso Brasileiro de Agrometeorologia, 1997, Piracicaba. **Anais**. Piracicaba, p.63-77. 1997.

HOLSTAG, Q.A. et al. Leaf-wetness duration and temperature required for infection of saskatoon leaves by *Entomosporium mespili* under controlled conditions. **Canadian Journal Plant Pathology** 25: 168-173, 2003.

HOLSTAG, Q.A. et al. The development of a dynamic disease-forecasting model to control *Entomosporium mespili* on *Armelanchier alnifolia*. **Canadian Journal Plant Pathology**. 26: 304-313, 2004.

HORIE, H.; KOBAYASHI, T. 1980. Entomosporium leaf spot of Pomoideae, Rosaceae in Japan. **European Journal of Forest Pathology**, 10: 117–124.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA -. **Produção Agrícola Municipal**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 11 dez. 2013.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA -. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1613&z=t&o=11&i=P>>. Acesso em: 07 jan 2015.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. **Frutas frescas – Importação**. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/estatisticas/Exportação/Comparativo_das_Exportações_Brasileiras_de_Frutas_Frescas_2012-2013.pdf> Acesso em: 10 dez. 2014.

JONES, A.L.; ALDWINCKLE, H.S. **Compendium of apple and pear diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1990. 100p.

KRANZ, J.; HAU, B. Systems analysis in epidemiology **Annual Review of Phytopatholog.** 18: 67-83. 1980.

LAMBE, R.C.; BAUDOIUN, A.B.A.M. 1984. Summary of three years of fungicide trials conducted to prevent Entomosporium leaf spot of photinia 'Fraseri' South. **Nurserymen's Assoc. Res. Conf. Annu. Rep.** 29., p. 164-166.

LANGE, R. M.; BAINS, P. S.; HOWARD, R. J. Efficacy of fungicides for control of Entomoporium leaf and berry spot of Saskatoon. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, n. 10, p. 1137-1141, 1998.

MADDEN, L.V. 2007. **The study of plant disease epidemics**. APS Press, St Paul, Minesota.

MACHADO, B.D. **Aspectos vegetativos e produtivos de cultivares copa de pereira europeia com combinações de porta-enxerto**. 2011. 88 f. Dissertação (mestrado em Produção Vegetal) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC.

MELLO, L. M. R. **Produção e mercado da pera de 2001 a 2010: panorama nacional e mundial**. Bento Gonçalves: EMBRAPA uva e vinho, 2013. 7p. (EMBRAPA. Comunicado Técnico, 133).

MILOSEVIC, T.; MILOSEVIC, N. Influence of cultivar and rootstock on early growth and syllepsis in nursery trees of pear (*Pyrus communis* L., Rosaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Curitiba, v.54, n.3, p.451-456, 2011.

NAKASU, B. H. et al. **A cultura da pera**. Brasília, DF: Embrapa Clima Temperado; Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 58 p. (Coleção Plantar, 58).

NAKASU, B. H.; LEITE, D. L. *Pyrus* 9 - Seleção de pereira para o sul do Brasil. **Horti Sul**, Pelotas, v. 2, n. 3, p. 19-20, 1992.

NUNES, C.C.; ALVES, S.A.M. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da severidade de entomosporiose em folhas de pereira. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.3, p.239-244, 2012.

NUNES, C.C. et al. Epidemiologia da entomosporiose da pereira em pomares no Sul do Brasil, Bento Gonçalves, **Embrapa Uva e Vinho**, 2013. 26 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, ISSN 1981-1004; 18.

PASCHOLATI, S.F. et al. **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba, Fealq, 2008. 627 p.

PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do Parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. v.1, p.593-636.

PLAKIDAS, A.G.1941. The mode of overwintering of *Entomosporium maculatum* in Louisiana. **Phytopathology**, 31:18.

PETRI, J.L.; LEITE, G.B.; YASUNOBI, Y. Incidência e fatores do abortamento de gemas em pereira japonesa. **Agropecuária Catarinense**. V.14, n.2; p.14-18, 2001.

PIERCE, L. McCAIN, A.H. 1983. **Entomosporium leaf spot**. Univ. Calif. Div. Agric. Sci. Leaflet. 21369, 2pp.

QUEZADA, A.C.; NAKASU, B.H. Classificação botânica, origem e evolução. In: QUEZADA, A.C. et al, **Pêra Produção**. Brasília. Embrapa Informação Tecnológica, 2003, v.1, p.20-21.

REIS, E.M. Disseminador de doenças. **Revista Cultivar Hortaliças e Frutas**, dezembro 2004/janeiro 2005, p.10-15. Disponível em: http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/hf29_disseminador.pdf> Acesso em: 11 dez. 2014.

RIBEIRO, P.A.; BRIGHENTI, E.; BERNARDI, J. **Comportamento de algumas cultivares de pereira *Pyrus communis* L. e suas características nas condições do Planalto Catarinense**. Florianópolis: EMPASC, 1991. 53p. (Boletim técnico, 56).

ROSENBERGER, D.A. 1981. **Fabraea leaf blight of pear Proc Apple and Pear Dis Work**. (in APDW publication called Bad Apple.) 2: 81-86.

ROSENBERGUER, D.A. et al. In: APS Northeastern Division Meeting. Oil sprays control *Fabraea* leaf spot on pears. **Abstracts...** Newport, RI, p.195, 2009.

ROTEM, J. Techniques of controlled-conditions experiments. In: KRANZ, J., ROTEM, J. (Eds) **Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology**. Berlin. Springer-Verlag. 1988. p.279-289.

RUFATO, L.; KRETZSCHMAR, A. A.; BOGO, A. **A cultura da pereira**. Florianópolis: DIOESC, 247p, 2012.

SILVA, E. S. B da; FINARDI, N.; FORTES, G. R de L. Época de enxertia no enraizamento e união do enxerto sobre os porta enxertos *Pyrus calleryana* e *Pyrus betulaefolia* através da enxertia e enraizamento. **Revista Brasileira de Agrociência**. Pelotas, vol. 3, Nos 1, 2 e 3, Jan/Dez/1997, p. 119-124, 1997.

SIVANESAN, A.; GIBSON, I.A.S. 1976. *Diplocarpon maculatum* *Crataegus*. **Descriptions of pathogenic fungi na bacteria**. n. 481. Commonw. Mycol. Inst. Kew Surrey, England. 2pp.

STATSOFT INC. **STATISTICA 6.0**. Tulsa. Disponível em: <www.statsoft.com>. 2001

STOWELL, E.A.; BACKUS, M.P. 1966. **Morfology and citology of *Diplocarpon maculatum* on *Crataegus***. In: The Entomosporium stage. *Micologia* 58:949-60.

TORMELIN, J.R.; JONES, A.I. Effect of temperature and relative humidity on the latente period of *Venturia inaequalis* in apple leaves. **Phytophatology**, v.73 (1): 54-4,1983.

VALE, F.X.R. do; ZAMBOLIM, L; CHAVES, G.M. Efeito do binômio temperatura - duração do molhamento foliar sobre a infecção de *Phakopsora pachyrhizi* em soja. **Fitopatologia Brasileira**. 15 (3): 200-2, 1990

VALE, F.X.R.; FERNANDES FILHO, E.I.; LIBERATO, J.R. A software plant disease severity assessment. In: International Congress of Plant Pathology, 8., 2003, Christchurch. **Anais**. Christchurch: New Zealand, 2003. p.105 (Resumo).

VALE, F.X.R. et al. Quantificação de doenças e do crescimento do hospedeiro. In: Vale, F.X.R.; Jesus Junior, W.C.; Zambolin, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfil, 2004. cap 3, p. 91-121.

VAN der ZWET, T.; STROO, H.F. 1985. Effects of cultural conditions on sporulation, germination and pathogenicity of *Entomosporium maculatum*. **Phytopathology**, 75:94-97.

VAVILOV, N. I. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. **Chronica Botanica**, New York, v.13, n.1, p.1-366, 1951.

ZADOKS, J.C.; SCHEIN, R.D. **Epidemiology and plant disease management**. Oxford: University Press, 1979.