

**REAÇÃO DE VARIEDADES DE MARACUJAZEIRO AMARELO  
(*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) A BACTERIOSE  
CAUSADA POR *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae***

**JAQUELINE FOGAÇA MIRANDA**

Dissertação apresentada à Escola Superior de  
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de  
São Paulo, para obtenção do título de Mestre  
em Agronomia, Área de Concentração:  
Fitopatologia.

**PIRACICABA**  
Estado de São Paulo – Brasil  
Março - 2004

**REAÇÃO DE VARIEDADES DE MARACUJAZEIRO AMARELO  
(*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) A BACTERIOSE  
CAUSADA POR *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae***

**JAQUELINE FOGAÇA MIRANDA**  
Engenheiro Agrônomo

Orientador : Prof. Dr. **LUIS EDUARDO ARANHA CAMARGO**

Dissertação apresentada à Escola Superior de  
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de  
São Paulo, para obtenção do título de Mestre  
em Agronomia, Área de Concentração:  
Fitopatologia.

**PIRACICABA**  
Estado de São Paulo – Brasil  
Março - 2004

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Miranda, Jaqueline Fogaça  
Reação de variedades de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f.  
*flavicarpa* Deg.) a bacteriose causada por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*  
Jaqueline Fogaça Miranda. - - Piracicaba, 2004.  
48 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004.  
Bibliografia.

1. Bacteriose vegetal 2. Mancha bacteriana 3. Maracujá amarelo 4. Resistência genética  
vegetal 5. Xanthomonas I. Título

CDD 634.425

**“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”**

Ao meu marido Fernando, pelo nosso amor,  
As nossas filhas Laura e Manuela, pela  
felicidade que nos proporcionam,

**DEDICO.**

Ao meus pais Jerônimo e Maria Aparecida,  
Aos meus irmãos Jefferson, Jocelaine e Jeane,  
Aos meus sogros Manoel e Dulce,  
Aos meus sobrinhos e cunhados,  
pelo carinho de nossa convivência,

**OFEREÇO.**

## **AGRADECIMENTOS**

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESAQL/USP), pela minha formação profissional, e em especial ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade concedida;

Ao Professor Dr. Luis Eduardo Aranha Camargo pela orientação, apoio e ensinamentos transmitidos;

Ao CNPQ, pela bolsa de estudo concedida;

À Professora Dra. Maria Lúcia Carneiro Vieira do Departamento de Genética e Melhoramento de Plantas da ESALQ/USP, e à pesquisadora Dra. Laura Maria Molina Meletti, do Centro de Fruticultura do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), pela confiança em ceder-me o material vegetal utilizado no desenvolvimento deste trabalho;

Aos Professores do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP pelos muitos ensinamentos e contribuição à minha formação;

Aos amigos do curso de Pós-graduação em Fitopatologia, em especial à Marília, Mariana, Ana Carolina, Paulo e Maurício pelo companheirismo e incentivo constante;

Aos amigos do laboratório de Genética Molecular: Kátia, Célia, Rodrigo, Viviane, Adriani, Daniela, Flavia, Cristina, Giovana, Alice, Maeli, Claudia, Camila, Ana, Alessandra e a tantos outros que por lá passaram;

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, especialmente a Jefferson, Marina, Fernanda, Rodolfo, Pedro Arthuso e Sílvia;

Ao meu marido Fernando, pelo carinho, apoio e auxílio permanente, incluindo a colaboração nas análises estatísticas;

Aos meus pais Jerônimo e Cida, por acreditarem que seus filhos podiam aprender um pouco mais;

Aos meus sogros Dr. Manoel Miranda e Dulce, pelo apoio e principalmente por terem sido como verdadeiros pais para mim;

A minha irmã Jocelaine e ao meu cunhado Ronaldo, pelo incentivo e pela hospedagem tão solícita;

Ao Alessandro, pela ajuda na rega dos experimentos nos finais de semana;

À Helena e Guilherme, pelo auxílio dado com o Summary;

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho,

**O MEU SINCERO AGRADECIMENTO.**

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	x
SUMMARY.....	xii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 A cultura do maracujazeiro: aspectos gerais e importância econômica...	3
2.2 Mancha Bacteriana.....	5
2.2.1 Etiologia.....	5
2.2.2 Sintomatologia.....	7
2.2.3 Ciclo da doença.....	8
2.2.4 Controle.....	8
2.3 Melhoramento do maracujazeiro para resistência a mancha bacteriana..	9
2.4 Avaliação da severidade da mancha bacteriana em maracujazeiro.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Elaboração e validação de escala diagramática de sintomas para auxiliar na avaliação da severidade da mancha bacteriana em Maracujazeiro.....	14
3.1.1 Elaboração da escala diagramática.....	14
3.1.2 Validação da escala diagramática.....	15
3.1.3 Análise dos dados.....	15

3.2 Avaliação da reação de plantas de maracujazeiro amarelo à mancha bacteriana causada por <i>X. campestris</i> pv. <i>passiflorae</i> .....	16
3.2.1 Material Vegetal.....	16
3.2.2 Isolado bacteriano.....	17
3.2.3 Ensaio de casa de vegetação.....	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1 Elaboração e validação de escala diagramática de sintomas para auxiliar na avaliação da severidade da mancha bacteriana em Maracujazeiro.....	22
4.1.1 Elaboração da escala diagramática.....	22
4.1.2 Validação da escala diagramática.....	24
4.2 Avaliação da reação de populações de maracujazeiro amarelo a <i>X. campestris</i> pv. <i>passiflorae</i> .....	30
5 CONCLUSÕES.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41



## LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Escala diagramática para avaliação da mancha bacteriana em maracujazeiro com cinco níveis de severidade da doença.....	23
2 Regressões lineares entre severidades real e estimada com auxílio da escala diagramática. A linha tracejada representa a estimativa real da severidade e a linha cheia a estimativa visual de cada avaliador.....	26
3 Erros absolutos (diferenças entre severidades estimada e real) para os sete avaliadores.....	27
4 Severidade da mancha bacteriana em indivíduo da população MSBA (a) e indivíduo da variedade comercial Sul Brasil (b), 12 dias após inoculação.....	32
5 Distribuição da variável AACPD dos nove materiais (120 plantas/material) avaliados no primeiro ensaio.....	36
6 Distribuição da variável AACPD dos nove materiais (100 plantas/material) avaliados no segundo ensaio.....	36

## LISTA DE TABELAS

	Página
1 Interseção (a), coeficiente angular (b) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das regressões lineares entre a severidade real e estimada, para sete avaliadores.....	25
2 Interseção (a), coeficiente angular (b) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das regressões lineares entre a severidade estimada pelo melhor avaliador com as estimativas dos demais avaliadores.....	29
3 Análise da variância para AACPD do primeiro ensaio, realizado entre os meses de setembro a dezembro de 2002.....	31
4 Comparação entre médias para AACPD, utilizando teste de Tukey para as nove populações avaliadas no primeiro ensaio.....	31
5 Análise da variância para AACPD do segundo ensaio, realizado entre os meses de janeiro a março de 2003.....	34
6 Comparação entre médias para AACPD, utilizando teste de Tukey para as nove populações avaliadas no segundo ensaio.....	34
7 Análise variância conjunta dos dois ensaios para AACPD.....	38
8 Comparação entre médias para AACPD da análise conjunta, utilizando teste de Tukey para os 8 materiais em comuns nos dois ensaios.....	38

**REAÇÃO DE VARIEDADES DE MARACUJAZEIRO AMARELO (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) A BACTERIOSE CAUSADA POR *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae***

Autora: JAQUELINE FOGAÇA MIRANDA

Orientador : Prof. Dr. LUIS EDUARDO ARANHA CAMARGO

**RESUMO**

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a reação de oito variedades comerciais e dois acessos selvagens de maracujá amarelo (*P. edulis* Sims f. *flavicarpa*), quanto à resistência a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* e elaborar uma escala diagramática de sintomas para auxiliar na avaliação da severidade da mancha bacteriana. A escala foi desenvolvida a partir de 100 folhas com sintomas da doença. Desta amostra foram estabelecidos cinco níveis de severidade utilizados na escala (2%, 5%; 11%, 26% e 59%). A escala foi validada por sete avaliadores, que utilizaram 48 folhas com diferentes níveis de severidade. A validação da escala mostrou que os avaliadores apresentaram alta precisão nas suas avaliações, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variando de 0,86 a 0,95. A maioria dos avaliadores apresentou uma leve tendência em superestimar a severidade da doença. A escala mostrou-se útil ao trabalho, permitindo avaliações com alta precisão e boa acurácia. Para avaliar a reação das dez populações (oito variedades comerciais e dois acessos selvagem) de maracujá amarelo em relação a X.

*campestris* pv. *passiflorae*, dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, o primeiro entre os meses de setembro a dezembro de 2002 e o segundo entre os meses de janeiro a março de 2003. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com nove tratamentos e quatro repetições em ambos os ensaios, sendo que as parcelas experimentais consistiram de 30 e 25 plantas de cada material, respectivamente, no primeiro e segundo experimentos. As avaliações de severidade da doença foram realizadas aos 7, 14 e 21 dias após inoculação, através da escala diagramática de sintomas elaborada neste trabalho. Com os dados das três avaliações, estimou-se a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) para cada material estudado. Os resultados permitiram detectar diferentes níveis de resistência entre as populações avaliadas. Os materiais mais resistentes a *X. campestris* pv. *passiflorae* foram as variedades Sul Brasil e IAC- serie 270, enquanto que as variedades IAC-277, Maguary e Flora foram as mais suscetíveis.

**REACTION OF VARIETIES OF YELLOW PASSION FRUIT (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) TO BACTERIAL SPOT CAUSED BY *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae***

Author : JAQUELINE FOGAÇA MIRANDA

Adviser: Prof. Dr. LUIS EDUARDO ARANHA CAMARGO

**SUMMARY**

This study aimed to evaluate the reaction of eight populations of commercial yellow passion fruit and two of wild passion fruit (*P.edulis* Sims f. *flavicarpa*) to *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* and elaborate a diagrammatic scale of symptoms for the evaluation of the severity of the disease. This scale was developed based on 100 leaves with different levels of disease. Out of this sample, five levels of severity were depicted in the scale (2%, 5%, 11%, 26%, and 59%). The scale was used by seven evaluators to assess the symptoms of 48 leaves with different degrees of severity. The evaluators showed high precision judging by the high correlation coefficients ( $R^2$ ) which ranged from 0.86 to 0.95. Most evaluators showed a tendency to super-estimate the severity of the disease. Notwithstanding, the scale allowed precise and accurate evaluations. Two experiments were performed in the greenhouse to determine the level of resistance of ten populations (eight commercial and two wild) of yellow passion fruit to *X. campestris* pv *passiflorae*. The first trial was conducted between September and December 2002, and the

second between January and March 2003. The experimental design consisted of random blocks, with nine treatments and four replicates in both experiments. The experimental plot consisted of 30 and 25 plants of each variety, respectively in the first and second trials. Disease severity was evaluated 7, 14, and 21 days after inoculation using the diagrammatic scale. With the data of the three evaluations, the area under the disease progress curve (AUDPC) for each material was estimated and used in the analysis of variance. The results detected different levels of resistance among populations. The most resistant materials were the varieties Sul Brasil and IAC- serie 270, while the varieties IAC-277, Maguary e Flora were the most susceptible.

## 1 INTRODUÇÃO

O maracujazeiro é uma frutífera da família *Passifloraceae* e do gênero *Passiflora*, bastante cultivada no Brasil e de bom retorno econômico. A espécie *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (maracujá amarelo) é a mais cultivada no Brasil, ocupando cerca de 95% dos pomares comerciais.

O Brasil, com área plantada em torno de 34.800 ha, figura como o maior produtor mundial. A produção brasileira, em 2002, foi de 478,65 mil toneladas e a produtividade média nacional situa-se em torno de 14 t/ha. Dentre os principais estados produtores destacam-se Pará, Bahia, São Paulo, Sergipe, Rio de Janeiro, Ceará e Minas Gerais. O estado de São Paulo aparece com maior expansão da área cultivada por ser uma atividade atrativa para pequenos produtores, uma vez que oferece um retorno econômico rápido com receitas distribuídas quase o ano todo. Embora o Brasil seja o maior produtor mundial, trabalhos visando melhoramento ainda são escassos. O melhoramento genético pode contribuir significativamente para o aumento da produtividade, qualidade dos frutos e tolerância ou resistência genética às principais doenças, em função da grande variabilidade existente dentro da espécie *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (maracujá amarelo) e espécies relacionadas.

A mancha bacteriana, causada por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* (Pereira, 1969) Dye, é uma das principais doenças do maracujazeiro e constitui fator limitante para a cultura em várias regiões produtoras do Brasil devido à forma severa com que ocorre sob condições de clima quente e úmido. Os sintomas provocados pela bactéria são manchas

foliares verde-escuras e aquosas, circundadas por halo clorótico, que evoluem para áreas irregulares oleosas de cor pardacenta.

As principais medidas de controle incluem a produção de mudas e sementes sadias, poda de limpeza, uso de quebra ventos e aplicação de produtos bactericidas. Entretanto, essas medidas não têm apresentado resultados satisfatórios. Desta forma, a obtenção e utilização de variedades de maracujazeiros resistentes ou tolerantes à bacteriose torna-se a medida mais desejável para o controle da doença.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de oito variedades comerciais e dois acessos selvagens de maracujá amarelo (*P. edulis* Sims f. *flavicarpa*), quanto à resistência a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* e elaborar uma escala diagramática de sintomas para auxiliar na avaliação da severidade da mancha bacteriana em maracujazeiro. Com vistas ao início de um programa de melhoramento, objetivou-se identificar indivíduos com satisfatórios níveis de resistência.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura do maracujazeiro: aspectos gerais e importância econômica

Maracujá é um nome de origem indígena, das tribos Tupi e Guarani, e deriva de “murukuia”, que significa “alimento em forma de cuia”. A utilização do maracujazeiro pelo homem é grande e diversificada. As espécies são cultivadas por suas características alimentícias, ornamentais e medicinais. O principal uso está na alimentação humana, na forma de sucos, doces, sorvetes e licores. O valor ornamental é conferido pelas belas flores e o valor medicinal, também muito difundido, é devido às propriedades calmantes da passiflorina, um sedativo natural encontrado nos frutos e nas folhas. É também rico em vitamina C, cálcio e fósforo (Meletti, 1995; Sousa & Meletti, 1997).

O maracujazeiro pertence à família *Passifloraceae*, da ordem Passiflorales. Essa família compreende 18 gêneros e cerca de 630 espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais da América, Ásia e África (Vanderplanck, 1996). No Brasil, a família é representada por apenas dois gêneros: *Dilkea* e *Passiflora*. O gênero *Passiflora* é originário da América do Sul e tem no Centro-Norte do Brasil o maior centro de distribuição geográfica (Medina et al., 1980). Possui cerca de 530 espécies tropicais e subtropicais, das quais 150 são originárias do Brasil. Destas, cerca de 60 produzem frutos com valor comercial (Schultz, 1968; Manica, 1997).

O gênero *Passiflorae* compreende plantas que podem se apresentar como ervas ou arbustos de hastes cilíndricas ou quadrangulares, angulosas,

suberificadas, glabras ou pilosas. Seus representantes diferem dos outros gêneros pela presença de cinco estames, cinco pétalas e cinco sépalas, pelo ginandróforo ereto com estames de extremidades livres e com três estigmas (Teixeira, 1994).

Entre as espécies de *Passiflorae* mais difundidas e cultivadas comercialmente estão *Passiflorae edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (maracujá amarelo), *P. edulis* f. *edulis* Sims (maracujá roxo), *P. alata* Dryand (maracujá doce), *P. ligularis* Juss. e *P. quadrangularis* L. (Bruckner, 1997; Silva & São Jose, 1994; Sousa & Meletti, 1997). *P. edulis* (maracujá roxo) é largamente cultivado em diversos países do mundo, enquanto que *P. edulis* f. *flavicarpa* (maracujá amarelo) é o mais cultivado no Brasil, ocupando cerca de 95% dos pomares comerciais (Meletti & Maia, 1999).

O maracujá amarelo possui folhas simples, trilobadas, exceto jovens, quando as folhas apresentam-se inteiras ou bilobadas. As flores abrem-se uma única vez, iniciando-se por volta das 12 horas, e fecham-se à noite. O fruto é ovóide ou globoso, conforme a variedade, de coloração amarelo ou amarelo esverdeado (Sousa & Meletti, 1997), apresenta um diâmetro longitudinal de 5,1 a 9,1 cm, com peso de 38 a 105 gramas (Manica, 1997). A planta de maracujá amarelo, de modo geral, assemelha-se muito a planta de maracujá roxo, tendo como diferenças básicas a pigmentação da casca dos frutos por ocasião da maturação, sabor e resistência a doenças (Silva & São José, 1994; Bruckner, 1997).

O Brasil é o primeiro produtor mundial de maracujá, com cerca de 34.800 ha plantados e uma produção, em 2002, calculada em 478,65 mil toneladas de frutos (IBGE, 2004). A cultura encontra-se em plena expansão no Brasil; o crescimento médio da área plantada situa-se ao redor de 5% ao ano. O cultivo do maracujazeiro está difundido em quase todo o país, destacando-se como principais estados produtores Pará, Bahia, São Paulo, Sergipe, Rio de Janeiro, Ceará e Minas Gerais (Aguiar & Santos, 2001). Estes estados são responsáveis por cerca de 97% da produção nacional de maracujá. No entanto,

apesar da posição de destaque do Brasil na produção de maracujá, a produtividade média nacional é de 14 t/ha (Bruckner, 1997; IBGE, 2004), a qual pode ser considerada baixa, quando comparada a do Havaí que apresenta, em média, produtividade de 50 t/ha (Ruggiero et al., 1996).

No estado de São Paulo, o cultivo do maracujazeiro tem sido uma alternativa agrícola atraente para a pequena propriedade cafeeira, uma vez que oferece um rápido retorno econômico, com receita distribuída quase o ano todo (Sousa & Meletti, 1997). Durante a década de 90, o Estado de São Paulo foi o estado que mais contribuiu para a expansão da área cultivada e da produção na Região Sudeste. Em 1996, o estado respondeu por 60% da produção e 56% da área cultivada no Sudeste (Meletti, 2001a).

Os maiores estados consumidores do Brasil são São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Bahia e Pernambuco. Quanto ao mercado internacional, a Europa importa 90% do suco concentrado produzidos pelas indústrias brasileiras. O mercado internacional de maracujá é considerado emergente, necessitando apenas de uma garantia de continuidade de fornecimento ao longo dos anos (Ruggiero et al., 1996). Há também boas perspectiva para os mercados norte americano, canadense e japonês (Lima, 1994).

## **2.2 Mancha Bacteriana**

### **2.2.1 Etiologia**

A mancha bacteriana foi descrita pela primeira vez por Pereira (1969), no Estado de São Paulo, região de Araraquara, que classificou a bactéria como uma nova espécie, propondo a designação de *Xanthomonas passiflorae*. Mais tarde, Dye et al (1980) reclassificaram a bactéria, passando a denomina-la *X. campestris* pv. *passiflorae*. Gonçalves & Rosato (2000), por meio de técnicas de hibridação DNA-DNA, propuseram sua reclassificação como *X. axonopodis* pv.

*passiflorae*. A nomenclatura adotada neste trabalho será *X. campestris* pv. *passiflorae*, devido a sua grande utilização por diversos autores (Takatsu, 2000).

A doença está entre os principais problemas de importância econômica para a exploração do maracujazeiro (Teixeira, 1994). Tornou-se um fator limitante para a cultura em várias regiões produtoras do Brasil, sendo responsável por grandes prejuízos devido à forma severa com que ocorre sob condições de clima quente e úmido (Kuroda, 1981; Teixeira, 1994; Torres & Pontes, 1994; Ribeiro & Mariano, 1997).

A bactéria *X. campestris* pv. *passiflorae* é baciliforme, gram-negativa, móvel por um único flagelo polar, sem formação de esporos ou cápsulas, mede 0,5 x 1,5 µm e produz um pigmento amarelo denominado xanthomonadina. É aeróbia estrita e forma colônias características com nuances amarelo-brilhantes, circulares, convexas, salientes, elevadas, translúcidas, bordos regulares e viscosas. Apresentam crescimento ótimo a 27 °C (Pereira, 1969; Ribeiro & Mariano, 1997).

Dias & Takatsu (1988) determinaram variações significativas em relação às características culturais da bactéria, produção de H<sub>2</sub>S e virulência em maracujazeiro. Nakatani (2001) identificou grande variabilidade genética entre isolados por meio de marcadores moleculares RAPD. Posteriormente, a autora realizou testes de patogenicidade em população de maracujá amarelo, com os cinco isolados mais geneticamente divergentes entre si, e encontrou variabilidade também em patogenicidade. Estudo semelhante foi realizado por Gonçalves & Rosato (2000), que mostraram a existência de alto grau de polimorfismo entre isolados de *X. campestris* pv. *passiflorae*, encontrando níveis de similaridade variando de 35% a 85%.

Segundo Ribeiro & Mariano (1997), a bactéria pode se inoculada com sucesso através do corte das extremidades das folhas com tesoura previamente imersa na suspensão bacteriana, em plantas com 3 a 5 folhas

verdadeiras. Ainda segundo os autores e de acordo com a literatura disponível, não existem outros hospedeiros para o patógeno.

### **2.2.2 Sintomatologia**

Os sintomas da doença podem ser observados nas partes tenras ou suculentas dos tecidos, estendendo-se aos elementos vasculares adjacentes podendo, além de inutilizar os frutos para consumo, acarretar a destruição da planta. Nas folhas são observadas pequenas lesões encharcadas, oleosas e translúcidas, freqüentemente localizadas próximas às nervuras. Estas lesões vistas contra luz apresentam halos cloróticos, podendo exibir, ao exame de uma lupa, gotículas de exsudado bacteriano. Em seguida, tornam-se mais deprimidas, principalmente na página inferior do limbo, ocasionando a seca e desintegração da área do limbo foliar. Nos frutos são observados pequenas áreas verdes escuras que evoluem para áreas circulares ou irregulares, oleosas, de cor pardacenta, geralmente superficiais, necróticas, formando uma crosta dura como conseqüência da evolução da doença (Pereira, 1968; Teixeira, 1994; Ribeiro & Mariano, 1997). A doença pode causar intensa desfolha, que reduz drasticamente ou mesmo impede a formação de frutos (Dias & Takatsu, 1987). Recentemente foi relatado um novo sintoma de deterioração do albeno, o qual é caracterizado por uma podridão mole com anasarca e descoloração, seguidos de separação da casca em frutos de maracujá doce (Malavolta et al., 1999).

Sintomas localizados e sistêmicos podem ocorrer conjuntamente, tanto em mudas inoculadas como em plantas adultas no campo. A infecção, que inicia-se no limbo foliar, pode estender-se ao pecíolo e ramos, através dos feixes vasculares. A parte dos ramos novos sofre uma seca progressiva bem delimitada, apresentando caneluras longitudinais e escurecimento dos feixes

vasculares subjacentes. Nesses feixes vasculares, por meio de corte transversal, ocorre típica exsudação bacteriana (Pereira, 1969).

### **2.2.3 Ciclo da doença**

*X. campestris* pv. *passiflorae* sobrevive principalmente em restos de cultura, sendo o período de sobrevivência reduzido com o seu enterrio. A disseminação a longa distância ocorre por meio de mudas e sementes contaminadas. Dentro da lavoura, a disseminação é feita principalmente por meio de escorrimento e respingos de água da chuva ou irrigação, associados ao vento (Liberato & Costa, 2001). A disseminação também pode ser realizada por meio de caixa de colheita, ferramentas, utensílios e máquinas contaminadas (Melletti, 1999). A bactéria penetra através de estômatos, hidatódios ou ferimentos, colonizando os espaços intercelulares do tecido foliar, como também dos tecidos vasculares.

### **2.2.4 Controle**

As principais medidas de controle da doença incluem a produção de mudas e sementes saudáveis, poda de limpeza, uso de quebra ventos e aplicação de bactericidas (Teixeira 1994; Torres & Pontes, 1994). Torres & Pontes (1994), determinaram que aplicações com Oxícloreto de cobre a 30% e a 50% e Oxícloreto de cobre + Maneb + Zineb, quando aplicados quinzenalmente, são as mais eficientes, apresentando os melhores índices de controle e maiores volumes de produção. No entanto, em períodos chuvosos, o controle da bacteriose por meio de pulverizações com produtos a base de cobre não têm sido eficientes em reduzir a doença (Torres & Pontes, 1994). A poda de ramos doentes também não tem apresentado resultados satisfatórios no controle da

doença. Desta forma, a obtenção e utilização de variedades de maracujazeiros resistentes e ou tolerantes à bacteriose torna-se a medida mais desejável para o controle da doença.

### **2.3 Melhoramento do maracujazeiro para resistência a mancha bacteriana**

Os objetivos do melhoramento, segundo Oliveira & Ferreira (1991), são alta produtividade e vigor, resistência a pragas e doenças, adaptação ampla, frutos grandes, alto teor de suco, coloração amarelo dourada do suco, alto teor de sólidos solúveis e de acidez e resistência ao transporte. Os produtores são orientados a obter sementes de plantas produtivas, que apresentem frutos grandes e ovais, pesados, de coloração uniforme, com casca fina e alto teor de suco. Entretanto, estes critérios mínimos não são observados, o que faz com que grande parte dos pomares comerciais apresente excessiva variabilidade, com alta porcentagem de frutos de qualidade inferior (Meletti & Bruckner, 2001). Esta variabilidade se deve ao fato do maracujazeiro ser uma planta alógama por excelência. Possui polinização cruzada, a qual é condicionada pela auto-incompatibilidade. A polinização requer a presença de diferentes genótipos e de insetos polinizadores, tais como as mamangavas (*Xylocopa* spp.), ou mesmo a polinização manual (Bruckner & Silva, 2001). No maracujazeiro, a auto-incompatibilidade é do tipo homomórfica esporofítica (Bruckner et al., 1995).

Poucos são os estudos sobre a resistência do maracujazeiro amarelo a doenças foliares. No entanto, há perspectiva para desenvolvimento de programa de melhoramento genético do maracujazeiro amarelo visando resistência à mancha bacteriana causada por *X. campestris* pv *passiflorae*, uma vez que já foi constatada a resistência em outras espécies de *Passiflorae*. Rodrigues Neto et al. (1984), por exemplo, consideraram como resistente as espécies *P. molissima*, *P. cincinnata* e *P. foetica*, enquanto que as espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* (maracujá amarelo) e *P. edulis* (maracuja roxo) foram

consideradas suscetíveis, sendo as espécies *P.alata* (maracujá doce) e *P. quadrangularis* altamente suscetíveis. Kuroda (1981) relata como resistente a espécie *P.maliformes*, medianamente resistente *P.edulis* e suscetíveis *P.edulis Sims f.flavicarpa* e *P alata*.

Wendland et al. (1998) trabalharam com diferentes genótipos de maracujazeiro amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) com o objetivo de avaliar o comportamento dos mesmos em relação à bacteriose. Com base em uma escala de notas de severidade, verificaram uma grande variabilidade entre os materiais avaliados, indicando a possibilidade de obtenção de materiais comerciais de maracujazeiros que apresentem desejados níveis de resistência. Com a intenção de identificar materiais comerciais resistentes à bacteriose, Beriam et al. (2000) avaliaram três híbridos comerciais de maracujazeiro amarelo, desenvolvidos pelo Instituto Agrônomo de Campinas, denominados IAC-273, IAC-275 e IAC-277. Também utilizando-se de uma escala de notas, encontraram diferenças significativas em resistência entre híbridos. Estes híbridos constituem atualmente as primeiras cultivares de maracujá amarelo com origem garantida e já se encontram a disposição dos produtores com a denominação de IAC-Monte alegre, IAC-Maravilha e IAC-Jóia, respectivamente (Meletti, 2001b).

A seleção de plantas de maracujazeiro amarelo com níveis consideráveis de resistência, bem como a introdução de genes de resistência de espécies afins, são de grande importância para a cultura. No entanto, devido a barreiras de incompatibilidade, as plantas híbridas interespecíficas obtidas podem apresentar baixa ou nenhuma fertilidade, limitando desta forma o aproveitamento destas plantas em programas de melhoramento (Oliveira, 1987).

Diante às dificuldades encontradas na hibridação sexual interespecífica, a hibridação somática, via fusão de protoplastos, é uma outra possibilidade para introgressão de genes entre espécies de *Passiflora* sexualmente incompatíveis. Entretanto, esta técnica, além de muito trabalhosa, requer estudos que envolve



a caracterização morfológica, o comportamento meiótico e avaliações de natureza agrônômicas dos híbridos somáticos para delinear o seu potencial de aproveitamento em programas de melhoramento genético (Vieira, 1997).

A utilização de marcadores moleculares possibilita a construção de mapas genéticos, os quais contribuem para a localização de genes de interesse, podendo auxiliar os programas de melhoramento genético de maracujá. Um exemplo é a construção do primeiro mapa de ligação em *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* com base em marcadores RAPD, por Carneiro et al. (2002). Os autores utilizaram uma população de 90 indivíduos F<sub>1</sub>, obtidos do cruzamento entre os acessos “IAPAR 123” (genitor feminino) e “IAPAR 06” (genitor masculino) para a construção dos mapas individuais desses acessos de acordo com a estratégia de mapeamento denominada “pseudo-testcross”. Eles relataram um mapa de ligação para o acesso “IAPAR 123” com 728 cM e um mapa de ligação para o acesso “IAPAR 06” cobrindo 783,5 cM. Em média, as marcas de DNA cobriram 61% do genoma. Estes mapas genéticos poderão ser úteis para a localização de genes de resistência à *X. campestris* pv. *passiflorae*, podendo facilitar procedimentos de seleção assistida por marcadores moleculares para resistência a mancha bacteriana. Recentemente, Lopes et al. (2003), dando continuidade ao trabalho anterior, construíram mapas de ligação para os acessos IAPAR 123 e IAPAR 06 com base em marcadores AFLP e mapearam genes de resistência a *X. campestris* pv. *passiflorae*. Os autores relataram um mapa com comprimento total de 473,cM para o acesso IAPAR 123 e um mapa com 790,2 cM para o acesso IAPAR 06. Em ambos os acessos, as marcas foram distribuídas em 9 grupos de ligação, sugerindo que tenham sido contemplados todos os cromossomos da espécie (2n= 18). Os autores identificaram também a presença de um QRL(loco que conferem resistência quantitativa), explicando 15,8 % da variação fenotípica na população segregante. Este QRL foi identificado no acesso 123 e está localizado na posição 39,57 cM no grupo de ligação 2, no intervalo entre os marcadores EM16146r e EM01156a. Este tipo de trabalho poderá fornecer

subsídios para trabalhos de maracujazeiro visando obter populações tolerantes a *X. campestris* pv. *passiflorae*.

#### **2.4 Avaliação da severidade da mancha bacteriana em maracujazeiro**

A quantificação de doenças é considerada uma das fases mais importantes no manejo de doenças de plantas (Kranz, 1988), sendo necessária tanto para estudos de medidas de controle e de caracterização de resistência varietal como para estudos epidemiológicos e estimativas de danos por ela provocados (Amorim, 1995; Bergamin Filho & Amorim, 1996).

A severidade (porcentagem da área ou volume de tecido da planta coberto por sintomas) é a variável mais utilizada para quantificar doença foliares (Bergamin Filho & Amorim, 1996). A severidade de doenças é geralmente avaliada visualmente, o que faz com que sejam geradas estimativas subjetivas. Para auxiliar o avaliador a minimizar a subjetividade de cada avaliação, escalas diagramáticas tornam-se uma ferramenta bastante útil.

Escalas diagramáticas são representações ilustradas de uma série de plantas, ou partes de plantas, com sintomas em diferentes níveis de severidade (Bergamin Filho & Amorim, 1996). Na elaboração dessas escalas, alguns aspectos devem ser considerados como: os limites inferior e superior da escala devem corresponder, respectivamente, às quantidades mínima e máxima de doença observadas em campo; a representação dos sintomas na escala deve ser próxima da observada na planta; as subdivisões da escala devem seguir as limitações da acuidade visual humana, definidas pela lei de estímulo-resposta de Weber-Fechner, na qual a acuidade visual é proporcional ao logaritmo da intensidade do estímulo; outro aspecto importante também a ser considerado é que a vista humana visualiza tecido doente para níveis de severidade abaixo de 50% e tecido sadio para níveis de severidade superiores a 50% (Bergamin Filho & Amorim, 1996; Horsfall & Cowling, 1978; James, 1974; Nutter & Schultz, 1995).

Além das recomendações na elaboração de escalas diagramáticas, o sucesso na sua utilização, que é medido pela precisão e acurácia na estimativa da severidade da doença, depende da experiência e percepção visual de cada avaliador. A acurácia é a exatidão de uma operação isenta de erros sistemáticos. Ela descreve o grau de correspondência de uma avaliação com a realidade. Precisão é a exatidão de uma operação onde existe rigor ou refinamento na medida (Amorim, 1995). Ela descreve a repetibilidade ou variações associadas com os valores estimados. A escala deve, antes de ser utilizada como um método padrão, ser validada por avaliadores e, caso os resultados não sejam satisfatórios a escala deve ser corrigida (Nutter & Schultz, 1995).

A Avaliação da severidade da mancha bacteriana em maracujazeiro tem sido feita com o auxílio de escalas de nota (Kuroda, 1981; Wendland et al., 1997; Beriam et al., 2000), a maioria de natureza qualitativa e de pouca precisão, que faz com que sejam produzidos resultados variáveis quando diferentes avaliadores a utilizam. Uma alternativa para que não ocorra disparidade nos resultados seria a padronização do método de avaliação da severidade para mancha bacteriana em maracujazeiro por meio de escala diagramática.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Elaboração e validação de escala diagramática de sintomas para auxiliar na avaliação da severidade da mancha bacteriana em maracujazeiro**

##### **3.1.1 Elaboração da escala diagramática**

Uma escala diagramática para avaliar a severidade da mancha bacteriana foi construída a partir de 100 folhas de maracujá amarelo com diferentes níveis de severidade. Para isto, foi realizado um pré-experimento com as seguintes variedades comerciais: Cajuba, Flora, IAC-273, IAC-275, IAC-277; IAC–Serie 270 (um composto formado pelas três variedades anteriores), Maguary e Sul Brasil.

Foram semeadas 20 sementes de cada variedade em bandejas de poliestereno de 78 células preenchidas com substrato agrícola Plantmax<sup>®</sup> (Eucatex). Plantas com 30 dias de idades foram inoculadas por meio de inoculação artificial pelo método de corte com tesoura previamente imersa em suspensão bacteriana na concentração de  $10^8$ ufc/ml. Folhas com sintomas típicos de mancha bacteriana foram coletadas, em diferentes dias, de forma que apresentassem variações nos níveis de severidade da doença. Cada folha teve sua área lesionada desenhada em plástico transparente. A área foliar lesionada (tecido necrosado e halo amarelo) e a área foliar total foram quantificadas,

separadamente, em um medidor de área foliar LI-3000 (Licor<sup>®</sup>), utilizando, respectivamente, a área lesionada desenhada no plástico e a própria folha. Todas as folhas coletadas foram digitalizadas em scanner (Hewlett Packard, modelo Scanjet ADF), devido à dificuldade de manter as folhas bem conservadas por longo período de tempo. As folhas reproduzidas através do scanner foram utilizadas, posteriormente, para a validação da escala. Os níveis mínimo e máximo de severidade foram determinadas através dos valores observados nas folhas. Os níveis intermediários da escala foram determinados de acordo com a lei de acuidade visual de Weber- Fechner (Horsfall & Cowling, 1978) que seguem incrementos logarítmicos.

### **3.1.2 Validação da escala diagramática**

Para o teste de validação da escala diagramática foram escolhidas 48 folhas, com diferentes níveis de severidade, das 100 folhas colhidas e escaneadas. A severidade das folhas foi estimada por sete avaliadores, com auxílio da escala desenvolvida. A maioria dos avaliadores possuía experiência previa com avaliação de doenças mais não estavam familiarizados com a mancha bacteriana em maracujazeiro. Na estimativa da severidade sempre foram considerados, além do tecido necrosado, os halos amarelos. Da comparação dos dados estimados pelos avaliadores (severidade estimada) com os dados obtidos pelo medidor de área foliar (severidade real), verificou-se a acurácia e a precisão das avaliações.

### **3.1.3 Análise dos dados**

A análise dos dados foi efetuada por regressões lineares entre a severidade real (variável independente) e estimada (variável dependente) por

meio do programa Microsoft Excel 97 (Microsoft Corporation, 1997). A precisão das estimativas foi obtida pelo coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e pela variância dos erros absolutos (severidade estimada menos real) (Campbell & Madden, 1990, Nutter & Schultz, 1995). A acurácia de cada avaliador foi obtida por meio do teste  $t$  aplicado à intersecção da regressão linear ( $a$ ), para verificar se foi significativamente diferente de 0, e ao coeficiente angular ( $b$ ) da reta obtida pela regressão linear, para testar se foi significativamente diferente de 1 (Nutter & Schultz, 1995).

## **3.2 Avaliação da reação de plantas de maracujazeiro amarelo à mancha bacteriana causada por *X. campestris* pv. *passiflorae***

### **3.2.1 Material Vegetal**

A resistência a *X. Campestris* pv. *passiflorae* foi avaliada em oito variedades comerciais e duas populações de maracujá amarelo selvagem originários da Bahia e Colômbia, denominados respectivamente, MSBA e MSCO (Quadro 1).

As sementes foram semeadas em vasos de plástico preto com capacidade de 3L, contendo como substrato solo esterilizado (mistura de solo + esterco + areia na proporção de 2:2:1). Quando as plantas apresentavam uma a duas folhas verdadeiras procedeu-se o desbaste de forma que ficasse apenas duas plantas por vaso, selecionando-se as mais homogêneas e de melhor aspecto. As plantas foram regadas diariamente, sendo que após a inoculação tomou-se cuidado para não molhar as folhas inoculadas.

<b>Materiais</b>	<b>Procedência</b>	<b>Ano de Introdução</b>	<b>Utilização</b>
Cajuba	Embrapa	nd*	nd
Flora – FB 300	Viveiros Flora Brasil Ltda, MG	nd	Industria e Fruta fresca
IAC-273 (Cultivar Monte Alegre)	IAC, SP	1999	Fruta fresca
IAC- 275 (Cultivar Maravilha)	IAC, SP	1999	Industria e fruta fresca
IAC- 277 (Cultivar Jóia)	IAC, SP	1999	Fruta fresca
IAC- Série 270	IAC, SP	nd	Composto formado pelos três anteriores
Maguary – FB 100	Viveiros Flora Brasil LTDA, MG	nd	Industria
Sul Brasil	Afruvec	nd	Industria e Fruta fresca
MSBA	IAC, SP		Selvagem (Bahia)
MSCO	IAC, SP	1997	Selvagem (Colômbia)

\*nd: não disponível

Quadro 1. Materiais de maracujazeiro amarelo (*Passiflorae edulis* f. *flavircarpa*) avaliados quanto a resistência a *X. campestris* pv. *passiflorae*

### 3.2.2 Isolado bacteriano

O isolado 18b de *X. Campestris* pv. *passiflorae* foi obtido da coleção de bactéria existente no laboratório de Genética Molecular do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ - USP, preservadas a – 80°C em glicerol. Este isolado foi escolhido por apresentar uma elevada

agressividade (Nakatani, 2001). Para saber se o isolado escolhido continuava viável e patogênico, foi realizado teste de patogenicidade por meio de inoculação artificial com suspensão bacteriana do isolado em plantas de maracujá amarelo. Colônias puras do isolado foram obtidas após o plaqueamento em placas de petri contendo meio Nutriente-Ágar (NA) (10g de peptona; 3g de extrato de carne; 16g de agar e 1L de água) e incubação por 5 dias a 28 °C. Para obtenção da suspensão bacteriana, as colônias puras foram transferidas para tubos de plástico com fundo cônico contendo 15 ml de meio nutritivo e crescidas por 16 horas a 28°C sob agitação de 300 rpm. A suspensão foi centrifugada em centrífuga Beckmam GS-6 (Palo alto, CA, EUA), rotor GH3.8, a 2.800 x g por 20 minutos e o sedimentado resultante foi ressuspenso em água destilada e teve sua concentração ajustada em espectrofotômetro a uma densidade óptica de 0,3 A<sub>600</sub> (10<sup>8</sup>ufc/ml). Plantas com cerca de 40 dias de idade, cultivadas em bandejas de isopor e mantidas em casa de vegetação foram inoculadas através de corte de tesoura previamente imersa na suspensão bacteriana. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida por 48 horas.

As plantas que apresentaram lesões típicas da doença tiveram suas folhas coletadas e levadas ao laboratório, onde procedeu-se o reisolamento da bactéria. Para isto, pedaços de tecido da região de transição entre a área sadia e doente foram recortados e submetidos a desinfestação superficial com álcool etílico por 30 segundos. Em seguida, foram transferidos para uma solução de hipoclorito de sódio diluída a 3%, onde permaneceram por mais 30 segundos, e posteriormente foram lavados por 2 vezes em água destilada esterilizada. Os pedaços de tecidos foram então transferidos para 1 ml de água estéril e macerados com auxílio de bastão de vidro. A suspensão bacteriana assim obtida foi plaqueada em placa de petri contendo meio NA. Após 3 dias de incubação a 28 °C, colônias isoladas foram selecionadas e transferidas para novas placas contendo meio NA para garantir a pureza do isolado. Para



armazenamento a longo período, o isolado recuperado foi mantido em tampão fosfato pH 7,0.

### **3.2.3 Ensaio de casa de vegetação**

Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação na área experimental do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ-USP, em duas épocas distintas. O primeiro foi conduzido entre os meses de setembro a dezembro de 2002 e o segundo entre os meses de janeiro a março de 2003.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com nove tratamentos e quatro repetições em ambos os ensaios, sendo que as parcelas foram formadas, no primeiro ensaio, por 30 plantas de cada material dispostas duas a duas em vasos plástico com capacidade de 3L, totalizando 120 plantas/material. Já no segundo ensaio, as parcelas foram formadas por 25 plantas, totalizando 100 plantas/material.

Em ambos os ensaios foram avaliadas as reações das variedades comerciais de maracujá amarelo descritas no item 3.2.1, sendo que a população de maracujá amarelo selvagem originário da Bahia denominada MSBA foi avaliada somente no primeiro ensaio, e a população de maracujá amarelo selvagem originário da Colômbia denominada MSCO foi avaliada somente no segundo ensaio.

A inoculação foi realizada em plantas com 50 dias de idade, por meio de inoculação artificial pelo método de corte de duas folhas de cada planta com tesoura previamente imersa em suspensão bacteriana obtida como descrita no item 3.2.2 a uma concentração de  $10^8$  ufc/ml. Após a inoculação, as plantas foram mantidas por 24 horas em câmara úmida.

As avaliações de severidade da doença foram realizadas aos 7, 14 e 21 dias após inoculação, através de uma escala diagramática de sintomas

desenvolvida para esta finalidade, descrita no item 3.1.1. Com os dados das três avaliações, estimou-se a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (Campbell & Madden, 1990) para cada material estudado segundo a fórmula:

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} (T_{i+1} - T_i), \text{ em que:}$$

$Y_i$  = Proporção da doença na i-ésima observação,

$T_i$  = Tempo em dias da i-ésima observação,

n = Número de observações.

Esta medida é muito útil, uma vez que demonstra o progresso da epidemia ao decorrer do período de avaliação.

Análises de variância individual foram realizadas para a variável AACPD nos dois ensaios segundo Barbin (1993), conforme o modelo matemático :

$$Y_{ijk} = m + t_i + r_j + e_{ij} + \varepsilon_{ijk}, \text{ sendo:}$$

$y_{ijk}$ : média do tratamento i na repetição j, na amostra k;

$m$ : média geral do experimento;

$t_i$ : efeito do tratamento i (i= 1, 2,.....9);

$r_j$ :efeito da repetição j (J= 1, 2, 3, 4)

$e_{ij}$ : erro experimental ou erro entre

$\varepsilon_{ijk}$ : erro amostral ou erro dentro

Considerando o modelo aleatório, temos:

$m$  é fixo, portanto  $E(m) = m$  e  $(m^2) = m^2$

$t_i$ , com média 0 e variância  $\sigma_t^2$ , logo,  $E(t_i) = 0$  e  $E(t_i^2) = \sigma_t^2$

$r_j$ , com média 0 e variância  $\sigma_r^2$ , logo,  $E(r_j) = 0$  e  $(r_j^2) = \sigma_r^2$

$e_{ij}$ , com média 0 e variância  $\sigma_e^2$ , logo,  $E(e_{ij}) = 0$  e  $E(e_{ij}^2) = \sigma_e^2$

$\varepsilon_{ijk}$ , com média 0 e variância  $\sigma_\varepsilon^2$ , logo,  $E(\varepsilon_{ijk}) = 0$  e  $E(\varepsilon_{ijk}^2) = \sigma_\varepsilon^2$

A análise de variância conjunta para a variável AACPD considerando os dois ensaios (duas épocas de plantio), foi realizada utilizando o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijg} = m + t_i + r_{j(g)} + d_g + (td)_{ig} + e_{ijg}, \text{ sendo:}$$

$Y_{ijg}$ : média do tratamento  $i$  na repetição  $j$ , na época  $g$ ;

$m$ : média geral do experimento;

$t_i$ : efeito do tratamento  $i$  ( $i = 1, 2, \dots, 9$ );

$r_{j(g)}$ : efeito da repetição  $j$  ( $j = 1, 2, 3, 4$ ) dentro da época  $g$ ;

$d_g$ : efeito da época  $g$  ( $g = 1, 2$ );

$(td)_{ig}$ : efeito da interação entre o tratamento  $i$  e a época  $g$ ;

$e_{ijg}$ : erro efetivo associado ao tratamento  $i$ , na repetição  $j$ , para a época  $g$ , aleatório e distribuído de forma normal e independente.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Elaboração e validação de escala diagramática de sintomas para auxiliar na avaliação da severidade da mancha bacteriana em maracujazeiro.**

#### **4.1.1 Elaboração da escala diagramática**

A escala diagramática elaborada para auxiliar a quantificação da severidade da mancha bacteriana em maracujazeiro está apresentada na Figura 1, onde é possível observar os cinco níveis de severidade de doença utilizados. O menor nível corresponde a uma severidade de 2% e o maior nível de 59%. Os níveis intermediários, obedecendo à lei de acuidade visual de Weber-Fechner (Horsfall & Cowling, 1978), correspondem a 5%; 11% e 26% de severidade. Raramente foram encontradas folhas doentes com valores acima de 60% de severidade, uma vez que as folhas atacadas senescem e caem com muita rapidez. A representação dos sintomas da doença incluiu os tecidos necrosados e halos cloróticos. Os níveis de severidade determinados neste trabalho foram semelhantes aos obtidos em outras escalas diagramáticas desenvolvidas para avaliação da severidade de bacterioses foliares. Amorim et al. (1993) elaboraram uma escala diagramática para avaliação da severidade da clorose variegada dos citros com níveis de 3, 6, 15, 25, 35 e 56% de severidade de doença, permitindo uma boa estimativa da doença e

apresentando como uma ferramenta bastante útil na avaliação da doença. Diaz et al. (2001) desenvolveram uma escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro. A escala contou com os seguintes níveis de severidade de doença: 0,97; 1,9; 3,3; 8,0; 12,0; 22,0; 31,0 e 51% e mostrou-se adequada para a avaliação da severidade da doença em condições de campo.

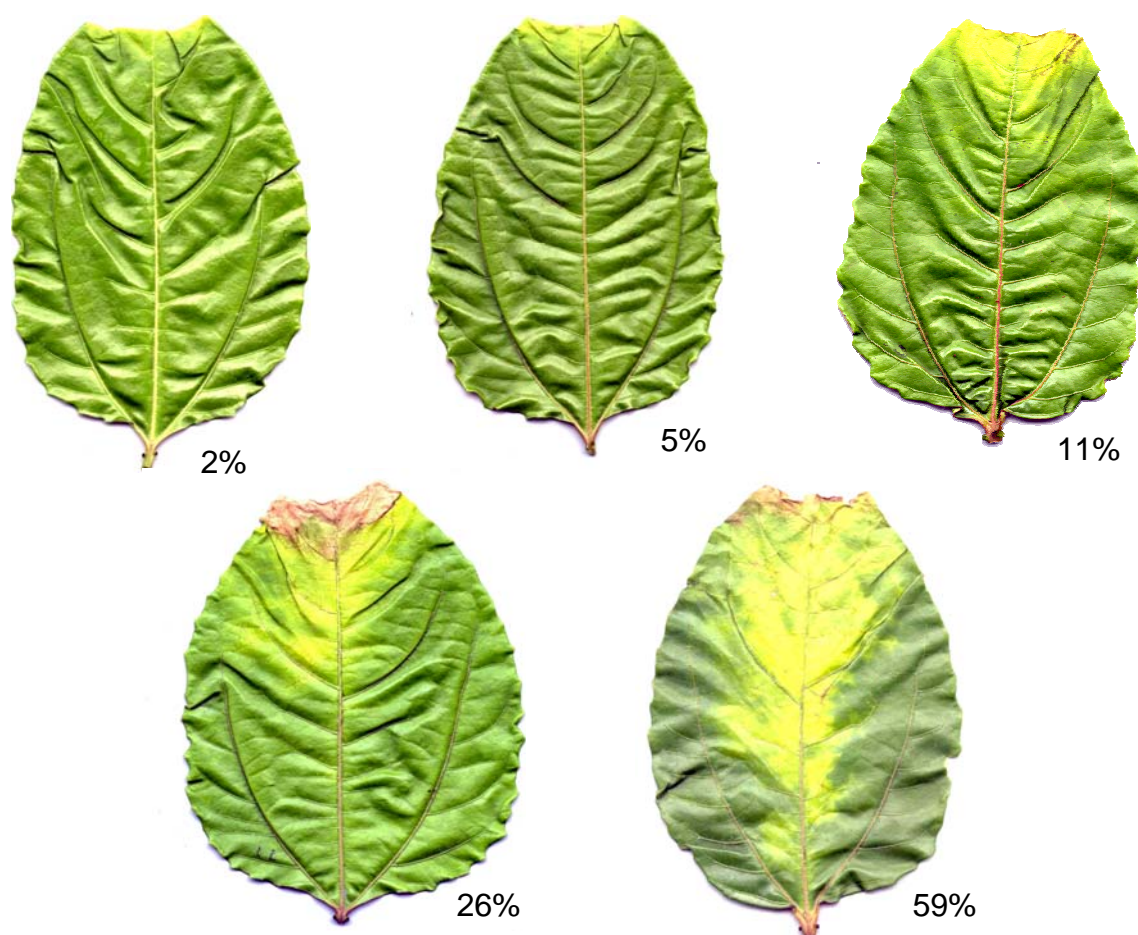


Figura 1 – Escala diagramática para avaliação da mancha bacteriana em maracujazeiro com cinco níveis de severidade da doença

#### 4.1.2 Validação da escala diagramática

A validação da escala mostrou que os avaliadores apresentaram alta precisão nas suas avaliações, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variando de 0,86 a 0,95 (Tabela 1 e Figura 2). A precisão pode ser avaliada pelo coeficiente de determinação da regressão ( $R^2$ ), que deve ser próximo de 100%, e pelas diferenças entre severidade estimada e real (erros absolutos). Os erros absolutos concentraram-se na faixa de 5 a 10% e nunca ultrapassaram o valor de 13,84% (Figura 3). Segundo os critérios utilizados nos programas para o treinamento de avaliadores na quantificação de doenças, como Distrain (Tomerlin & Howell, 1998) e Disease.Pro (Nutter Jr., 1989), um avaliador é considerado excelente quando os erros das estimativas não ultrapassam 5% e bom avaliador aquele cujos erros sejam menores que 10%. Por esse critério, podemos considerar que a maioria das estimativas dos sete avaliadores são de boa qualidade. Ainda, pela análise dos erros absolutos (Figura 3) podemos concluir que houve uma boa precisão, para os sete avaliadores, uma vez que os pontos estão distribuídos próximos ao eixo zero. O avaliador 1 pode ser considerado o mais preciso, o que pode ser explicado pelo fato deste ter maior experiência com utilização da escala.

A interseção (a), o coeficiente angular da reta (b) e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das regressões lineares entre a severidade real e estimada, para os sete avaliadores para a quantificação da severidade da mancha bacteriana em maracujazeiro são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Interseção (a), coeficiente angular (b) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das regressões lineares entre a severidade real e estimada, para sete avaliadores

<b>Avaliadores</b>	<b>A</b>	<b>b</b>	<b><math>R^2</math></b>
1	0,03	0,96*	0,95
2	-0,68	1,02*	0,89
3	3,82	1,03*	0,86
4	1,11	1,06*	0,92
5	2,7	1,05*	0,90
6	3,8	0,92*	0,93
7	5,4	0,87*	0,90

\*asterisco representa situações onde a hipótese ( $a=0$  e  $b=1$ ) foi rejeitada pelo teste t ao nível  $\alpha= 0,05$  de probabilidade.

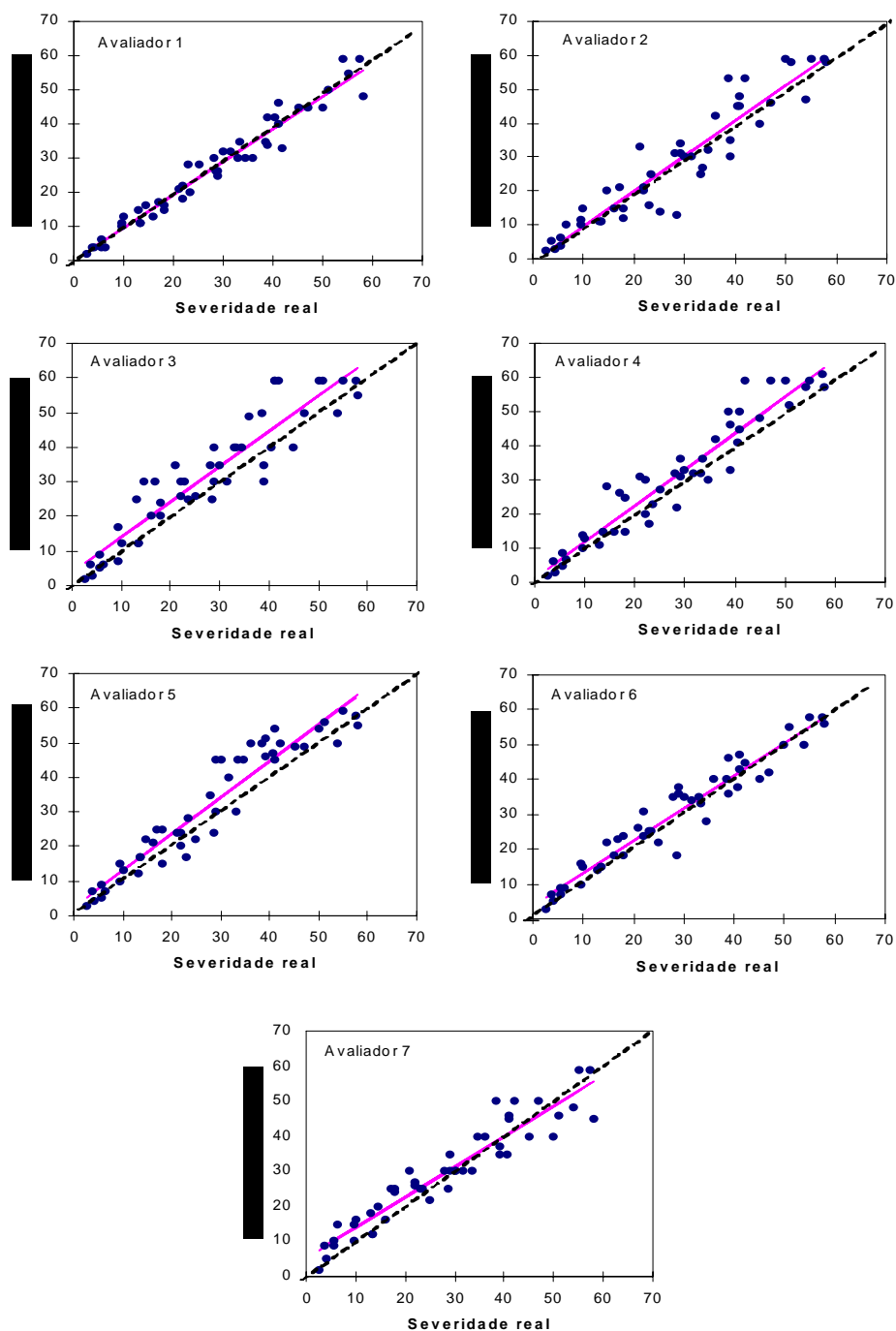


Figura 2 – Regressões lineares entre severidades real e estimada com auxílio da escala diagramática. A linha tracejada representa a estimativa real da severidade e a linha cheia a estimativa visual de cada avaliador



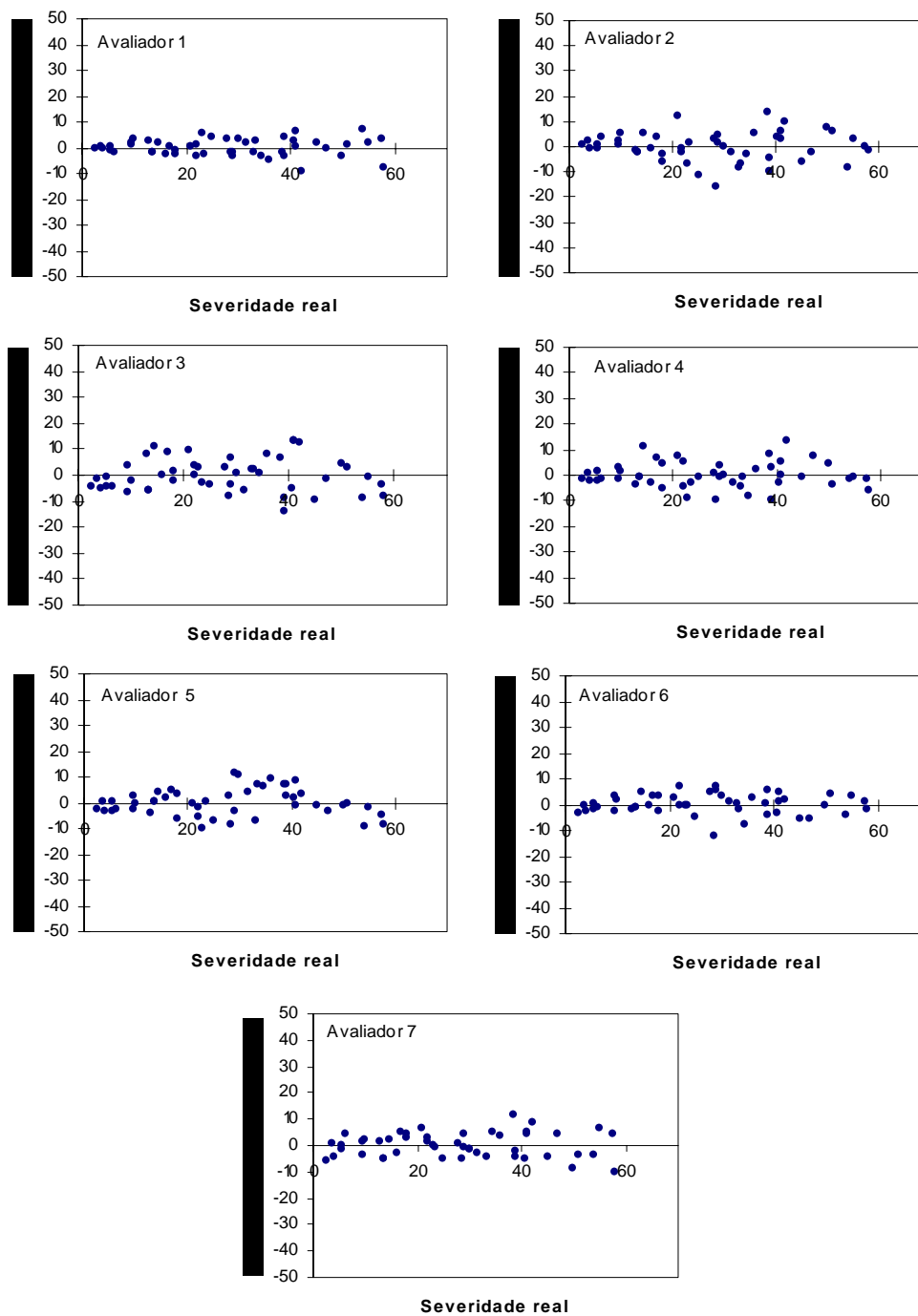


Figura 3 – Erros absolutos (diferenças entre severidades estimada e real) para os sete avaliadores

A acurácia é definida como a exatidão de uma operação isenta de erros sistemáticos. Ela descreve o grau de correspondência de uma avaliação com a realidade (Amorim, 1995). A acurácia pode ser medida pelo coeficiente angular ( $b=1$ ) e pela intersecção da regressão linear ( $a=0$ ) entre a severidade real e estimada. No presente trabalho, a escala desenvolvida possibilitou que todos os avaliadores apresentassem intersecção da regressão linear ( $a$ ) igual a 0, enquanto que os coeficientes angulares ( $b$ ) para todos os avaliadores diferiram de 1 ( $p=0,05$ ), ficando, no entanto, sempre próximos de 1 (Tabela 1). A maioria dos avaliadores (2, 3, 4 e 5) apresentaram uma leve tendência em superestimar a doença, o que pode ser observado através dos coeficientes angulares maiores do que 1 para estes avaliadores, ou ainda através da Figura 2, onde observa-se leituras apresentando uma superestimativa da quantidade de doença. A presença de desvios sistemáticos nas estimativas da quantificação de doença, por todos os avaliadores, também foi verificado por Michereff et al. (2000) na quantificação da severidade da queima das folhas do inhame, indicando a divergência entre estimativas exatas e precisas. Para corrigir a tendência de superestimar o nível da doença, seria necessário que os avaliadores fossem treinados para a utilização da escala. Michereff et al. (2000) concluíram que o treinamento dos avaliadores influenciou positivamente a precisão e a acurácia das estimativas de severidade.

Segundo Nutter & Schultz (1995), a reprodutibilidade das avaliações entre o melhor avaliador e os demais avaliadores, também pode ser utilizada como indicativo de precisão de um método de avaliação de doença. Diferentes avaliadores utilizando-se da mesma escala devem estimar os mesmos valores de severidade da doença. As regressões lineares entre as severidades estimadas entre o melhor avaliador com os demais originaram coeficientes de determinação altos, variando de 0,82 a 0,90 (tabela 2). Desta maneira, os resultados mostram uma alta reprodutibilidade das avaliações entre os avaliadores, o que indica uma alta precisão.

Tabela 2. Interseção (a), coeficiente angular (b) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das regressões lineares entre a severidade estimada pelo melhor avaliador com as estimativas dos demais avaliadores

<b>Avaliadores</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b><math>R^2</math></b>
1 x 2	0,93	1,01*	0,82
1 x 3	5,01*	1,01*	0,82
1 x 4	2,68	1,03*	0,87
1 x 5	3,98	1,04*	0,86
1 x 6	4,91	0,92*	0,90
1 x 7	5,4	0,85*	0,86

\*asterisco representa situações onde a hipótese ( $a=0$  ou  $b=1$ ) foi rejeitada pelo teste t ao nível  $\alpha=0,05$  de probabilidade.

Desta forma, a escala elaborada no presente trabalho mostrou-se útil para auxiliar na avaliação da severidade da mancha bacteriana do maracujazeiro, mostrando-se um método de fácil utilização e capaz de fornecer uma rápida estimativa da doença, permitindo avaliações com alta precisão e boa acurácia.

#### **4.2 Avaliação da reação de populações de maracujazeiro amarelo a *X. campestris* pv. *passiflorae***

A avaliação da reação de plantas de oito variedades comerciais e duas populações selvagens em relação à mancha bacteriana foi realizada com sucesso através de inoculação artificial de suspensão bacteriana de *X. campestris* pv. *passiflorae*. Todas as plantas inoculadas apresentaram sintomas típicos da doença com diferentes níveis de severidade. Os sintomas tiveram início por volta do quinto dia após a inoculação, caracterizando-se por áreas encharcadas próximas ao ponto de inoculação.

Os resultados das avaliações fenotípicas para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) realizado por meio de escala diagramática foram submetidos à análise de variância individual para cada ensaio e também análise conjunta. No primeiro ensaio, a análise de variância mostrou diferenças significativas entre as variedades testadas quanto à resistência a *X. campestris* pv *passiflorae* (Tabela 3).

Os contrastes de médias, utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 4), mostraram que a variedade Sul Brasil apresentou maior nível de resistência em relação às variedades IAC-275, IAC-277, Maguary, Flora e a população MSBA. A Figura 4 ilustra a diferença de severidade entre a variedade comercial Sul Brasil e a população MSBA aos 12 dias após inoculação.

Tabela 3. Análise da variância para AACPD do primeiro ensaio, realizado entre os meses de setembro a dezembro de 2002

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repetições	3	100207,77	4,65	0.0106
Populações	8	221351,03	10,27	0.0001
Resíduo	24	21557,02	3,36	0.0001
Resíduo dentro	897	6412,30		
Total	932			

Média= 373,45

Tabela 4. Comparação entre médias para AACPD, utilizando teste de Tukey para as nove populações avaliadas no primeiro ensaio.

<b>Material</b>	<b>Médias<sup>#</sup></b>
Sul Brasil	300,07 a
IAC-Série 270	323,08 a b
Cajuba	348,43 a b
IAC-273	352,69 a b c
IAC-275	364,88 b c d
IAC-277	402,75 c d e
Maguary	414,65 d e
Flora	424,75 e
MSBA	436,47 e
<b>Média Geral</b>	<b>373,45</b>

<sup>#</sup>:Médias seguidas das mesmas letras não diferem significativamente ao nível  $\alpha=0,05$  de probabilidade.



Figura 4 – Severidade da mancha bacteriana em indivíduo da população MSBA (a) e indivíduo da variedade comercial Sul Brasil (b), 12 dias após inoculação

No segundo ensaio, realizado entre os meses de janeiro a março de 2003, o resultado da análise de variância para AACPD (Tabela 5) também mostrou diferenças significativas entre os materiais. No segundo ensaio, observou-se um nível mais elevado de severidade do que no primeiro, o que pode ser observado por meio da comparação entre médias para AACPD (Tabela 6), que variaram de 386,87 a 547,36, obtendo uma AACPD mais elevada, provavelmente devido a uma maior umidade do ar nesta época, quando comparado a época em que foi instalado o primeiro ensaio. As médias gerais dos ensaios foram 373,45 e 471,37, respectivamente para o primeiro e segundo ensaio.

De maneira geral, as populações se comportaram de forma semelhante ao primeiro ensaio, com a variedade Sul Brasil atingindo um maior nível de resistência e diferindo estatisticamente das variedades IAC-273, IAC-277, Maguary e Flora e da população selvagem MSCO. Uma diferença observada entre o primeiro e o segundo experimento foi que a variedade IAC-273 trocou de posição com a variedade IAC-275, obtendo um maior nível de suscetibilidade em relação ao primeiro ensaio, enquanto que a variedade IAC-275 obteve uma maior resistência. Este tipo de comportamento com a variedade IAC-275 apresentando maior nível de resistência em relação à variedade IAC-273, obtido no segundo ensaio, também foi encontrado por Beriam et al. (2000).

Tabela 5. Análise da variância para AACPD do segundo ensaio, realizado entre os meses de janeiro a março de 2003

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repetições	3	777530,41	22,28	0.0001
Populações	8	181510,71	5,20	0.0008
Resíduo	24	34895,45	3,84	0.0001
Resíduo dentro	727	9089,10		
Total	762			

Média= 471,37

Tabela 6. Comparação entre médias para AACPD, utilizando teste de Tukey para as nove populações avaliadas no segundo ensaio.

<b>Material</b>	<b>Médias<sup>#</sup></b>
Sul Brasil	386,87 a
IAC-Série 270	428,44 a b
IAC-275	444,27 a b c
Cajuba	450,88 a b c
MSCO	463,32 b c d
IAC-273	485,22 b c d e
Maguary	506,65 c d e
IAC-277	517,74 d e
Flora	547,36 e
<b>Média Geral</b>	<b>471,37</b>

<sup>#</sup>:Médias seguidas das mesmas letras não diferem significativamente ao nível  $\alpha=0,05$  de probabilidade.



Os dados referentes AACPD de todas as plantas de cada material estudado foram divididos em 6 classes. A distribuição dessas classes pode ser visualizada, para o primeiro e segundo ensaio, nas figuras 5 e 6, respectivamente. A análise dos gráficos permite observar a reação das variedades frente à doença. Pode-se notar que a variedade Sul Brasil, considerada mais resistente, possui uma maior porcentagem de plantas concentrada na classe da AACPD que vai de 241 a 340, o mesmo ocorre com as variedades que não diferiram estatisticamente dela (Tabela 4 e 6). Já a população MSBA e as variedades Flora, Maguary e IAC-277, consideradas menos resistentes, tiveram um maior número de plantas dentro da classe 341-440, no primeiro ensaio (Figura 5 e Tabela 4). No segundo ensaio, as variedades mais suscetíveis tiveram a maioria das suas plantas dentro da classe 581-680, com ressalva da variedade Flora, que teve a maior parte de suas plantas dentro da classe 581-680 e 681-780 (Figura 6 e Tabela 6).

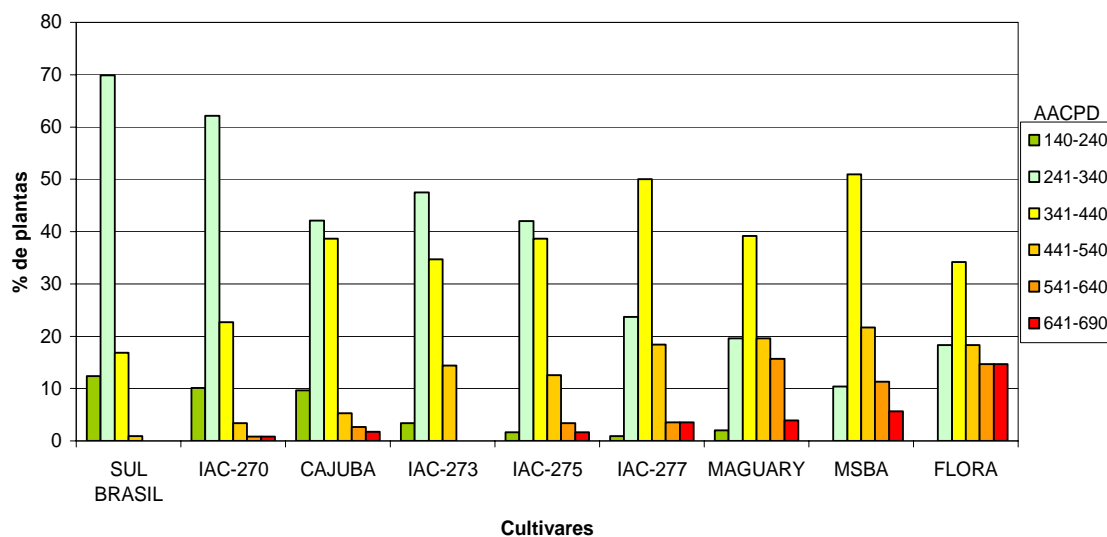


Figura 5 – Distribuição da variável AACPD dos nove materiais (120 plantas/material) avaliados no primeiro ensaio

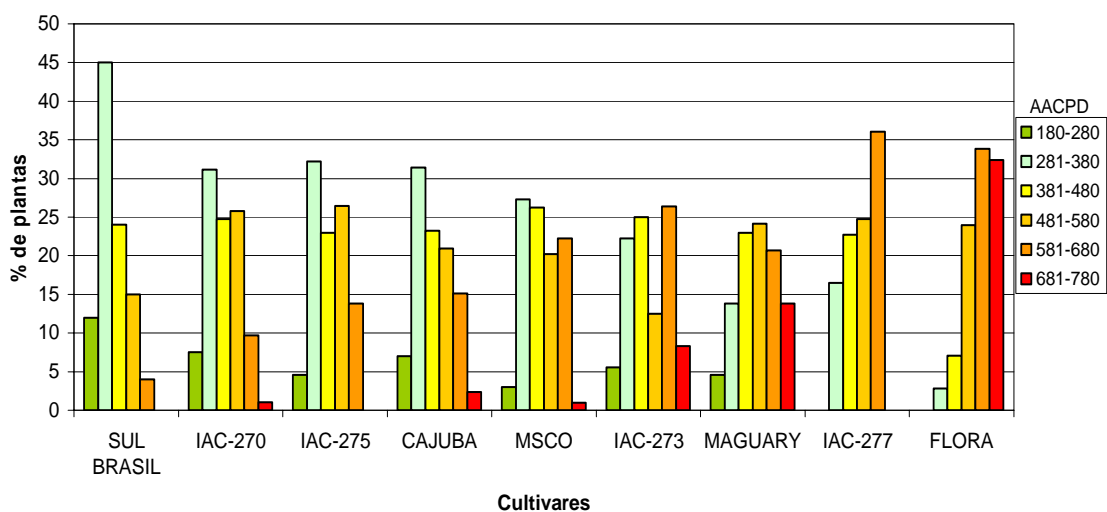


Figura 6 – Distribuição da variável AACPD dos nove materiais (100 plantas/material) avaliados no segundo ensaio

O quadro da análise de variância conjunta realizada entre os dois ensaios pode ser observada na Tabela 7. Houve diferença significativa entre as populações e entre ensaios. No entanto, não houve diferença significativa na interação populações x ensaios. Isso mostra que apesar de ocorrer uma diferença entre os dois ensaios, esta diferença não causou diferença na ordem dos materiais, isto é, os materiais mais resistentes no primeiro ensaio mantiveram-se também resistentes no segundo ensaio. A diferença obtida entre ensaios pode ser devida a maior quantidade de doença no segundo ensaio. A comparação entre médias para AACPD (Tabela 8) mostrou que as variedades Sul Brasil e IAC- Serie 270 foram consideradas as mais resistentes, as variedades Flora, Maguary e IAC-277 as mais suscetíveis e as demais variedades tiveram comportamento intermediário. Dentre as variedades cultivadas comercialmente, observou-se que as variedades Flora e Maguary apresentaram um progresso mais rápido e atingiram níveis de suscetibilidade maior de doença, enquanto que as variedades Sul Brasil e IAC-Serie 270 apresentaram um progresso mais lento e atingiram níveis mais baixos de doença.

A variedade Maguary apresentou maior desuniformidade de plantas em relação às outras variedades, tendo ocorrido em algumas plantas desta variedade uma progressão sistêmica da infecção, com crestamento das folhas, seguido da seca dos ponteiros até a morte da planta. Entretanto, Meletti & Maia (1999) relatam que o material Maguary hoje propagado, apesar de apresentar grande variação entre plantas, apresentam tolerância à bacteriose e antracnose. A alta suscetibilidade da variedade Maguary observada no presente trabalho pode ser explicada pelo método de inoculação utilizado, mais drástico em relação ao que ocorre naturalmente sob condições de campo.

Tabela 7. Análise variância conjunta dos dois ensaios para AACPD

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repetições	3	24845,85	0.0001
Populações (P)	7	18390,83	0.0008
Ensaio (E)	1	174757,86	0.0001
P x E	7	664,94	0.9873
Resíduo	24	3611,79	0.0001
Total	63	-	

Média= 418,67

Tabela 8. Comparação entre médias para AACPD da análise conjunta, utilizando teste de Tukey para os 8 materiais em comuns nos dois ensaios

<b>Material</b>	<b>Médias<sup>#</sup></b>
Sul Brasil	343,47 a
IAC-Série 270	375,75 a b
Cajuba	399,66 b c
IAC-275	404,57 b c
IAC-275	418,96 c d
IAC-277	460,24 d e
Maguary	460,62 d e
Flora	486,08 e
<b>Média Geral</b>	<b>418,67</b>

<sup>#</sup>:Médias seguidas das mesmas letras não diferem significativamente ao nível  $\alpha=0,05$  de probabilidade.

A existência de variabilidade quanto ao nível de doença entre variedades comerciais de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.), sugere a possibilidade de elevar o nível de resistência nas plantas cultivadas comercialmente, através do melhoramento intraespecífico, elevando assim o grau de resistência de maracujá amarelo a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* sem comprometer as características comerciais já fixadas nessas variedades.

## 5 CONCLUSÕES

A escala diagramática elaborada e validada no presente trabalho foi útil para auxiliar a avaliação da severidade da mancha bacteriana do maracujazeiro, possibilitando estimar a severidade da doença com alta precisão e boa acurácia.

Existe variabilidade entre as variedades cultivadas comercialmente, sendo possível elevar o grau de resistência a *X. campestris* pv. *passiflorae* em variedades comerciais.

A variedade comercial Sul Brasil e o composto IAC-270 foram os mais resistentes a bactéria, ao passo que as variedades comerciais IAC-277, Maguary e Flora foram as mais suscetíveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, D.R.D.; SANTOS, C.C.F. Importância econômica e mercado. In: BRUCKNER, C.H.; PICANÇO, M.C. (Ed). **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado.** Porto Alegre: Cinco continentes, 2001. p.9-31.
- AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed). **Manual de fitopatologia –**, 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.647-671.
- AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; PALAZZO, D.; BASSANEZI, R.B.; GODOY, C. V.; TORRES, G. A. M. Clorose variegada dos citros: uma escala diagramática para avaliação da severidade da doença. **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 174-180, 1993.
- ARAUJO, C. M.; GAVA, A. J.; ROBBS, P.G. Características industriais do maracujá e maturação do fruto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 9, n.9, p. 65-69,1974.
- BARBIN, D. **Componentes de Variância: teoria e aplicações.** Piracicaba: FEALQ, 1993. 120p.

- BERIAM, L. O. S.; MALAVOLTA JUNIOR., V. A.; MELETTI, L. M. M. Avaliação de resistência de híbridos de maracujazeiro-amarelo a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*. **Revista**, v. 26, n. 1, p. 125, 2000.
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Manejo de fitopatossistemas: conceitos básicos. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996. p. 189-228.
- BRUCKNER, C. H. Perspectivas do melhoramento genético do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A.R.; BRUCKNER, C.H.; MANICA, I.; HOFFMANN, M. (Ed.). **Maracujá: Temas Seleccionados - Melhoramento, morte prematura, polinização, taxionomia**. Porto Alegre : Cinco continentes, 1997. p.7-24.
- BRUCKNER, C. H.; CASALI, V.W .D.; MORAES, C. F.; REGAZZI, A. J.; SILVA, E. A. M. Self- incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Acta Horticulturae**, n.370, p.45-57, 1995.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Willey, 1990. 532p.
- CARNEIRO, M. S.; CAMARGO, L. E. A.; COELHO, A. S. G.; VENCOVSKY, R.; LEITE JÚNIOR, R. P.; STENZEL N. M. C.; VIEIRA, M. L. C. RAPD- based genetic linkage maps of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims. F. *flavicarpa* Deg.). **Genome**, v. 45, p. 670-678, 2002.
- DIAS, S.C.; TAKATSU, A. Ocorrência de bacteriose do maracujazeiro (*Passiflora* Sp) causada por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, v. 12, n. 2, p. 140, 1987.



- DIAS, S.C.; TAKATSU, A. Variabilidade em *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, v. 13, n.2, p.129, 1988.
- DIAZ, C. G.; BASSANEZI, R. B.; BERGAMIN FILHO, A. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. **Summa Phytopathologica**, v. 27, n. 1, p.35-39, 2001.
- DYE, D. W.; BRADBURY, J. F.; GOTO, M.; HAYWARD, A. C.; LELLIOT, R. A.; SOHRO, M.N. International standards for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names and pathotype stains. **Review of Plant Pathology**, v.59, n.4, p.153-168, 1980.
- GONÇALVES, E.R.; ROSATO, Y.B. Genotypic characterization of Xanthomonad stains isolated from passion fruit plants ( *Passiflora* spp.) and their relatedness to different *Xanthomonas* species. **Internacional Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.50, p.811-821, 2000.
- HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. Patometry: The measurement of plant disease. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. (Ed.). **Plant disease: an advanced treatise. How disease develops in populations.** New York: Academic Press, 1978, v. 2, p. 119-136.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agrícola municipal – Culturas temporárias e perenes. v.29; <<http://www.ibge.gov.br>>. (30 jan. 2004).

- KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (Ed.). **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Berlin: Springer, 1988. p.35-50.
- KURODA, N. Avaliação do comportamento quanto a resistência de espécies e progênies de maracujazeiro à *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* Pereira. Jaboticabal, 1981. 45p. Monografia (Graduação) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.
- LIBERATO, J.R.; COSTA, H. Doenças fúngicas, bacterianas e fitonematóides. In: BRUCKNER, C.H.; PICANÇO, M.C. (Ed). **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco continentes, 2001, p.243-276.
- LIMA, A. de A. **A pesquisa no Brasil com a cultura do maracujá**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, 1994. 14p (EMBRAPA-CNPMF, 55).
- LOPES, R.; LOPES, M. T. G.; MATTA, F. P.; MORAES, M. C.; CAMARGO, L. E. A.; VIEIRA, M. L. C. Mapas de ligação de AFLP em maracujá amarelo e mapeamento de genes de resistência a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* (compact disc). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, Porto Seguro, 2003. **Anais**. Porto Seguro, 2003.
- MALAVOLTA JUNIOR., V. A.; BERIAN, L. O. S.; RODRIGES NETO, J. Podridão do fruto, novo sintoma relacionado a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, Jaboticabal, 1999. **Resumos**. Jaboticabal: FUNEP, 1999. p.89.

- MANICA, I. Maracujá: Taxonomia – anatomia – morfologia. In: SÃO JOSÉ, A.L.; BRUCKNER, C.H.; MANICA, I.; HOFFMANN, M. (Ed). **Maracujá: Temas Seleccionados - Melhoramento, morte prematura, polinização, taxionomia.** Porto Alegre : Cinco continentes, 1997. p.7-24.
- MEDINA , J. C.; GARCIA, J. L. M.; LARA, L. C. C.; TOCHINI, R.P; HASHIZUME, T; MORETTI, V. A.; CANTO, W. L. **Maracujá : da cultura ao processamento e comercialização.** Campinas: Secretaria de Agricultura e abastecimento ITAL, 1980. 207p.
- MELETTI, L. M. M. **Maracujá: produção e comercialização** São Paulo. Campinas: IAC, 1995, 15p. (Boletim técnico, 158).
- MELETTI, L. M. M. A cultura do maracujazeiro em São Paulo. **O agrônomo**, v. 53, n.1, p.18-21, 2001a.
- MELETTI, L. M. M. Maracujá-amarelo: cultivares IAC conquistam a preferência nacional. **O agrônomo**, v. 53, n. 2, p.23-25, 2001b.
- MELETTI, L. M. M.; MAIA, M. L. **Maracujá: produção e comercialização.** Campinas: IAC, 1999, 64p. (Boletim técnico, 181).
- MELETTI, L. M. M., BRUCKNER, C.H. Melhoramento genético. In: BRUCKNER, C. H.; PIKANÇO, M. C. (Ed.). **Maracujá: Tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado.** Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p.345-385.
- MICHEREFF, S. J.; MAFFIA, L. A.; NORONHA, M. A. Escala diagramática para avaliação da severidade da queima das folhas do inhame. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 612-619, 2000.

NAKATANI, A.K. Diversidade genética de *Xanthomonas campestris* pv. *Passiflorae* e sensibilidade a produtos químicos. Piracicaba, 2001. 61p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

NUTTER JUNIOR., F.W. Disease Pro: A computer program for evaluating and improving a person ability to assess disease proportion. **Phytopathology**, v.79, p. 1135, 1989.

NUTTER JUNIOR., F.W.; SCHULTZ, P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 17, p. 174-184, 1995.

OLIVEIRA, J. C. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed). **Cultura do maracujazeiro**. Riberão Preto : L. Summa, 1987. p.273-283.

OLIVEIRA, J.C.; FERREIRA, F.R. Melhoramento genético do maracujazeiro, In: SÃO JOSÉ, A.R.; FERREIRA, F.R.; VAZ, R.L.(Ed.). **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p.211-239.

PEREIRA, A. L. G. Contribuição ao estudo da mancha oleosa da folha de maracujá (*Passiflorae edulis* Sims) causada por *Xanthomonas passiflorae* n. sp. Piracicaba, 1968. 91p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, universidade de São Paulo.

PEREIRA, A. L. G. Uma nova doença bacteriana do maracujá (*Passiflora edulis*, Sims) causada por *Xanthomoas passiflorae* n. sp. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 36, n.4, p.163-174, 1969.

RIBEIRO, G. P.; MARIANO, R. L. R. Doenças do maracujazeiro. .In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed). **Manual de fitopatologia;** doenças das plantas cultivadas, 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, cap.50, p. 525-534.

RODRIGUES NETO, J., SUGIMORE, M. H. ; MALAVOLTA JUNIOR., V.A. Infecção natural em *P. alata* por *Xanthomonas campestris* pv. *Passiflorae*. **Summa Phytopathologica**, v.10, p.50, 1984.

RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A.R.; VOLPE, C. A.; OLIVEIRA, J.C. de; DURIGAN, J.F.; BUAMGARTNER, J.G.; SILVA, J. R. DA; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M. E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V. de. **Maracujá para exportação:** aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996. 62p. (Publicações técnicas FRUPEX, 19).

SILVA, A. C.; SÃO JOSÉ, A. R. Classificação botânica do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.) **Maracujá, produção e mercado.** Vitória da conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 1994, 255p.

SCHULTZ, A. **Botânica sistemática.** 3 ed. Porto Alegre: s.ed. 1968. 215p.

SOUSA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá:** espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: FEALQ, 1997. 179p.

TAKATSU, A. Classificação atual de bactérias fitopatogênicas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.8, p.93-120, 2000.

- TEIXEIRA, C. G. Cultura. In: TEIXEIRA, C. G.; CASTRO, J. V.; TOCCHINI, R. P.; NISIDA, A. L. A. C.; HASHIZUME, T.; MEDINA, J. C.; TURATTI, J.M.; LEITE, R.S.S.F.; BLISKA, F.M.M.; GARCIA, A.E.B.C. (Ed). **Maracujá:** cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas: Instituto Tecnologia de Alimentos, 1994. p. 1- 142.
- TOMERLIN, J. R.; HOWELL, T. A. DISTRAIN: a computer program for training people to estimate disease severity on cerel leaves. **Plant Disease**, v.72, p.455-459, 1988.
- TORRES, F. J.; PONTE, J. Estudo sobre o controle da bacteriose ou “morte precoce” (*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*) do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Fitopatologia Brasileira**, v.19, n.1, p.34-38, 1994.
- VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. London: Cambridge Press, 1996, 224p.
- VIEIRA, M.L.C. Hibridação somática em plantas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 3, p.36-40, 1997.
- WENDLAND, A. Avaliação de espécies de maracujazeiro (*Passiflora* spp.) à bacteriose e caracterização de *Xanthomonas* sp. pv. *passiflorae*. Londrina, 1997. 87p. Monografia (Graduação) – Universidade Estadual de Londrina.
- WENDLAND, A.; LEITE JUNIOR, R. P.; EUNO, B. Avaliação do comportamento de Genótipos de maracujazeiro amarelo (*p. edulis* f. *flavicarpa*) a bacteriose causada por *Xanthomonas campestris* pv. *Passiflorae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, Supl, p.218, 1998.