

Universidade Técnica de Lisboa

Instituto Superior de Agronomia



Desenvolvimento de um sistema pericial para o pedrado da pereira (*Venturia pirina*) na região do Oeste

Justino António Ventura Sobreiro

Orientador: Prof. António Maria Marques Mexia

Júri:

Presidente: Reitor da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Engenheiro Joaquim Pedro Pereira Amaro, professor catedrático jubilado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Ivone Esteves da Clara, professora catedrática da Universidade de Évora;

Doutora Ana Maria Araújo de Beja Neves Nazaré Pereira, professora catedrática da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro;

Doutor António Gabriel da Silva St. Aubyn, professor catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor João Manuel Reis Matos Silva, professor associado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor António Maria Marques Mexia, professor associado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Dissertação apresentada neste Instituto para obtenção do grau de Doutor

Doutoramento em Engenharia Agronómica
Lisboa
2002

Capa: Pseudotecas de *Venturia pirina* em folhas observadas ao microscópio óptico (400×)

Autor: Justino Sobreiro

Editor: Justino Sobreiro

ISBN: 972-95807-3-1

Depósito legal: Efectuado pelo ISA segundo o DL 362/86

Impressão: Grafilipe – Soc. Artes Gráficas, Lda. Cadaval

Este trabalho foi financiado pelos projectos:

PRAXIS 2134 – Fundação da Ciência e Tecnologia

PAMAF 6040 – Ministério da Agricultura

O autor agradece à Fundação da Ciência e Tecnologia a concessão da bolsa de Doutoramento BD 5862/ 95

Tiragem de 100 exemplares

© Fevereiro de 2002

Reservados todos os direitos

Nenhuma parte desta Dissertação pode ser reproduzida, através de fotocópia, microfilme, base de dados informática, software ou qualquer outro meio electrónico ou mecânico sem a permissão escrita do editor

RESUMO

Sobreiro, J. A. V. 2002. Desenvolvimento de um sistema pericial para o pedrado da pereira (*Venturia pirina*) na região do Oeste. Diss. Dout. Eng. Agron. ISA/UTL, Lisboa. 219p.

De 1995 a 2000 estudou-se o comportamento do fungo *Venturia pirina* na pereira (*Pyrus communis*) Rocha, a cultivar mais importante no ecossistema agrícola do Oeste de Portugal.

Confirmou-se que as pseudotecas são a forma principal de hibernação do fungo. As lesões de pedrado nos ramos foram raras (só observadas em 1998) e as infecções nas escamas dos gomos, aparentemente ausentes. O padrão de infecção do fungo no hospedeiro foi aleatório nos primeiros ciclos de infecção primária.

A queda das folhas da pereira ocorreu normalmente de Novembro a Dezembro e a formação das pseudotecas de Dezembro a Janeiro. Neste período, a precipitação média (>100mm, Dez- Jan) e a baixa temperatura (>400h, <7,2°C, Nov- Fev) contribuíram para o aumento do número de pseudotecas por folha. O número médio de pseudotecas foi de 6,6/cm² de folha em 1996 e 7,6/cm² em 1997, num pomar não tratado. Num pomar comercial observaram-se 1,1 pseudotecas/cm² de folha em 1997. As folhas expandidas da pereira mediram, em média, cerca de 18 cm². O número de pseudotecas formado por lesão fértil foi estimado em 20,2± 9,3. O número médio de ascos por pseudoteca variou de 84 ascos em 1996 a 206 ascos em 1997 e o valor médio em três anos (1996 a 1998) foi de 142,3 ascos. A temperatura mais baixa, em Janeiro ou Fevereiro, pareceu condicionar o maior número de ascos formado por pseudoteca.

A evolução da maturação dos ascósporos seguiu o modelo $A_{\text{maduros}} = 1 - e^{-0,00415x}$ baseado no integral térmico acima de 0°C (x), calculado após os primeiros ascósporos maduros visíveis nas pseudotecas (data média, 1 de Março). Utilizou-se a taxa de maturação dos ascósporos (0,00415) de Spotts e Cervantes para o Oregon. O fim da maturação dos ascósporos ocorreu após cerca de 900°C acumulados. A emissão esporádica de ascósporos ocorreu quando se observou no interior das pseudotecas o valor médio de ascósporos maduros inferior a 20% a 30%.

Desenvolveu-se um método para estimar a produtividade de ascósporos, que utiliza as mesmas amostras de folhas ao longo da estação. A emissão dos ascósporos seguiu o modelo $N(512,5; 252,9)$ em 1996 e $N(689,1; 316,8)$ em 1997, com base no integral térmico acumulado desde 1 de Março. A curva da emissão dos ascósporos relacionou-se estreitamente com a curva dos ascos vazios e afastou-se da curva dos ascósporos maduros, sempre que nos pomares as condições foram favoráveis à emissão de ascósporos. A maturidade dos ascósporos e dos ascos foram fenómenos distintos. Primeiro amadureceram os ascósporos e só 10 ou mais dias depois os ascos adquiriram a deiscência.

A captura de ascósporos da atmosfera seguiu a distribuição $N(537,6; 150,0)$, em relação ao integral térmico após 1 de Março. Os ascósporos foram capturados durante seis a oito semanas. A maioria dos ascósporos foi capturada durante o fotoperíodo (90,3% a 98,0% das 6:00 às 18:00) e após a chuva. No caso de longos períodos sem chuva (>1 mês) e na presença de forte orvalho nocturno, alguns ascósporos (2,4% a 6,0% do total anual) foram capturados na noite ou manhã seguinte.

O clima do Oeste de Portugal influenciou o patossistema: Invernos frios e chuvosos (Tipo 1) anteciparam o início da actividade da estação, enquanto Invernos amenos e secos (Tipo 4) o atrasaram. Nos Invernos amenos e chuvosos (Tipo 2) *V. pirina* iniciou a actividade antes da pereira e nos Invernos frios e secos (Tipo 3) a pereira adiantou-se em relação ao fungo. O desfasamento pode atingir cerca de 15 dias.

A 20°C, 8h foi o período mínimo de humectação necessário à infecção de plântulas ou de pereiras envasadas (um ano de idade) por conídios. A 20°C, o período latente em condições laboratoriais variou de 9 a 11 dias. Foi possível obter a relação significativa $\text{Incidência}_{\text{folhas}} = \text{Log}N(2,33; 0,28)$, entre o período de humectação e a incidência de *V. pirina* nas folhas de pereira envasadas. Após 24h de humectação, a incidência de *V. pirina* nas folhas atingiu o máximo. A área média das lesões de pedrado variou de 0,10cm² a 0,22cm², quando o período de humectação variou de 8h a 24h. Aparentemente, a resistência ontogénica foi mais efectiva nos períodos de humectação mais baixos.

Os conídios de *V. pirina* foram viáveis após três períodos de humectação de 24h, intervalados por dois períodos secos de 30min. Em caso de dano ou incapacidade aparente de crescimento da ponta do tubo germinativo, formaram-se novos tubos.

As epidemias naturais de *V. pirina* atingiram 65,1% a 100% dos frutos durante os cinco anos do estudo. No final da estação, o número de lesões por fruto infectado variou de 15,0 a 44,6. A incidência de *V. pirina* nas folhas atingiu o máximo de 29,7% nas plântulas, 87,0% nas pereiras envasadas e 89,2% no pomar sem tratamento, em 1998. A severidade máxima variou de 2,7% nas folhas do pomar sem tratamento a 11,5% nas pereiras envasadas, sujeitas a 24h de humectação. O número máximo de lesões por folha variou de 5,8 em condições naturais a 9,3 nos ensaios de inoculação (24h de humectação).

Obtiveram-se várias relações incidência– severidade, $Incidência=1-e^{-ax}$, baseadas em corimbos, frutos ou folhas. O parâmetro a variou entre 0,046/ lesão a 0,140/ lesão nos frutos e 0,162/ lesão e 0,384/ lesão nas folhas e x foi o número de lesões nos frutos ou folhas.

Um modelo de infecção desenvolvido para o pedrado da pereira (MIP) permitiu simular a curva epidémica e estimar a incidência da doença nos frutos. As constantes do modelo dependeram da temperatura óptima ($T_o=21^{\circ}C$), do período mediano de humectação ($\tilde{w}_{T_o}=15h$), do coeficiente de compensação térmica ($k=0,23/^{\circ}C$) e da intensidade inicial da doença ($I_o=1\%$ frutos infectados). O número de períodos de infecção variou entre oito em 1996 e 21 em 1998 e 2000. O MIP permitiu determinar os meses de maior probabilidade de infecção: em Abril e Maio a possibilidade de infecção foi alta; em Março e Julho média; e em Junho e Agosto baixa. Os períodos de infecção ocorreram de forma agregada em 75,5% dos casos. Nas parcelas onde o MIP foi utilizado na tomada de decisão observou-se a incidência de pedrado em 0,2% a 5,1% dos frutos à colheita. O número de tratamentos realizados variou de três em 1996 a 11 em 2000 (média 6 tratamentos). Foi desenvolvido um sistema pericial (JusClem), que recolhe, processa e disponibiliza a informação de estações meteorológicas aos agricultores na forma de mensagens escritas para telemóvel. A utilização do sistema pericial permitiu reduções no número de tratamentos até 80% em relação ao sistema tradicional.

Palavras-chave: *Venturia pirina*, simulação, sistemas periciais, sistemas de avisos.

ABSTRACT

Sobreiro, J. A. V. 2002. Development of an expert system for pear scab (*Venturia pirina*) in the Oeste region. PhD Thesis. ISA/UTL. Lisboa. 219p.

From 1995 to 2000 the behaviour of the fungus *Venturia pirina* in *Pyrus communis* Rocha, the most important cultivar in the agroecosystem of the West region of Portugal was studied.

It was confirmed that *V. pirina* overwinters mainly as pseudothecia. The scab lesions on the branches were rare (only observed in 1998) and the bud scales infection apparently absent. The infection pattern of the fungus in the host was random in the first cycles of primary infection.

The fall of the pear leaves usually happened from November to December and the pseudothecial initiation from December to January. In this period, the average rainfall (>100mm, Dec- Jan) and the low temperature (>400h, < 7,2°C, Nov- Feb) increased the number of pseudothecia per leaf. The average number of pseudothecia was 6,6/cm² of leaf in 1996 and 7,6/cm² in 1997, in an unsprayed orchard. In a commercial orchard 1,1 pseudothecia/cm² of leaf were observed in 1997. The fully expanded leaves of the pear tree measured on average about 18 cm². The pseudothecial production by fertile lesion was assessed in 20,2± 9,3. The average number of asci per pseudothecium ranged from 84 asci in 1996 to 206 asci in 1997, and the average of three-year study (1996 to 1998) was 142,3 asci. The lower temperature in January or February seems to condition the largest number of asci formed per pseudothecium.

The asci maturation evolution followed the model $A_{maturus} = 1 - e^{-0,00415x}$, based on the cumulative degree-days (base= 0°C) (x), from the first appearance of mature ascospores in the pseudothecia (on average, 1st March). The ascospore maturation rate used (0,00415) was from Spotts and Cervantes in Oregon. The end of ascospore maturation occurred after about 900°C. Ascospore discharge rarely happened when inside the pseudothecia less than an average value of 20% to 30% of morphological-mature ascospores was observed.

A method to assess the ascospore productivity was developed, based on the same leaf samples over the season. The ascospore discharge followed the model $N(512,5; 252,9)$ in 1996 and $N(689,1; 316,8)$ in 1997, over cumulative degree-days since 1st March. The ascospore discharge curve was close to the empty asci curve and far from the mature ascospore curve, whenever the orchard conditions were favourable to the ascospore discharge. It was observed that the ascospore and asci maturation are different events. First the ascospores matured and only ten or more days afterwards the asci acquired dehiscence.

The airborne-trapped ascospores followed the distribution $N(537,6; 150,0)$, over cumulative degree-days since 1st March. The ascospores were trapped for six to eight weeks. Most of the ascospores were captured during the photoperiod (90,3% to 98,0% from 6:00 a.m. to 18:00 p.m.) and after the rain. In long periods with absent rain (>1 month) and occurring strong night dew, some ascospores (2,4% to 6,0% of the total annual) were trapped in the night period or in following dawn.

The West of Portugal's climate influenced the pathosystem: cold and rainy winters (Type 1) advanced the beginning of annual growth, while mild and dry winters (Type 4) delayed it. In mild and rainy winters (Type 2) the *V. pirina* development anticipated that of the pear tree; in cold and dry winters (Type 3) the pear tree was ahead in relation to the growth of the fungus. This lapse of time could be up to 15 days.

At 20°C, 8h was the minimum wetness period for infection of seedlings or on one-year old pear trees by conidia. At 20°C, the latent period in laboratorial conditions ranged from 9 to 11 days. It was possible to obtain the significant relationship $Incidência_{folhas} = \text{Log}N(2,33; 0,28)$, between the wetness period and the incidence of *V. pirina* on the one-year old pear tree leaves. After 24h of wetness, the incidence of *V. pirina* on the leaves reached the maximum. On average, the area of scab lesions ranged from 0,10cm² to 0,22cm², when the wetness period changed from 8h to 24h. Apparently, the ontogenic resistance was more effective in the short wetness periods.

The *V. pirina* conidia were viable after three wetness periods of 24h, splitted by two dry periods of 30min. In case of damage or apparent growth incapacity of the spore germ tube tip, new germ tubes were formed.

The natural *V. pirina* epidemics infected 65,1% to 100% of the fruits during the five-years study. In the end of the season, the number of lesions per infected fruit ranged from 15,0 to 44,6. The incidence of *V. pirina* on leaves reached the maximum of 29,7% in the seedlings, 87,0% in the one-year pear trees and 89,2% in the unsprayed orchard, in 1998. The maximum severity changed from 2,7% on the leaves of the unsprayed orchard compared to 11,5% on the one-year pear trees (24h of wetness period). The maximum number of lesions per leaf varied from 5,8 in natural conditions to 9,3 in the inoculation rehearsals (24h wetness).

Several incidence–severity relationships, $Incidência=1-e^{-ax}$, based on corymbs, fruits or leaves were obtained. The parameter a ranged from 0,046/ lesion to 0,140/ lesion in the fruits and from 0,162/ lesion to 0,384/ lesion on the leaves, and x was the number of lesions on the fruits or leaves.

A model for pear scab infection (MIP) was developed. It simulates the epidemic curves and the assessment of the disease incidence on the fruits. The constant parameters of the model depend on the fungus optimal temperature ($T_o=21^{\circ}C$), the median wetness period ($\tilde{w}_{T_o}=15h$), the thermal compensation coefficient ($k=0,23/^{\circ}C$) and the initial inoculum ($I_o=1\%$ infected fruits). From eight (1996) to 21 (1998 and 2000) infection periods were recorded. MIP allowed calculating the months of larger infection probability: In April and May the infection probability was high, on average in March and July and low in June and August. The infection periods occurred in a clumped pattern in 75,5% of the events. In the orchards where MIP was used for the risk assessment and decision-making, the scab incidence ranged from 0,2% to 5,1% of fruits at harvest. The number of sprays ranged from three in 1996 to 11 in 2000 (on average 6 sprays). An expert system (JusClem) that collects and processes data from weather stations and disseminates written mobile phones messages to the growers was developed. This expert system allowed reductions in the number of sprays up to 80% in relation to the traditional system.

Keywords: *Venturia pirina*, modelling, expert systems, warning systems

Agradecimentos

No Mundo, existem problemas suficientes para várias gerações humanas. A arte de constituir equipas permite a solução de alguns. A arte de não as constituir resulta da desilusão de outros...

O tempo presente serviu simultaneamente o trabalho e a reflexão. As reflexões ocupam este espaço e o trabalho as páginas seguintes.

É meu desejo agradecer ao Prof. António Mexia, como orientador, os novos rumos explorados, a cumplicidade e as linhas seguidas. Durante as suas aulas de Mestrado em Protecção Integrada, interessantes e participativas, descobri o caminho compartilhado.

Com o Prof. Pedro Amaro aprendi a trabalhar em equipa, o respeito mútuo, a acreditar, a propor objectivos e escolher vias de concretização. O seu espírito optimista e experiência resultam sempre, mesmo em escalada de alta montanha e ar rarefeito.

Ao Prof. Silva Fernandes, agradeço a coordenação exemplar num dos projectos de investigação realizados e a amizade desenvolvida ao longo do tempo.

Ao Prof. St. Aubyn agradeço a relevante orientação na homogeneização do formalismo matemático e a frutuosa troca de impressões.

Finalmente agradeço ao Mestre Josué Clemente e à Engenheira Agrónoma Cláudia Neto, as fotografias, sugestões, ajuda na realização de algumas tarefas e o trabalho de revisão do rascunho deste manuscrito. Também a boa disposição e a motivação. Eles concretizam, sem dúvida, a equipa muitas vezes sonhada.

Também não esquecerei o auxílio prestado pelo Prof. Arlindo Lima na realização de algumas das fotografias de microscópio. Ao Luís Gomes e à Quinta de Santo António agradeço as árvores destinadas aos ensaios e toda a colaboração prestada. Ao meu pai e irmã reconheço o apoio nos momentos mais difíceis e a lembrança da minha saudosa mãe.

Às minhas filhas Ana e Susana agradeço as travessuras de criança e as inúmeras tentativas de organização da secretária para poderem brincar com o computador.

Índice do conteúdo

PANORÂMICA	1
CAPÍTULO 1 O CASO EM ESTUDO	3
Natureza do problema: a doença causada por <i>V. pirina</i>	3
Origem e distribuição geográfica do pedrado da pereira	3
Descrição geral	5
Sintomas	7
Aspectos biológicos do fungo <i>V. pirina</i>	14
Formas de hibernação	18
Factores que influenciam a fase sexual	23
Padrão sazonal da maturação e emissão dos ascósporos	33
Dispersão e deposição dos esporos	39
Germinação e viabilidade dos esporos	42
Factores abióticos e bióticos com influência na infecção de folhas e frutos	44
Factores abióticos e bióticos com influência no período latente	47
Aspectos de protecção em ecossistemas agrários	49
Proposta de estudo	63
Descrição dos objectivos	64
CAPÍTULO 2 PRINCÍPIOS CONCEPTUAIS	69
Filosofia do problema <i>V. pirina</i>	69
Evolução da protecção de doenças das plantas nos ecossistemas	69
Paradoxo do Mundo no final do século XX	71
Simulação de períodos de infecção e epidemias de <i>V. pirina</i>	71

Conjuntura económica actual do pedrado da pereira	81
 CAPÍTULO 3 MATERIAL E MÉTODOS	 83
Análise climática	83
Análise estatística e simulação matemática	84
Aspectos de epidemiologia do teleomorfo de <i>V. pirina</i>	84
Evolução das pseudotecas e da maturação dos ascos e ascósporos	84
Método de previsão do grau de maturação dos ascos e ascósporos	86
Dinâmica dos ascósporos na atmosfera	87
Importância dos ascósporos nas infecções primárias	90
Aspectos de natureza abiótica e biótica na evolução do patossistema	91
Evolução fenológica do hospedeiro	91
Estudo laboratorial da infecção por conídios	91
Validação do modelo de infecção do pedrado (MIP)	99
Evolução das epidemias de <i>V. pirina</i> no ecossistema agrário do Oeste	100
Aspectos de protecção de <i>V. pirina</i>	101
Sequências de protecção química	101
 CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	 102
Análise climática	102
Aspectos de epidemiologia do teleomorfo de <i>V. pirina</i>	106
Evolução das pseudotecas e da maturação dos ascos e ascósporos	106
Método de previsão do grau de maturação dos ascos e ascósporos	119
Dinâmica dos ascósporos na atmosfera	127
Importância dos ascósporos nas infecções primárias	139
Aspectos de natureza abiótica e biótica na evolução do patossistema	143

Evolução fenológica do hospedeiro	143
Estudo laboratorial da infecção por conídios	146
Validação do modelo de infecção do pedrado (MIP)	155
Evolução das epidemias de <i>V. pirina</i> no ecossistema agrário do Oeste	163
Aspectos de protecção de <i>V. pirina</i>	178
CAPÍTULO 5 CONCLUSÕES	182
Análise climática	182
Aspectos de epidemiologia do teleomorfo de <i>V. pirina</i>	182
Aspectos de natureza abiótica e biótica na evolução do patossistema	186
Aspectos de protecção de <i>V. pirina</i>	189
CAPÍTULO 6 NOVAS QUESTÕES EM ABERTO	193
GLOSSÁRIO	194
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	196
ANEXOS	211
Anexo 1 – Análise de variância dos modelos desenvolvidos	211
Anexo 2 – Rotina de cálculo dos graus dia acima de 0°C e 10°C	215
Anexo 3 – Rotina do MIP (Modelo de infecção do pedrado)	216
Anexo 4 – Datas dos períodos de infecção de <i>Venturia pirina</i> previstos pelo MIP (Modelo de infecção do pedrado)	218
Anexo 5 – Diagrama de severidade de <i>Venturia pirina</i>	219

Índice de figuras

Fig. 1	Mapa da distribuição do pedrado (<i>Venturia pirina</i>) da pereira (<i>Pyrus communis</i>) no mundo, segundo os países indicados pelo CMI (7).....	4
Fig. 2	‘Natureza morta com queijo’ do pintor Floris van Dijck, princípio do século XVII. Na fruteira da esquerda foram representadas maçãs, uma delas apresentando três lesões activas de pedrado. Na parte superior da pêra representada no lado direito existe uma lesão necrótica de pedrado.	5
Fig. 3	Ciclo de vida do pedrado da pereira causado pelo fungo <i>Venturia pirina</i> na região do Oeste de Portugal (158).	6
Fig. 4	Sintomas de pedrado da pereira causado por <i>Venturia pirina</i> em folhas. Infecção primária na página superior A e inferior B da folha. Infecções secundárias na página superior C e inferior D da folha.	8
Fig. 5	Sintomas de origem diversa, observados nas folhas da pereira no Outono. Lesões de <i>Venturia pirina</i> discretas na página inferior numa folha caída sobre o solo A . Infecções difusas de <i>V. pirina</i> na página inferior numa folha em Outubro, no local assinalado, observadas à lupa binocular B (10×). Necrose provocada na página inferior da folha pela acção alimentar duma psila (<i>Cacopsilla pyri</i>) C (20×). Lesão causada na página inferior da folha por infecção de fungo patogénico não identificado D (20×).	10
Fig. 6	Sintomas de pedrado da pereira causado por <i>Venturia pirina</i> nas flores. Lesões sobre o ovário das flores à queda das pétalas (estado fenológico H) A . Lesão sobre o cálice numa flor ao vingamento (estado fenológico I) B	11
Fig. 7	Sintomas de pedrado da pereira causado por <i>Venturia pirina</i> nos frutos. Lesão primária sobre a pêra resultante do primeiro ciclo de infecção A . Lesão primária de pedrado ocupando 30% a 50% do fruto B . Lesões secundárias sobre a epiderme do fruto em desenvolvimento C . Lesão primária e lesões secundárias sobre a epiderme do fruto próximo à colheita D (cortesia de Josué Clemente). Infecções secundárias que ocorreram perto da maturação dos frutos e cujas lesões se manifestaram durante a conservação E (cortesia de Cláudia Neto).	12
Fig. 8	Sintomas de pedrado da pereira causados por <i>Venturia pirina</i> na epiderme dum lançamento anual. Na Primavera A e no Outono B	13
Fig. 9	Árvore filogenética das diferentes espécies dentro do género <i>Venturia</i> , obtida por comparação entre o DNA ribossomal (137).	15
Fig. 10	Evolução semanal da queda das folhas num pomar de pereira (cv. Rocha) localizado no Painho (Cadaval) durante o Outono de 1993 ($p < 0,001$) (158).	25
Fig. 11	Período mínimo de humectação observado a cada temperatura para expressão do pedrado da pereira, após inoculação laboratorial por ascósporos de <i>Venturia pirina</i> A e conídios de <i>V. pirina</i> ou <i>V. nashicola</i> B (148, 157, 168, 205).	44
Fig. 12	Fases do ciclo de infecção do fungo <i>Venturia pirina</i> apresentando os diferentes períodos de eficácia. Os fungicidas de acção preventiva actuam desde o início da germinação até à infecção. Os fungicidas de acção curativa actuam no interior dos tecidos vegetais após a infecção e antes do aparecimento dos sintomas. Os fungicidas com características anti-esporulantes não impedem a formação de lesões contudo limitam a formação de micélio ou de conídios sobre as lesões, se aplicados antes ou depois do aparecimento das lesões (156, 158).	52
Fig. 13	Os fungicidas de acção exclusivamente preventiva actuam acima da cutícula dos tecidos vegetais impedindo a germinação ou a penetração dos esporos A . Actuam durante os períodos de humectação pelas moléculas absorvidas no interior dos esporos B . Os fungicidas de acção curativa são absorvidos através da cutícula dos	

	tecidos vegetais actuando no espaço subcuticular sobre as hifas primárias e secundárias de <i>Venturia pirina</i> , após a infecção, bloqueando o avanço da colonização do fungo C (161).	52
Fig. 14	Período mínimo de acção de diferentes substâncias activas fungicidas após o momento da aplicação, nas doses de aplicação recomendadas pelos fabricantes e na ausência de arrastamento do depósito fungicida inicial (155, 158).	53
Fig. 15	Estratégia preventiva de protecção a <i>Venturia pirina</i> . Baseia-se na aplicação de fungicidas de acção preventiva antes ou durante os períodos de infecção. Nos períodos de maior risco à doença efectuam-se tratamentos em cobertura total baseados no período da acção preventiva do fungicida (actualmente de sete a 10 dias) (164).	56
Fig. 16	Estratégia curativa de protecção a <i>Venturia pirina</i> . Baseia-se na aplicação de fungicidas de acção curativa, após a previsão dos períodos de infecção. Os tratamentos são realizados no intervalo inferior ao período de acção retroactiva do fungicida curativo (actualmente inferior a cinco dias). Depende da previsão dos períodos de infecção (164).	57
Fig. 17	Estratégia mista de protecção a <i>Venturia pirina</i> . Baseia-se na aplicação de fungicidas de acção preventiva e curativa, após a previsão dos períodos de infecção. Os tratamentos são realizados no intervalo inferior ao período de acção retroactiva do fungicida curativo (actualmente inferior a 5 dias). Depende da previsão dos períodos de infecção. Deve ser utilizada em períodos de elevado risco de pedrado pois prolonga a cobertura do tratamento curativo, permitindo deste modo evitar futuros períodos de infecção (164).	58
Fig. 18	Estratégia inteligente de protecção a <i>Venturia pirina</i> . Baseia-se na estimativa do risco efectuada no pomar à queda das folhas, na presença ou ausência de esporos primários, na incidência de infecções primárias no pomar, na previsão dos períodos de infecção e nas propriedades químicas dos fungicidas (164).	63
Fig. 19	Níveis de integração entre os vários sistemas de protecção de doenças das plantas e as ciências associadas.	70
Fig. 20	Relações entre o período de humectação (h) e a temperatura (°C), para diferentes intensidades de resposta (%) calculadas com base em períodos mínimos de humectação (w_{T_0}) de 8h, 10h, 12h, 18h e 28h, determinadas pelo modelo de infecção (Função 4). Temperatura óptima (T_0) de 21°C A , B , C e D ou 15°C E e F . Coeficiente de compensação térmica (k) de 0,1/°C A , 0,2/°C B , 0,3/°C C e E , 0,4/°C D e -0,3/°C F	74
Fig. 21	Relações entre a intensidade de resposta (%) (calculadas com base em períodos de humectação w_{T_0} de 5h, 10h, 12h e 18h) e a temperatura (°C), determinadas pelo modelo de infecção (Função 4, resolvida em relação a $w_{T_0}=W_{T_0}(T,w(T),T_0,k,a)$). Temperatura óptima (T_0) de 21°C A , B , C e D ou 15°C E e F . Coeficiente de compensação térmica (k) de 0,1/°C A , 0,2/°C B , 0,3/°C C e E , 0,4/°C D e -0,3/°C F . 75	
Fig. 22	Relações entre a intensidade de resposta (%), temperatura (°C) e período de humectação (h), determinada pelo modelo de infecção (Função 6). Temperatura óptima (T_0) de 21°C A , B , C e D ou 15°C E e F . Coeficiente de compensação térmica (k) de 0,1/°C A , 0,2/°C B , 0,3/°C C e E , 0,4/°C D e -0,3/°C F . Período mediano de humectação (\tilde{w}_{T_0}) de 15h. (Ambiente constante).	77
Fig. 23	Relações entre a intensidade de resposta (%) e o período de humectação (h), para diferentes valores de período mediano de humectação (\tilde{w}_{T_0}) (5h, 10h e 18h, à temperatura óptima), determinada pelo modelo de infecção (Função 6). Temperatura óptima (T_0) de 21°C A , B , C e D ou 15°C E e F . Coeficiente de compensação térmica (k) de 0,1/°C A 0,2/°C B , 0,3/°C C e E , 0,4/°C D e -0,3/°C F . (Ambiente constante).	78

Fig. 24	Evolução da curva epidémica de <i>Venturia pirina</i> ao longo do tempo segundo o modelo de Gompertz, para taxas de infecção constantes de 0,05/dia, 0,1/dia e 0,2/dia e intensidade inicial da doença (I_0) de 1% (Função 8) A . Taxa de infecção $r(w) = I'(w)$, baseada no coeficiente de compensação térmica (k) de 0,2/°C, temperatura óptima (T_0) de 21°C e período mediano de humectação (\tilde{w}_{T_0}) de 15h B . (Ambiente constante).....	80
Fig. 25	Estrutura dos custos variáveis (%), dos diferentes componentes do sistema actual de produção de pêra no ecossistema agrícola do Oeste.....	81
Fig. 26	Estação meteorológica equipada com capta-esporos volumétrico, udómetro, sensor de período de humectação e sensor de temperatura do ar.....	83
Fig. 27	Tampas das placas de Petri exibindo os discos de folha utilizados nos testes de emissão dos ascósporos de <i>Venturia pirina</i> pelo método das placas de Petri, referentes à modalidade tratada e não tratada.....	86
Fig. 28	Capta-esporos volumétrico da marca Burkard utilizado na avaliação dos ascósporos presentes na atmosfera durante a época das infecções primárias, em 1997 e 1998.....	88
Fig. 29	Vista frontal A e lateral B da base de fixação do tambor do capta-esporos destinada a facilitar a tarefa da montagem e revestimento das fitas de Melinex com silicone. As extremidades da fita foram justapostas no local assinalado.....	88
Fig. 30	Base acrílica destinada a dividir as fitas de Melinex em fracções diárias e diversos instrumentos utilizados na preparação, corte e montagem das lâminas de microscópio.....	89
Fig. 31	Fita de capta-esporos correspondente à secção diária, montada em preparação definitiva, etiquetada com a direcção do movimento, dia e período horário da amostragem.....	90
Fig. 32	Escala fenológica de Fleckinger utilizada na contagem dos corimbos da pereira presentes em cada classe fenológica.....	91
Fig. 33	Tabuleiros e alvéolos utilizados no crescimento de jovens plântulas de pereira obtidas por via seminal a partir de sementes de pereira (cv. Rocha) colhidas de frutos em pleno estado de maturação.....	92
Fig. 34	Pereiras envasadas (cv. Rocha) em vasos de dois litros de capacidade aguardando a oportunidade de colocação em condições óptimas de crescimento para posterior inoculação.....	93
Fig. 35	Tabuleiro com 36 plântulas de pereira e respectiva tampa equipada com dispositivos para regulação da humidade relativa no seu interior.....	94
Fig. 36	Pereiras (cv. Rocha) envasadas e em condições ideais para a inoculação com conídios de <i>Venturia pirina</i> . Grupo de duas lâminas de microscópio colocado nos respectivos suportes destinado a avaliar o número de esporos aplicado na superfície foliar.....	95
Fig. 37	Interior da estufa utilizada nos ensaios de infecção por conídios de <i>Venturia pirina</i> . No tabuleiro superior podem ser observados os vasos envolvidos com sacos plásticos contendo pereiras (cv. Rocha) durante os períodos artificiais de humectação. No lado direito do tabuleiro superior é visível uma das placas de Petri contendo duas lâminas de microscópio para o cálculo da taxa de germinação e viabilidade dos conídios, e o módulo para registo da temperatura e humidade relativa.....	96
Fig. 38	Esquematização do protocolo utilizado no estudo da germinação e viabilidade de conídios de <i>Venturia pirina</i> sujeitos a períodos sucessivos de 24 horas de humectação intervalados por períodos secos de 30 minutos.....	96
Fig. 39	Diferentes ecrãs do programa ImageTool mostrando o ficheiro digital das folhas infectadas por <i>Venturia pirina</i> em processo de análise A . Os passos seguidos foram: Aceder ao módulo de identificação de objectos B , definir as características de cor dos objectos em análise C	98

Fig. 40	Resultados da análise efectuada pelo ImageTool. O programa define o número de objectos com as características pretendidas listando-os sequencialmente. De seguida calcula os atributos associados a cada objecto listado.	99
Fig. 41	Temperatura média, mínima e máxima absolutas (°C) e precipitação total (mm) mensais ocorridas na Sobrena (Cadaval) de 1996 a 1999.	103
Fig. 42	Temperatura média (°C) e precipitação total (mm) diárias ocorridas na Sobrena (Cadaval) de 1996 a 1999.	104
Fig. 43	Temperatura média, mínima e máxima absolutas (°C) e precipitação total (mm) mensais ocorridas no Painho (Cadaval) em 2000.	105
Fig. 44	Temperatura média (°C) e precipitação total (mm) diárias ocorridas no Painho (Cadaval) em 2000.	105
Fig. 45	Folhas exibindo sintomas de pedrado após a queda da folha, ao início da fase sexual, sobre a página superior da folha A e sobre a página inferior da folha B . Evolução da fase sexual em condições experimentais, no interior de bolsas de rede sobre o estrado de rede C , ou em condições naturais, cerca de um mês após a queda das folhas, sobre o solo D . Os locais assinalados indicam as lesões discretas de pedrado.	106
Fig. 46	Pseudotecas de <i>Venturia pirina</i> imersas no interior de folhas de pereira (cv. Rocha) presentes na manta morta do pomar não tratado. Observação à lupa binocular (25×) A e (90×) B . Observação ao microscópio no início da sua formação em Janeiro (400×) C ou no início da maturação em fim de Fevereiro (400×) D	107
Fig. 47	Avaliação do número médio de ascos de <i>Venturia pirina</i> no interior das pseudotecas pelo método diferencial de Gadoury e MacHardy (49). O número máximo de ascos por pseudoteca variou de 84 em 13 de Abril de 1996 a 206 em 3 de Abril de 1997. Conteúdo médio de 20 pseudotecas esmagadas e contadas semanalmente, recolhidas das folhas na parcela não pulverizada de pereira (cv. Rocha) na Sobrena de 1996 a 1998.	108
Fig. 48	Aspectos morfológicos da evolução dos ascos de <i>Venturia pirina</i> no interior das pseudotecas. Ascos imaturos sem ou com o esboço de ascósporos e pseudoparáfises (400×) A . Asco imaturo com ascósporos em formação (600×) B . Ascos com oito ascósporos maduros (600×) C . Asco maduro no momento da emissão dos ascósporos (600×) D . Ascos vazios imediatamente após a emissão dos ascósporos (400×) E . Conteúdo de pseudoteca mostrando o aspecto dos ascos vazios (400×) F	110
Fig. 49	Aspectos morfológicos de ascos e ascósporos de <i>Venturia pirina</i> no final da época das infecções primárias. Asco no final da época das infecções primárias com três ascósporos remanescentes no seu interior (400×) A . Ascósporo maduro evidenciando turgidez e a dupla membrana lisa (1000×) B . Asco com ascósporos degenerados (600×) C . Ascos vazios degenerados em desintegração (600×) D	111
Fig. 50	Evolução da maturação dos ascósporos de <i>Venturia pirina</i> no interior de pseudotecas esmagadas, recolhidas semanalmente de 1996 a 1998 da manta morta na parcela de pereiras (cv. Rocha) não pulverizada localizada na Sobrena. Distribuição por classes de maturidade do número médio de ascos corrigido observado no interior de vinte pseudotecas esmagadas.	112
Fig. 51	Avaliação da maturação dos ascósporos de <i>Venturia pirina</i> através da percentagem de ascos com ascósporos maduros ou vazios. Conteúdo médio de 20 pseudotecas esmagadas e contadas semanalmente pelo método diferencial de Gadoury e MacHardy (49), recolhidas das folhas na parcela de pereira (cv. Rocha) não pulverizada na Sobrena, de 1996 a 1998.	114
Fig. 52	Modelo para a estimativa da evolução da maturação dos ascósporos de <i>Venturia pirina</i> , assumindo a taxa de maturação proposta no modelo de Spotts e Cervantes (169), para os anos de 1996 a 1998 na Sobrena. As observações basearam-se na média do conteúdo de 20 pseudotecas esmagadas e contadas semanalmente pelo método	

	diferencial de Gadoury e MacHardy (49). O início do integral térmico médio acima de 0°C aconteceu após a observação dos primeiros ascósporos maduros ($p < 0,001$) A ou após 1 de Março ($p < 0,001$) B	115
Fig. 53	Número médio de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> emitidos semanalmente por cm ² de folha durante 1996. Amostra da manta morta efectuada no início de Março na parcela sem tratamentos fungicidas localizada na Sobrena.....	120
Fig. 54	Número médio de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> emitidos semanalmente por cm ² de folha durante 1997. NT – pomar sem tratamentos fungicidas, T – pomar com tratamentos fungicidas. Amostra da manta morta efectuada no início de Março nos dois pomares localizados na Sobrena.....	120
Fig. 55	Evolução da percentagem acumulada de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> emitidos semanalmente por cm ² de folha, ao longo da Primavera de 1997. NT– pomar sem tratamentos fungicidas, T– pomar com tratamentos fungicidas. Amostra da manta morta efectuada no início de Março nos dois pomares localizados na Sobrena.	121
Fig. 56	Evolução da percentagem acumulada de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> emitidos semanalmente ao longo da Primavera de 1996 e 1997 por cm ² de folha amostrada. Amostra da manta morta efectuada no início de Março no pomar sem tratamentos fungicidas, localizado na Sobrena.	122
Fig. 57	Evolução da percentagem acumulada de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> emitidos semanalmente nas placas de Petri por cm ² de folha amostrada e a mesma evolução através da observação do conteúdo das pseudotecas (ascos maduros ou vazios) pelo método do esmagamento ao longo da Primavera de 1996 A e 1997 B . Amostras da manta morta efectuadas na parcela sem tratamentos fungicidas, localizada na Sobrena.....	123
Fig. 58	Modelo de estimativa da emissão de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> , nos anos de 1996 e 1997 na Sobrena pelo método das placas de Petri. Integral térmico diário acima de 0°C calculado após 1 de Março ($p_{96,97} < 0,001$).....	124
Fig. 59	Modelo de estimativa da emissão conjunta de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> , nos anos de 1996 e 1997 na Sobrena pelo método das placas de Petri. O modelo iniciou-se a 1 de Março ($p < 0,001$).....	124
Fig. 60	Evolução do número de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> capturado na fita do capta-esporos volumétrico localizado na proximidade dum pomar durante os anos de 1997 e 1998, na Sobrena.....	127
Fig. 61	Distribuição horária do número total de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> capturado na fita do capta-esporos volumétrico localizado na proximidade dum pomar durante os anos de 1997 e 1998 na Sobrena.....	128
Fig. 62	Eventos com captura significativa (>100 ascósporos/m ³ /h) de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> ocorrida principalmente durante o período diurno e com registo de precipitação por chuva, em 1997 na Sobrena. Os traços horizontais indicam os períodos de chuva.	129
Fig. 63	Eventos com captura significativa (>40 ascósporos/m ³ /h) de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> ocorrida principalmente durante o período diurno e com registo de precipitação por chuva, em 1998 na Sobrena. Os traços horizontais indicam os períodos de chuva.	130
Fig. 64	Eventos com captura significativa (>40 ascósporos/m ³ /h) de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> ocorrida principalmente durante o período diurno e com registo de precipitação por chuva, em 1998 na Sobrena. Os traços horizontais indicam os períodos de chuva.	131
Fig. 65	Eventos com captura significativa (>100 ascósporos/m ³ /h) de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> ocorrida durante o período nocturno, em 1997 na Sobrena. Sem registo de precipitação A . Com registo de 0,2mm de precipitação (orvalho forte) na noite de 22 de Março, mas ausência de chuva B	132

Fig. 66	Evolução da dose relativa de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> capturados do ar pelo capta-esporos volumétrico e intensidade máxima de precipitação ocorrida durante as Primaveras de 1997 e 1998. Durante as noites de 3, 4, 5, 12 e 22 de Março em 1997 e 5, 7, 24 e 27 de Março de 1998 registou-se 0,2 mm de precipitação devido a orvalho forte.	133
Fig. 67	Comparação entre a dose relativa de ascósporos de <i>Venturia pirina</i> capturados no capta-esporos volumétrico e a evolução dos ascósporos emitidos pelo método das placas de Petri (1997) ou dos ascos vazios, observados no interior das pseudotecas após esmagamento, ao longo da Primavera de 1997 A e 1998 B . Amostra da manta morta efectuada na parcela sem tratamentos fungicidas.	134
Fig. 68	Modelo de estimativa da emissão dos ascósporos de <i>Venturia pirina</i> , baseado no número de ascósporos capturado no capta-esporos volumétrico localizado na proximidade dum pomar na Sobrena nos anos de 1997 e 1998. O modelo iniciou-se a 1 de Março ($p < 0,001$).	135
Fig. 69	Comparação entre os diferentes modelos de estimativa da maturação ou emissão dos ascósporos de <i>Venturia pirina</i> : Spotts e Cervantes (1969), 1996, 1997 (placas de Petri), 1997 e Oeste (capta-esporos) ou <i>Venturia inaequalis</i> : Schwabe et al. (143).	136
Fig. 70	Padrão de infecção do fungo <i>Venturia pirina</i> no ecossistema agrário do Oeste durante os primeiros ciclos de infecção primária de 1996 a 2000. Os círculos indicam a primeira data onde foi detectada a infecção secundária.	141
Fig. 71	Evolução do número de corimbo em floração da pereira (cv. Rocha) em 1994, 1996 a 2000.	145
Fig. 72	Evolução do número de folhas infectadas por pedrado em jovens plântulas de pereira submetidas a inoculação por conídios de <i>Venturia pirina</i> e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C ($p < 0,001$).	147
Fig. 73	Evolução do número de folhas infectadas por pedrado em jovens pereiras (cv. Rocha) envasadas, submetidas a inoculação por conídios de <i>Venturia pirina</i> e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C. Resultados combinados de duas repetições.	148
Fig. 74	Evolução da percentagem média da folha infectada por pedrado em jovens pereiras (cv. Rocha) envasadas, submetidas a inoculação por conídios de <i>Venturia pirina</i> e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C. Os resultados foram obtidos através do ImageTool após digitalização. Resultados combinados de duas repetições.	148
Fig. 75	Evolução do número médio de lesões de pedrado por folha infectada em jovens pereiras (cv. Rocha) envasadas, submetidas a inoculação por conídios de <i>Venturia pirina</i> e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C. Resultados combinados de duas repetições.	149
Fig. 76	Evolução da área média por lesão de pedrado em jovens pereiras (cv. Rocha) envasadas, submetidas a inoculação por conídios de <i>Venturia pirina</i> e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C. Os resultados foram obtidos através do ImageTool após digitalização. Resultados combinados de duas repetições.	150
Fig. 77	Evolução da relação incidência– severidade de pedrado nas folhas em jovens pereiras (cv. Rocha) envasadas, submetidas a inoculação por conídios de <i>Venturia pirina</i> e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C ($p < 0,05$). Resultados combinados de duas repetições.	150
Fig. 78	Conídios de <i>Venturia pirina</i> . Conídio não germinado A , formação de vacúolos B (1000×). Conídio exibindo o tubo germinativo sem <i>apressorium</i> C e com <i>apressorium</i> D , ao fim de 24h de humectação (1000×). Conídios após dois períodos de humectação de 24h, separados por um período seco de 30 minutos E , F . Formação do novo tubo	

	germinativo originado na parede do conídio E ou na célula adjacente à célula terminal F (1000×).	151
Fig. 79	Ajustamento do modelo bidimensional de infecção de <i>Venturia pirina</i> (Função 4) aos dados, relacionando o período mínimo de humectação com a temperatura para a expressão da doença após a inoculação laboratorial por ascósporos A e conídios B ($p_{A,B} < 0,001$). Parâmetros da relação obtida: Ascósporos, $w_{T_0}=8,4h$, $k=0,219/^{\circ}C$, $T_0=21,8^{\circ}C$ A . Conídios, $w_{T_0}=9,5h$, $k=0,219/^{\circ}C$, $T_0=21,7^{\circ}C$ B . (150, 168, 201, 205).	156
Fig. 80	Incidência real e simulada pelo modelo de infecção de <i>Venturia pirina</i> (MIP) nos frutos durante o ano de 1996 A . Períodos de infecção determinados pelo MIP (8 períodos ($p > 0,01$)) em 1996 B	157
Fig. 81	Incidência real e simulada pelo modelo de infecção de <i>Venturia pirina</i> (MIP) nos frutos durante 1997 A . Períodos de infecção determinados pelo MIP (20 períodos, $p > 0,01$) em 1997 B	158
Fig. 82	Incidência real nas folhas e simulada pelo modelo de infecção de <i>Venturia pirina</i> (MIP) nos frutos durante 1998 A . Períodos de infecção determinados pelo MIP (21 períodos, $p > 0,01$) em 1998 (B). A linha tracejada une a data da primeira observação de infecções primárias nas folhas (13 de Abril) à data da primeira estimativa nas folhas (1 de Maio). O valor da incidência a 13 de Abril não foi registado.	159
Fig. 83	Incidência real e simulada pelo modelo de infecção de <i>Venturia pirina</i> (MIP) nos frutos durante 1999 A . Períodos de infecção determinados pelo MIP (16 períodos, $p > 0,01$) em 1999 B	160
Fig. 84	Incidência real e simulada pelo modelo de infecção de <i>Venturia pirina</i> (MIP) nos frutos durante 2000 A . Períodos de infecção determinados pelo MIP (21 períodos, $p > 0,01$) em 2000 B	161
Fig. 85	Incidência e severidade de <i>Venturia pirina</i> nos frutos de pereira (cv. Rocha) em 1996, 1997, 1999 e 2000. Períodos de infecção ocorridos durante 1996, 1997, 1999 e 2000 e intervalos de possibilidade de protecção eficaz com fungicidas curativos.	164
Fig. 86	Incidência e severidade de <i>Venturia pirina</i> nas folhas de pereira (cv. Rocha) em 1998. Períodos de infecção ocorridos durante 1998 e intervalos de possibilidade de protecção eficaz com fungicidas curativos.	165
Fig. 87	Evolução da incidência e da severidade (expressa pela relação entre a área infectada e não infectada da folha, medida pelo ImageTool por digitalização) de <i>Venturia pirina</i> nas folhas ao longo da Primavera de 1998, por amostragem aleatória semanal de 100 folhas.	165
Fig. 88	Evolução do número médio de lesões por folha infectada e da área média das lesões de <i>Venturia pirina</i> medidas pelo ImageTool digitalizando a folha, ao longo da Primavera de 1998, por amostragem aleatória semanal de 100 folhas.	165
Fig. 89	Relações entre a incidência de <i>Venturia pirina</i> nos corimbos da pereira (cv. Rocha) e a severidade da doença expressa pelo número de lesões observadas em cada flor ou fruto durante 1996, 1997, 1999 e 2000.	167
Fig. 90	Relações entre a incidência de <i>Venturia pirina</i> nos frutos da pereira (cv. Rocha) e a severidade da doença expressa pelo número de lesões observadas em cada flor ou fruto durante 1996, 1997 e 2000 ($p < 0,001$) Em 1999 a relação obtida não foi significativa.	168
Fig. 91	Relação entre a incidência e a severidade (expressa pela relação entre a área infectada e não infectada da folha, medida pelo ImageTool por digitalização) de <i>Venturia pirina</i> nas folhas ao longo da Primavera de 1998, através de amostragem aleatória semanal de 100 folhas.	169
Fig. 92	Relação entre a incidência de <i>Venturia pirina</i> nas folhas da pereira (cv. Rocha) e a severidade da doença expressa pelo número de lesões observadas nas folhas infectadas durante o ano de 1998, ($p < 0,05$).	169

Fig. 93	Relações entre a incidência de <i>Venturia pirina</i> nos corimbos da pereira (cv. Rocha) e a incidência da doença nas flores ou frutos durante 1996, 1997, 1999 e 2000.....	170
Fig. 94	Evolução comparativa das epidemias de <i>Venturia pirina</i> ocorridas nos frutos da pereira (cv. Rocha) em 1994, 1996, 1997, 1999 e 2000.	171
Fig. 95	Modelo para a relação entre a incidência de <i>Venturia pirina</i> nos corimbos da pereira (cv. Rocha) e a severidade da doença expressa pelo número de lesões observadas em cada flor ou fruto durante 1996, 1997, 1999 e 2000 ($p < 0,001$).....	171
Fig. 96	Comparação das diferentes relações obtidas entre a incidência e a severidade de <i>Venturia pirina</i> em folhas ou frutos da pereira (cv. Rocha).....	172
Fig. 97	Relação entre a incidência de <i>Venturia pirina</i> nos corimbos e a incidência da doença nas flores ou frutos da pereira (cv. Rocha) para o conjunto dos anos (1996, 1997, 1999 e 2000).	173
Fig. 98	Sintomas da infecção de <i>Venturia pirina</i> em folhas da pereira (<i>Pyrus communis</i>) ao início da queda das folhas. Conidióforos na página inferior da folha, exibindo as nervuras infectadas a cor castanha– avermelhada (100×) A . Conidióforos adjacentes a micélio no mesófilo da folha (400×) B . Tufos de conidióforos e conídios do fungo estabelecendo ligação a outros grupos sem manifestação de necroses (200×) C . Conídio de <i>V. pirina</i> responsável pela infecção e hifas do fungo na sua imediação (local assinalado) (400×) D	174
Fig. 99	Características principais da relação incidência– severidade do fungo <i>Venturia pirina</i> no ecossistema. A situação A possui os atributos opostos à situação B	177
Fig. 100	Número médio de períodos de infecção (PI) de <i>Venturia pirina</i> ocorridos por quinzena na Sobrena (Cadaval) durante o período de 1996 a 2000. Os períodos de infecção foram determinados de acordo com o modelo de infecção do pedrado (MIP). Probabilidade baixa (< 5%), média (5-10%) e elevada (>10%) dos períodos de infecção totais da estação de 1 de Março a 31 de Agosto.	178
Fig. 101	Estratégias de protecção ao pedrado da pereira efectuadas com fungicidas de acção preventiva e curativa numa parcela de 1,5 ha situada na Sobrena (Cadaval) baseadas na estimativa do risco efectuada pelo modelo de infecção do pedrado (MIP) (à excepção de 1995), na determinação do fim dos esporos primários e da incidência das infecções primárias nos frutos, nos anos de 1995 a 2000.	179
Fig. 102	Representação esquemática das duas hipóteses possíveis de hibernação do fungo <i>Venturia pirina</i> no ecossistema agrícola do Oeste. O fungo ultrapassa o período dormiente do hospedeiro em lesões nos gomos ou nos ramos, na forma de micélio que evolui durante a Primavera produzindo conídios que constituem parte ou a totalidade do inóculo primário A . O fungo hiberna nas folhas que constituem a manta morta dos pomares durante o Inverno, ou em hospedeiros alternativos B . Durante o primeiro ciclo de infecção o padrão das lesões será agregado A ou aleatório B	183
Fig. 103	Representação esquemática da hipótese mais plausível de dispersão do pedrado da pereira no interior dum pomar onde existe um foco epidémico constituído por inóculo primário presente em folhas da manta morta. Na primeira fase o inóculo primário dispersa-se do foco epidémico infectando algumas árvores na proximidade (linhas grossas), na segunda fase as árvores infectadas apresentam unidades infecciosas (lesões) constituídas por unidades de dispersão (conídios), responsáveis pelo aparecimento de novas unidades infecciosas no interior das árvores infectadas ou na sua vizinhança.	184
Fig. 104	Diagrama de tomada de decisão na protecção do pedrado da pereira baseado em factores de natureza abiótica, pressupondo a existência de hospedeiros susceptíveis e a presença no ecossistema agrícola dos esporos de <i>Venturia pirina</i>	189

Fig. 105	Sistema de análise e informação para o pedrado da pereira (<i>Venturia pirina</i>) na região do Oeste. Baseado em estações meteorológicas ligadas em rede por modem ao servidor central, dotado de sistema de recolha automática de informação climática actualizável quatro vezes por hora. O servidor incorpora o sistema pericial de tomada de decisão (JusClem) com capacidade de gerar e enviar mensagens escritas para telefones móveis segundo o padrão climático detectado pelas estações meteorológicas e os dados biológicos introduzidos das observações de campo.	190
Fig. 106	Menus do JusClem evidenciando os diferentes períodos de infecção determinados em 1997 para a Sobrena A . Aspecto gráfico da curva epidémica e do valor da infecção potencial de <i>Venturia pirina</i> nos frutos B	191

Índice de quadros

Quadro 1	Temperatura média do ar (°C) e precipitação média (mm) no período de Dezembro a Janeiro durante a formação das pseudotecas de <i>Venturia pirina</i> . Temperatura média do ar (°C) e precipitação total (mm) ocorrida, em Fevereiro, ao início da formação dos ascos.....	108
Quadro 2	Data do início da maturação dos ascósporos de <i>Venturia pirina</i> (IMA), primeira observação de ascos vazios nas pseudotecas (IAV) e correspondente estado fenológico da pereira (EF). Data da observação de 95% e 100% de ascósporos maduros (M95 e M100) e integral térmico diário (IT), calculado acima de 0°C após o início da maturação dos ascósporos. Data correspondente a 900°C acumulados desde 1 de Março (IT900).	116
Quadro 3	Data de observação do início das lesões primárias e secundárias. Incidência de <i>Venturia pirina</i> observada ao início das lesões primárias ou secundárias em folhas (Fo) e em frutos (Fru).....	140
Quadro 4	Distribuição da frequência dos estados fenológicos da pereira (cv. Rocha) (escala de Fleckinger) em 1994 e 1996 a 2000, na região do Oeste.	144
Quadro 5	Comportamento do patossistema (pereira cv. Rocha– <i>Venturia pirina</i>) resultante do padrão climático observado (HF– horas de frio abaixo de 7,2°C de Novembro–Fevereiro; Precipitação média Dezembro– Janeiro), na região do Oeste.	145
Quadro 6	Períodos de infecção de <i>Venturia pirina</i> observados de 1996 a 2000 na região do Oeste e sua distribuição por classes de incidência potencial nos frutos (%).	156
Quadro 7	Datas de aplicação e substâncias activas fungicidas utilizadas nas estratégias de protecção ao pedrado da pereira <i>Venturia pirina</i> , numa parcela de 1,5 ha situada na Sobrena (Cadaval) baseadas na estimativa do risco efectuada pelo modelo de infecção do pedrado (MIP) de 1995 a 2000 (Fig. 101).....	180

Índice de abreviaturas

$A_{\text{máx}}$	nº máximo anual de ascos/ pseudoteca
A_s	nº semanal de ascos/ pseudoteca
cm	centímetro (10^{-1} m)
Da	densidade de ascos (nº ascos/ pseudoteca)
Dl	densidade de lesões (lesões/ m ² folha)
Dp	densidade de pseudotecas (lesões/ pseudoteca)
Dmm	densidade da manta morta (m ² folha/ m ² de pomar)
EUA	Estados Unidos da América
ha	hectare
HR	humidade relativa (%)
I(t)	intensidade da doença no tempo (%)
I_o	intensidade inicial da doença (%)
kg	quilograma
k	coeficiente de compensação térmica ($^{\circ}\text{C}^{-1}$)
L	litro
ln (a)	logaritmo neperiano de a
LogN ($\mu_{\log}, \sigma_{\log}$)	Distribuição Lognormal de média μ_{\log} e desvio padrão σ_{\log}
m	metro
mL	mililitro
nm	nanómetro (10^{-9} m)
N (μ, σ)	Distribuição Normal de média μ e desvio padrão σ
MIP	modelo de infecção do pedrado
PAD	dose potencial de ascósporos (nº/m ² de pomar)
PI	período de infecção
r	taxa de infecção (dia ⁻¹)
s	segundo
T	temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
t	intervalo de tempo (horas ou dias)
ton	tonelada
W	watt
w	período de humectação (h)
\tilde{w}_{T_o}	período mediano de humectação à temperatura óptima
w_{T_o}	período mínimo de humectação à temperatura óptima
μE	microeinstein (10^{-6} E)
μm	micrómetro (10^{-6} m)
μW	microwatt (10^{-6} W)

Panorâmica

O presente trabalho teve como principal objectivo constituir conhecimento biológico aprofundado sobre o pedrado da pereira (*Venturia pirina* Aderh.) de forma a conseguir previsões reais do seu comportamento num ecossistema agrário específico, a região do Oeste de Portugal. Esse conhecimento foi reunido na forma de um **sistema pericial**¹, cujo corpo comporta os diferentes modelos concebidos e validados, assim como o demais conhecimento obtido.

O leitor será guiado ao longo do primeiro Capítulo, partindo da descrição do caso em estudo, a **doença** do pedrado da pereira, analisada através dos seus principais intervenientes; os fungos, os **hospedeiros**, o papel do ambiente sobre ambos, e por fim a acção do Homem, actor no ecossistema agrário. Face ao conhecimento já existente faz-se uma proposta dos pontos a estudar, de forma a clarificar aspectos dúbios ou preencher lacunas de conhecimento.

O segundo Capítulo começa com a discussão filosófica do problema real representado pela doença do pedrado na sociedade actual e a forma como essa sociedade o entende. A maneira como a doença afecta o alimento pêra. Segue-se o ponto fulcral do trabalho, a dedução matemática dum modelo explicativo para o mecanismo de **infecção** e o conjunto de factores indispensáveis a ser calculado ou avaliado. No fim deste Capítulo apresenta-se o resumo do peso económico actual da doença no ecossistema agrário do Oeste de Portugal, o que permitirá futuras análises económicas para o sistema pericial.

O terceiro Capítulo versa o material e métodos utilizados nas linhas de investigação reunidas em quatro grandes componentes; análise climática, estudo da **epidemiologia** da fase sexual (**teleomorfo**) do fungo, factores ambientais com influência no **patossistema** e aspectos de protecção da doença do pedrado.

¹As definições adoptadas neste trabalho para os termos em negrito são referidas no Glossário.

No quarto Capítulo faz-se a apresentação dos resultados e a discussão pertinente dos mesmos face ao estado anterior do conhecimento.

No quinto Capítulo são focadas as principais conclusões para as componentes principais dos diferentes estudos.

No sexto e último Capítulo, a ênfase final centra-se nas novas questões em aberto, surgidas durante os anos de trabalho, às quais é preciso responder e a que foi impossível encontrar a solução satisfatória. Desta forma procura-se estimular jovens investigadores, ou outros especialmente vocacionados e motivados para esta matéria.

Capítulo 1 O caso em estudo

Natureza do problema: a doença causada por *V. pirina*

O pedrado da pereira, doença causada pelo fungo *Venturia pirina* Aderh. (**anamorfo:** *Fusicladium pyrorum* [Lib.] Fuckel) é das mais importantes doenças da pereira (*Pyrus communis* L.) em todo o Mundo.

Para o agricultor, o maior prejuízo provocado por *V. pirina* reflecte-se na redução da qualidade dos frutos, mas a doença pode afectar a árvore e a produção de várias maneiras. A infecção severa pode impedir o vingamento de frutos; a infecção de flores, pedicelos e jovens frutos durante ou imediatamente após a floração, pode causar a queda de flores e frutos. As peras jovens deformadas por uma simples lesão de pedrado tornam-se incomercializáveis e podem sofrer redução de tamanho ou modificação da forma, que se torna assimétrica ao longo do seu crescimento. Uma infecção severa nas folhas pode causar desfoliação e redução no vigor da árvore. Ao interferir no mecanismo da diferenciação floral e constituição de reservas, a doença pode impedir a formação de gomos com boa diferenciação floral, limitando o potencial produtivo da árvore no próximo ciclo vegetativo.

Origem e distribuição geográfica do pedrado da pereira

O pedrado da pereira possui vasta área de dispersão (Fig. 1), e é problema principalmente grave em regiões temperadas com tempo frio e húmido durante a Primavera. Em algumas regiões semi-áridas pode ocorrer em alguns dos anos observando-se reduzido número de lesões. As regiões onde tal acontece incluem partes da Austrália (7, 126), África do Sul, costa Oeste dos Estados Unidos e Chile (7). O Sul de Portugal apresenta características climáticas similares.

O fungo *V. pirina* teve provavelmente origem na Ásia ou na zona do Cáucaso onde coevoluiu com *Pyrus* silvestres (*Pyrus caucasica* Fed.), antecessores de todas as cultivares de pereira europeia. Khokhryakova (80) fez a revisão da distribuição geográfica dos fungos *Ascomycota* sugerindo a Ásia Oriental como origem da maior

parte dos fungos patogénicos do grupo, caso do *V. pirina* e *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint..

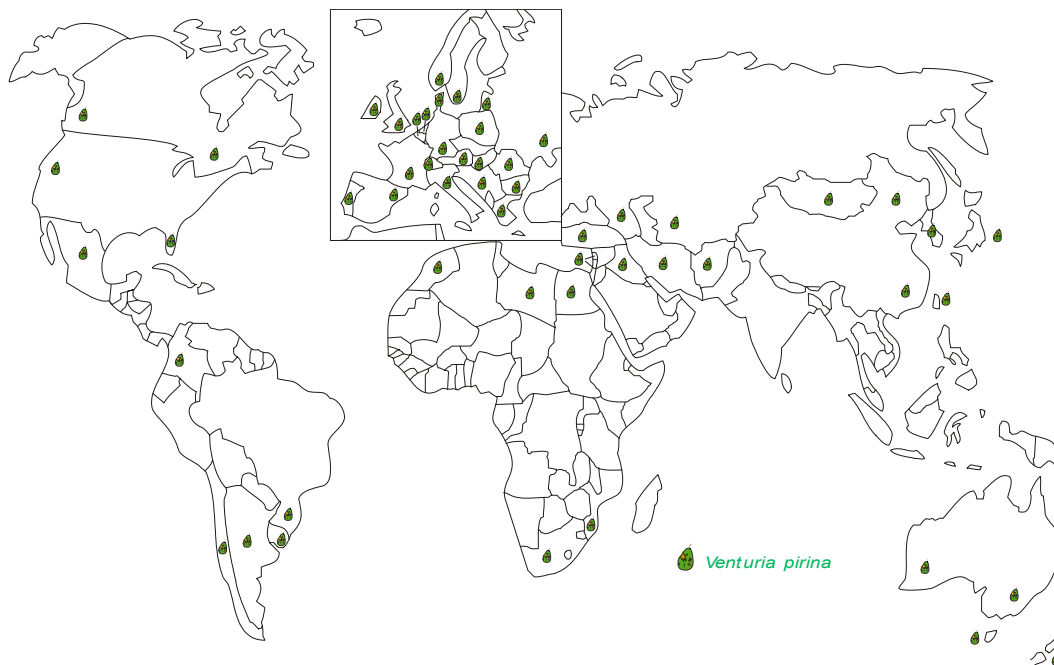


Fig. 1 Mapa da distribuição do pedrado (*Venturia pirina*) da pereira (*Pyrus communis*) no mundo, segundo os países indicados pelo CMI (7).

Nas montanhas do Cáucaso e em redor do Mar Negro e Cáspio existiam extensas florestas de caducifólias: macieiras, pereiras, marmeleiros, ameixeiras, cerejeiras, amendoeiras, avelãs, damasqueiros e pistáchias. Os humanos recolectores comiam estes frutos milhares de anos antes de os cultivarem (214). Há cerca de 6000 anos os caucasianos migraram para o Crescente Fértil e Mediterrâneo Oriental transportando, possivelmente, a pereira consigo, que se estabeleceu em novas localizações. Deste ponto o pedrado terá talvez dispersado por toda a Bacia do Mediterrâneo acompanhando a colonização da pereira. A pereira era a fruteira mais cultivada na antiga China (214). A pereira asiática, *Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nak., era cultivada nas margens do rio Amarelo há pelo menos 3000 anos. No Norte da China a espécie mais cultivada era *Pyrus ussuriensis* Max. e os seus híbridos.

Desconhece-se a primeira alusão ao pedrado da pereira, porém, no século XIX o problema era objecto de investigação, documentado e amplamente conhecido (4, 97).

Um dos registos mais antigos da presença de pedrado em épocas remotas pode ser contemplado num quadro do pintor Floris van Dijck (Rijksmuseum, Amesterdão), ‘Natureza morta com queijo’, pintado entre 1615 e 1620. As naturezas mortas (cerca de 10) foram pintadas com detalhes de extrema precisão, permitindo assim identificar inequivocamente lesões de pedrado presente numa pêra e em maçãs (Fig. 2).



Fig. 2 ‘Natureza morta com queijo’ do pintor Floris van Dijck, princípio do século XVII. Na fruteira da esquerda foram representadas maçãs, uma delas apresentando três lesões activas de pedrado. Na parte superior da pêra representada no lado direito existe uma lesão necrótica de pedrado.

A doença do pedrado na região do Oeste de Portugal

Segundo Amaro (4), Veríssimo de Almeida publicou no Portugal Agrícola o primeiro trabalho sobre o pedrado da pereira (*F. pirinum*) em Portugal, em 1891, salientando a sua importância na cultura da pereira. Na região do Oeste observam-se infecções de *V. pirina* com diferente expressão de acordo com a natureza do ano. Nalguns anos a doença atinge a totalidade dos frutos à colheita (156, 159, 163). A protecção contra as **epidemias** de *V. pirina* baseava-se na protecção química; normalmente, entre 10 e 15 aplicações **fungicidas** eram necessárias nos esquemas tradicionais de protecção (157, 160).

Descrição geral

O fungo *V. pirina* infecta com sucesso o género *Pyrus*. Este género com várias espécies inclui ainda várias variedades e cultivares que exibem diferentes graus de

resistência à doença: pequenas pontuações, lesões cloróticas ou necróticas, com ou sem conídios.

O fungo hiberna fundamentalmente sob a forma de **pseudotecas** imersas nas folhas mortas da pereira (Fig. 3). A fase sexual inicia-se após o período curto de actividade saprofítica que segue a abscisão das folhas. Na Primavera as pseudotecas, quando molhadas pela chuva ou orvalho, emitem **ascósporos** que o vento dispersa. A emissão dos ascósporos é influenciada pela presença da luz do dia. O fungo pode também hibernar na forma de **estroma** em lesões sobre os ramos ou nas escamas de gomos. **Conídios** produzidos assexualmente são dispersos pela copa através das gotas de água. Deste modo, o **inóculo** primário, composto fundamentalmente por ascósporos, poderá incluir conídios se estiverem presentes lesões sobre ramos e escamas de gomos. Do inóculo primário desenvolvem-se lesões que produzem conídios (inóculo secundário) os quais causam infecções em folhas, frutos ou ramos jovens durante os períodos molhados ao longo da estação. As folhas podem também ser infectadas durante o Outono (157).

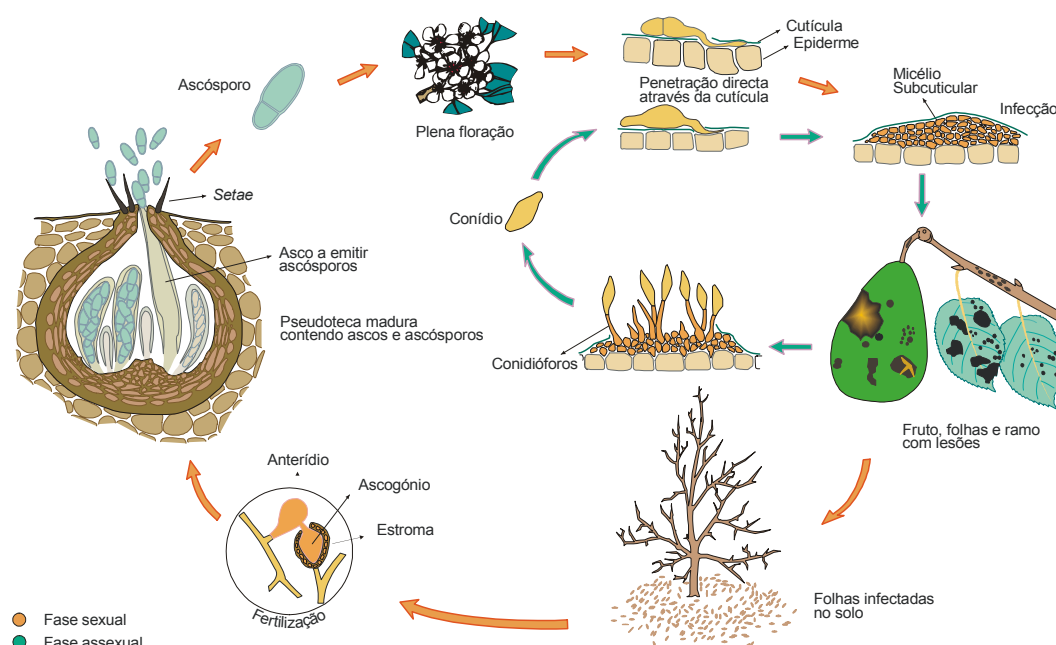


Fig. 3 Ciclo de vida do pedrado da pereira causado pelo fungo *Venturia pirina* na região do Oeste de Portugal (158).

O número de ascósporos produzidos num pomar depende largamente do número de folhas infectadas até à sua queda e da quantidade de folhas mortas que permanece no

solo do pomar durante o Inverno e Primavera. A maturação dos **ascos** ocorre sucessivamente durante várias semanas, com início por altura do intumescimento dos gomos da pereira e terminando pouco depois do vingamento dos frutos. Contudo, é necessária chuva ou orvalho intenso para que a absorção de água pelas pseudotecas permita a emissão de ascósporos. Os ascósporos emitidos dispersam-se na atmosfera, aleatoriamente, através do vento que deposita a maior parte até 200 m da origem.

A germinação do ascósporo e a subsequente penetração na **cutícula** pelo **tubo germinativo** depende da superfície molhada da árvore, enquanto a taxa de desenvolvimento e as fases posteriores de crescimento do fungo ocorrem, fundamentalmente, em função da temperatura.

O crescimento da **hifa** entre a cutícula e a parede da epiderme ao longo do tempo dá origem ao desenvolvimento do estroma seguido da formação de **conidióforos** e por fim de conídios, que irrompem através da cutícula. Quando isto acontece a lesão do pedrado é macroscopicamente bem visível. Os conídios são produzidos nas lesões durante quatro semanas, aproximadamente. A dispersão dos conídios, realizada através das gotas de água, ocorre dentro da canópia da árvore onde foram originados e as condições climáticas para a infecção dos conídios são semelhantes aos requisitos de infecção para os ascósporos (148, 157, 158, 201, 205).

As folhas tornam-se mais resistentes a *V. pirina* com a idade, adquirindo a imunidade quase completa em adultas. Contudo, o aparecimento substancial de novas lesões de pedrado no Outono, sugere que as folhas velhas ou senescentes se tornam mais susceptíveis ao pedrado (157). Os frutos são bastante susceptíveis aumentando a resistência com a perda de pubescência ou da clorofila (158). Novas infecções nos frutos são improváveis de acontecer durante a conservação. Os lançamentos e as escamas dos gomos são susceptíveis até à lenhificação dos tecidos.

Sintomas

O fungo *V. pirina* infecta folhas, pecíolos, flores, sépalas, lançamentos e escamas dos gomos.

Sintomas nas folhas

As lesões de *V. pirina* podem ser isoladas, dispersas, ou tão numerosas que coalescem e preenchem a folha quase totalmente. As lesões desenvolvidas em folhas jovens são bastante grandes atingindo por vezes 10 mm de diâmetro. A infecção da folha adulta resulta numa lesão pequena devido ao aumento de resistência. As folhas ficam geralmente com ligeira deformação no local da lesão. As lesões podem ocorrer na página superior, inferior, nervuras ou nos pecíolos das folhas.

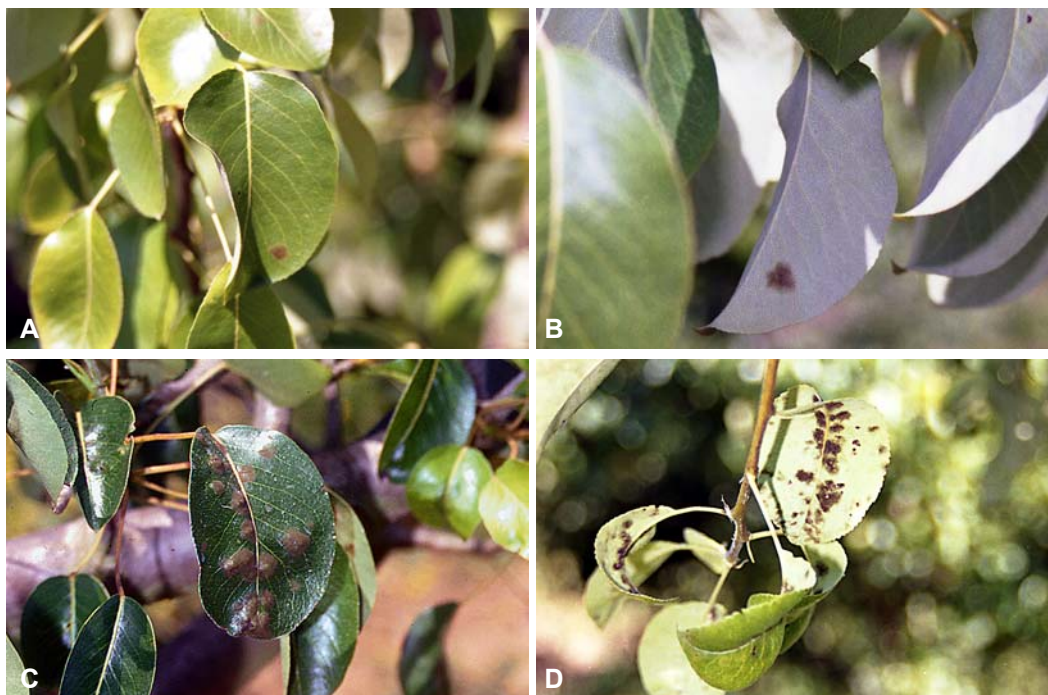


Fig. 4 Sintomas de pedrado da pereira causado por Venturia pirina em folhas. Infecção primária na página superior A e inferior B da folha. Infecções secundárias na página superior C e inferior D da folha.

Na página superior

A lesão de *V. pirina* aparece na página superior das folhas com aspecto verde amarelado, mais claro que os tecidos da folha (Fig. 4A). O desenvolvimento do fungo dentro da folha é visível observando a folha à transparência, imediatamente antes do aparecimento da lesão. As lesões são circulares e o **micélio** cresce radialmente a partir do ponto de penetração. A lesão verde olivácea aumenta de tamanho e torna-se aveludada, com contornos bem definidos (148), devido à intensa produção de conidióforos e conídios que formam uma rede difusa nos tecidos

vegetais. Nas folhas infectadas, as várias lesões, semelhantes a pontos negros (5– 10 mm de diâmetro), podem coalescer formando manchas maiores (Fig. 4C). Com o envelhecimento das lesões o centro inactiva-se, morre, e adquire o tom cinzento ou castanho. Nesta altura a necrose pode expandir-se para a face inferior da folha e o empolamento dos tecidos da lesão pode ser observado, correspondendo uma concavidade à página inferior da folha. As infecções na face adaxial de folhas adultas assemelham-se a picaduras.

Na página inferior

Frequentemente, os sintomas aparecem mais cedo na página inferior das folhas. Embora os sintomas sejam semelhantes em ambas as páginas da folha, é usual que as lesões na página inferior se estendam ao longo da nervura principal ou das nervuras laterais e apareçam difusas, com fronteiras mal definidas (Fig. 4B,D), por oposição às lesões bem delineadas, comuns na página superior. Aparentemente, as folhas adultas apresentam maior susceptibilidade nas nervuras e menor no limbo.

Nos pecíolos

As lesões de *V. pirina* nos pecíolos são semelhantes às observadas no limbo, contudo, caracterizam-se pelo seu aspecto elíptico.

No Outono

No Outono, as lesões de pedrado nas folhas tornam-se difíceis de distinguir pois parte delas não apresenta o seu aspecto característico, sendo fácil confundi-las com outras lesões de origem diversa.

Lesões muito pequenas aparecem por vezes na página superior e inferior das folhas no fim do Verão e princípio do Outono, como resultado de infecções de *V. pirina* ocorridas no fim da Primavera, início do Verão (148) ou talvez no Outono (157). As novas lesões, indistintas macroscopicamente, tomam o aspecto de pequenos pontos circulares cobertos de micélio cinzento a castanho-escuro (Fig. 5B). Por observação microscópica constata-se o crescimento micelial esparso no ponto de origem da infecção, sem aparentemente danificar os tecidos adjacentes. O fungo pode crescer profusamente ao longo da nervura principal ou das laterais mais importantes sem

afectar o restante tecido da folha. As nervuras infectadas observadas microscopicamente podem apresentar-se castanho-avermelhado, revelando a presença de pequenos tufos de *V. pirina* com conidióforos e conídios. As lesões podem também aparecer na margem superior da folha na forma de pequenos pontos vermelhos de margens indefinidas nos quais tufos de conidióforos e conídios são também observados adjacentes às lesões. Em alguns casos, as folhas não apresentam sintomas evidentes, mas pode ser observado o crescimento difuso do fungo, exibindo conidióforos com conídios característicos.



Fig. 5 Sintomas de origem diversa, observados nas folhas da pereira no Outono. Lesões de *Venturia pirina* discretas na página inferior duma folha caída sobre o solo **A**. Infecções difusas de *V. pirina* na página inferior duma folha em Outubro, no local assinalado, observadas à lupa binocular **B** (10×). Necrose provocada na página inferior da folha pela acção alimentar duma psila (*Cacopsilla pyri*) **C** (20×). Lesão causada na página inferior da folha por infecção de fungo patogénico não identificado **D** (20×).

No Outono podem ser confundidos sintomas nas folhas, resultantes da infecção de fungos diversos ou do ataque de psila (*Cacopsilla pyri* Foerster) com lesões de pedrado. As psilas originam manchas negras de contornos indefinidos resultantes da colonização da melada por fungos saprófitas, estas manchas por vezes destacam-se

raspando, exibindo a necrose castanha (Fig. 5C), o que não acontece com as lesões resultantes da infecção dum fungo patogénico (Fig. 5D) (158).

Sintomas nas flores

As sépalas são geralmente os primeiros tecidos susceptíveis expostos quando os gomos evoluem na Primavera. As sépalas são muito importantes pois permanecem aderentes ao fruto até à colheita, podendo ser a fonte de inóculo secundário para o jovem fruto em desenvolvimento.



Fig. 6 *Sintomas de pedrado da pereira causado por Venturia pirina nas flores. Lesões sobre o ovário das flores à queda das pétalas (estado fenológico H) A. Lesão sobre o cálice duma flor ao vingamento (estado fenológico I) B.*

Todas as partes externas do botão floral são susceptíveis à infecção quando o corimbo se torna exposto (estado fenológico D). As pétalas da flor não são infectadas. A lesão no receptáculo ou no pedicelo apresenta-se como um ponto difuso verde-oliváceo (Fig. 6A). As lesões observadas nos pedicelos são alongadas lembrando as ocorridas nos pecíolos das folhas. O jovem fruto pode cair se a lesão rodear os feixes vasculares da base do receptáculo, ou se ocorrer no pedicelo. As infecções de pedrado na flor podem conduzir a quedas acentuadas de frutos ou a infecções severas nos frutos em desenvolvimento (Fig. 6B);

Sintomas nos frutos

As lesões de pedrado nos frutos apresentam cor mais negra e contornos melhor definidos em relação às das folhas. As lesões velhas são castanho-acinzentado, suberificando o centro com a morte do fungo. No entanto, na bordadura da lesão o fungo continua activo e pode originar numerosas infecções secundárias. As lesões de

pedrado podem ocupar grande área do fruto provocando o seu fendilhamento devido a tecidos afectados que não acompanham o crescimento do fruto.

A infecção de frutos jovens resulta em lesões extensas pois a susceptibilidade é máxima nesta fase (Fig. 7A). O fruto infectado sofre deformações, devido ao crescimento diferencial dos tecidos sãos (Fig. 7B). Shabi (148) refere que, no início da estação as primeiras lesões nos frutos surgem no topo do cálice adjacente às pétalas.



Fig. 7 Sintomas de pedrado da pereira causado por *Venturia pirina* nos frutos. Lesão primária sobre a pêra resultante do primeiro ciclo de infecção **A**. Lesão primária de pedrado ocupando 30% a 50% do fruto **B**. Lesões secundárias sobre a epiderme do fruto em desenvolvimento **C**. Lesão primária e lesões secundárias sobre a epiderme do fruto próximo à colheita **D** (cortesia de Josué Clemente). Infecções secundárias que ocorreram perto da maturação dos frutos e cujas lesões se manifestaram durante a conservação **E** (cortesia de Cláudia Neto).

Mais tarde, as lesões podem aparecer em qualquer ponto do fruto (Fig. 7C). Com a idade o fruto aumenta a resistência e surgem pequenas lesões secundárias, normalmente em redor das grandes lesões primárias (Fig. 7D). As lesões desenvolvem-se lentamente quando as infecções ocorrem perto da maturação dos frutos e podem aparecer durante o período de conservação (82, 157, 168), nesta altura apresentando-se semelhantes a pequenos pontos negros, sem o aspecto aveludado (Fig. 7E).

Sintomas nos gomos e lançamentos



Fig. 8 Sintomas de pedrado da pereira causados por Venturia pirina na epiderme dum lançamento anual. Na Primavera A e no Outono B.

Nos lançamentos as lesões tomam o aspecto de pequenas pústulas castanho-claro a negro-oliváceo. Kienholz e Childs (82) observaram infecções nos ramos da pereira durante todo o seu ciclo de crescimento, todavia, as infecções foram mais comuns na Primavera com chuvas frequentes. Durante a Primavera e Verão as infecções nos ramos poderão ser imperceptíveis ou apresentar-se como pequenas picaduras.

Na cultivar Rocha as infecções nos ramos são pouco frequentes. Quando estas ocorrem, só é infectada a madeira dos ramos anuais e aparentemente a dos mais vigorosos do interior da copa (158). As lesões causadas nos ramos herbáceos anuais são esporadicamente observadas nos anos com condições muito favoráveis ao desenvolvimento da doença (Fig. 8A). Forma-se por vezes uma camada suberosa

debaixo das lesões, destacando-as dos ramos durante a estação, permanecendo em seu lugar uma pequena depressão (Fig. 8B).

As lesões nas escamas dos gomos apresentam-se como pequenas pontuações oliváceas, sobreelevadas, semelhantes ao observado na madeira anual. As escamas externas dos gomos são as mais afectadas, podendo permanecer aderentes à árvore algum tempo após o intumescimento dos gomos, acabando por se soltar antes da floração.

Aspectos biológicos do fungo *V. pirina*

Evolução histórica da nomenclatura do fungo

O teleomorfo das formas que ocorrem em pereira e macieira foi pela primeira vez descrito por Cooke em 1866 e o fungo foi apelidado de *Sphaerella inaequalis* (97). Goethe em 1887 foi o primeiro a perceber que as pseudotecas eram as frutificações “perfeitas” do fungo que causava o pedrado na pereira e macieira, mas o seu contributo não recebeu o devido mérito (97). Foi Aderhold quem provou cientificamente em 1896 que o fungo causador de pedrado, cujas lesões podiam ser observadas durante o Verão, produzia igualmente pseudotecas no Inverno. Foi também este autor que associou os fungos causadores do pedrado na pereira, macieira e cerejeira a espécies distintas (97).

Segundo McAlpine (104) o anamorfo foi reconhecido pela primeira vez na Europa em 1819 sobre os frutos, e nas folhas em 1833. O anamorfo foi descrito pela primeira vez em 1832 e classificado como *Helminthosporium pyrorum*; contudo, foi Fuckel quem o incluiu dentro do género *Fusicladium* em 1870 (151).

Uma **raça** distinta do fungo *V. pirina* foi apontada como a causa do pedrado observado em *P. pyrifolia* e *P. ussuriensis* no Japão. Embora esta raça infecte espécies de pereira distintas, possua conídios e ascósporos ligeiramente menores e pseudotecas um pouco maiores que *V. pirina*, alguns micologistas consideravam-na uma variação dentro mesma espécie (148, 151). Tanaka e Yamamoto (185) propuseram uma nova espécie (*Venturia nashicola* Tanaka e Yamamoto) para a raça que infecta diferencialmente *P. pyrifolia* e *P. ussuriensis*. Estudos recentes (69)

clarificaram este ponto demonstrando que as raças do fungo associadas ao *P. communis* e aos *P. pyrifolia* e *P. ussuriensis* são resultado de especiação apresentando-se como espécies distintas, aparentemente, sem possibilidade de realizar cruzamentos férteis.

Filogenia

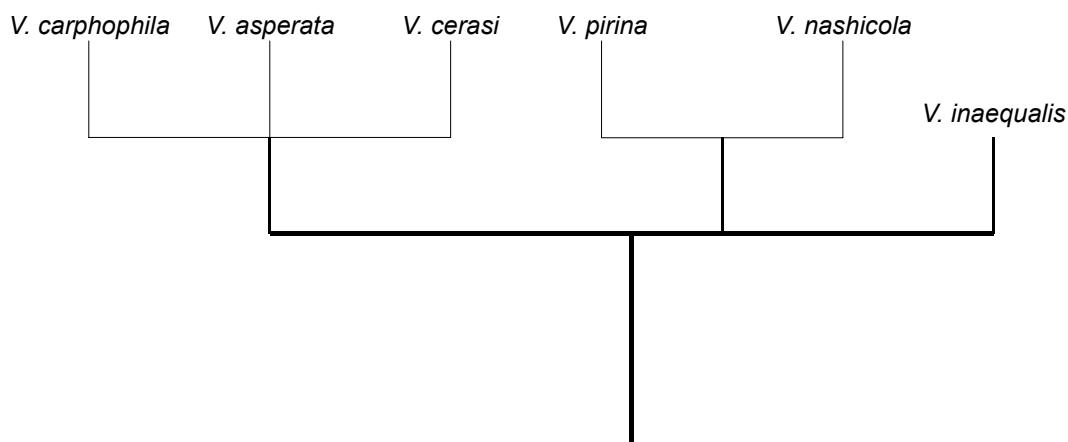


Fig. 9 Árvore filogenética das diferentes espécies dentro do género *Venturia*, obtida por comparação entre o DNA ribossomal (137).

O fungo *V. pirina* relaciona-se filogeneticamente com outras espécies do género *Venturia* segundo a relação indicada na Fig. 9 obtida por comparação entre a sequência genética do DNA ribossomal presente neste grupo de fungos (137).

Patossistema

Os fungos *V. pirina* e *V. nashicola* infectam plantas do género *Pyrus*. As espécies cultivadas dentro deste género (*P. communis*, *P. pyrifolia* e *P. ussuriensis*), com todas as suas cultivares e espécies não cultivadas, caso de numerosas variedades como o *Pyrus silyaca* Boiss., podem também ser infectadas.

De acordo com Sivanesan e Waller (151) o fungo *V. pirina* pode também infectar a nespereira *Eriobotrya japonica* (Thumb.) Lindley. Oliveira (118) refere o anamorfo do pedrado da nespereira designando-o por *Fusicladium eryobotriae* e portanto pertencente a espécie distinta do anamorfo de *V. pirina*.

O fungo tem grande variabilidade, quer morfológica, quer patogénica. Wiltshire (218) publicou em 1915 os primeiros estudos sobre o comportamento patogénico de *V.*

pirina. Em Inglaterra foram encontradas quatro raças identificadas pela patogenicidade diferencial que exibiam perante diferentes cultivares de pereira (172). Em Israel foram identificadas pelos mesmos métodos cinco raças, usando diferentes cultivares de pereira e *P. siryaca* (150). No Japão, a utilização de três hospedeiros distintos, permitiu isolar três raças (1, 2 e 3) de *V. nashicola*. A raça 1 só infecta a cultivar Kosui, a raça 2 infecta apenas a cultivar Mamenashi¹² e a raça 3 infecta simultaneamente as duas cultivares anteriores, mas não a cultivar Kinchaku (70).

Teleomorfo, estado perfeito ou fase sexual

Os organismos que causam o pedrado da pereira são os fungos *Venturia pirina* Aderh. ou *Venturia nashicola* Tanaka e Yamamoto.

São fungos superiores do filo *Ascomycota*, classe *Loculoascomycetes* da ordem *Pleosporales* e da família *Venturiaceae* (2, 3). A classe *Loculoascomycetes* caracteriza os fungos que apresentam **ascos bitunicados** e simultaneamente aqueles cujo **ascocarpo** é um **ascoestroma**. Na ordem *Pleosporales* o ascocarpo é piriforme contendo ascos cilíndricos e **pseudoparáfises** permanentes. A característica diferenciadora da família *Venturiaceae* é possuir ascósporos uniseptados, verdes, amarelados ou castanho-oliváceo. O género *Venturia* distingue-se pela ausência de micélio superficial, ascoestromas septados ou ligados por hifas e pseudotecas que se mantêm imersas ou se tornam irrompentes (97).

V. pirina e *V. nashicola* são **fungos heterotáticos**. Hifas miceliais com características sexuais compatíveis, provenientes de lesões distintas (esporos distintos), são as únicas capazes de iniciar a fase sexual, as lesões são auto– incompatíveis (69, 89, 185). Cada lesão distinta é hermafrodita originando hifas nas extremidades das quais existem **anterídio** ou **ascogónio** (89).

Como se originam as pseudotecas?

O início do desenvolvimento das pseudotecas tem lugar na extremidade de uma hifa aparentemente indistinta das hifas vegetativas. A hifa desenvolve-se helicoidalmente, alargando para formar o ascogónio ladeado pelo início da parede da pseudoteca, o qual produz um **tricogónio**. Na extremidade de outra hifa diferencia-se o anterídio

multinucleado. Os dois órgãos entram em contacto e forma-se um poro através das paredes das hifas. O núcleo passa através do tricogínio para o ascogónio, onde emparelha com o núcleo do ascogónio sem no entanto existir a fusão nuclear. No interior do ascogónio são então produzidas células multinucleadas que originam várias hifas binucleadas, em cujas células terminais se desenvolverão os futuros ascos. Os ascos são formados em cavidades uniloculares, directamente no interior do estroma micelial (2, 3). O ascocarpo deste tipo chama-se pseudoteca (2, 3, 213) e distingue-se da periteca, entre outros aspectos, em virtude de dar origem a ascos de dupla membrana (bitunicados), ao contrário daquela que origina ascos de parede simples (unitunicados) (3, 213).

Anamorfo, estado imperfeito ou fase assexual

O estado imperfeito do fungo *V. pirina* é designado por *Fusicladium pyrorum* (Lib.) Fuckel. e identifica-se pelos conídios desenvolvidos nas extremidades de conidióforos originados por micélio imerso. O género *Fusicladium* possui conidióforos denticulados.

Resumo das características principais do fungo

Na descrição do fungo *V. pirina* incluem-se as seguintes características chave (151):

O teleomorfo possui pseudotecas com 100–200µm de diâmetro, de forma globosa a cónica, com ou sem **setae** (Fig. 3). Os **setae** rodeiam o ostíolo e situam-se num colo curto. As pseudotecas estão imersas no interior de folhas caídas, onde passam o Inverno.

Os ascos (40–70µm × 8–12µm) são oblongos, bitunicados, contendo no seu interior oito ascósporos (12–20µm × 4–8µm) bicelulares, lisos e oblongos, ligeiramente estrangidos que, quando maduros, são verde pálido. Dentro dos ascos, a célula mais pequena dos ascósporos orienta-se para a base.

O anamorfo possui conídios (17–30µm × 6–10µm) fusiformes, unicelulares (existem alguns bicelulares) lisos ou rugosos de cor castanho esverdeado. Crescem

em conidióforos (comprimento máximo de 90µm e 4– 5µm de espessura) simples e erectos, com cicatrizes indicando o local da separação dos conídios.

Os ascósporos de *V. pirina* são mais compridos e largos que os de *V. nashicola* (10– 15µm × 3,8– 6,3µm) e os conídios de *V. pirina* são significativamente mais longos que os de *V. nashicola* (7,5– 22,5µm × 5,0– 7,5µm). Resultados de cruzamentos em meio de cultura mostraram claramente o isolamento sexual entre as duas espécies (69, 185).

Formas de hibernação

Os fungos *V. pirina* e *V. nashicola* apresentam-se em duas formas distintas condicionadas pela fase de actividade da pereira ao longo da estação. A forma teleomorfa ocorre nas folhas mortas durante o período inactivo do hospedeiro e permite ao fungo ultrapassar a ausência de órgãos susceptíveis. A forma anamorfa aparece frequentemente associada à fase vegetativa da pereira, podendo ocorrer também em lesões nos ramos ou nas escamas dos gomos onde permanece durante o Inverno (27, 37, 38, 81, 82, 91, 103, 104, 109, 118, 148, 173, 185, 198, 199, 202, 216, 221).

Sobrevivência na forma anamorfa

Os estudos mais antigos referem a forma **assexual** como a mais importante na hibernação do fungo, possivelmente devido à dificuldade em identificar ou quantificar as pseudotecas nas folhas mortas, ou os ascósporos na atmosfera (81, 82, 103, 104, 118). Embora alguns estudos sobre *V. pirina*, na última metade do século XX, revelem a presença da forma anamorfa viável durante o Inverno (27, 82, 109, 173, 198, 199, 202, 216) não existe consenso mundial sobre o contributo relativo desta forma de hibernação nas infecções primárias da Primavera seguinte.

Na superfície de folhas e frutos do hospedeiro

Aparentemente, as estruturas assexuadas do fungo, conídios, conidióforos ou micélio, são incapazes de sobreviver ao Inverno na superfície de folhas e frutos, que

persistem na árvore ou sobre o chão, tal como acontece com o fungo *V. inaequalis* (97).

Estromas e conídios nas escamas infectadas de gomos

Em 1902, McAlpine (104), referindo-se à forma de hibernação do pedrado da pereira na Austrália diz “parece mais que provável, no que respeita à zona de Victoria, ser a única fonte de infecção a ter em atenção, os esporos produzidos pelo fungo nas folhas e frutos na estação, que ficam retidos nos pêlos e escamas dos gomos, possibilitando assim a infecção na estação seguinte”.

Conídios de *V. nashicola* originados em lesões nas folhas no início do Outono são arrastados pela água da chuva ao longo dos ramos e podem infectar as partes vivas e expostas das escamas dos gomos da pereira asiática. Durante o Inverno, pequenas lesões aparecem nas escamas dos gomos as quais formam conidióforos e conídios no final da estação (198, 199, 202). Em três cultivares de pereira o número observado de gomos infectados pelo pedrado variou de 2,4% a 37,8% (199). Dados de um outro estudo de Umemoto (198) revelaram que o número de conídios presentes na água canalizada por um funil, colocado em redor de ramos cujas escamas dos gomos apresentavam lesões, variou de 1 a 13 conídios por mililitro de água, cuja taxa de germinação foi de 25% a 100%, entre 18 de Abril e 23 de Maio. No Outono, durante o período de queda das folhas, o número de conídios variou de 22 a 543/mL em 1983 e de 7 a 160/mL em 1984 (202). No final do Inverno, a taxa de germinação dos conídios aumentou de 30% observada a 8 de Fevereiro, para 70%, observada após 2 de Março. Aparentemente, este facto deveu-se a novos conídios formados nas lesões hibernantes (202). A dispersão dos conídios de *V. nashicola* produzidos em lesões nas escamas dos gomos e partes basais dos gomos florais ocorre, geralmente, na altura da floração da pereira (meados de Abril), e o número de conídios interceptado pela água da chuva recolhida dos lançamentos da pereira tende a aumentar daí em diante (198).

Aparentemente, estromas hibernados em gomos de pereira infectados no Verão anterior produzem muitos conídios após a floração da pereira e são a fonte principal das infecções primárias, na região chinesa de Habei. O fungo parece infectar os gomos de Junho a Setembro, com especial preponderância durante Agosto (221).

No Sul da Austrália, Jefferey, citado por MacHardy (97) examinou na Primavera as escamas dos gomos de duas macieiras com aproximadamente 30% de gomos infectados. Existiam conídios viáveis nas lesões das escamas mas as folhas desenvolveram-se livres de pedrado. Este autor concluiu que só os ascósporos constituíam o inóculo primário. Na Austrália ocidental não existe pedrado contudo, pensa-se que importações de macieiras com escamas dos gomos infectados, durante o Inverno de 1947, foram responsáveis pela epidemia observada no ano de 1947-48. Não existiam relatos de infecções de pedrado nos cinco anos anteriores. As folhas de corimbos inteiros foram severamente infectadas e distorcidas pelo pedrado mesmo antes das folhas completarem o seu desenvolvimento (97). Num estudo exaustivo realizado em macieira por Louw (95) na região sul-africana do Cabo centenas de gomos foram examinados microscopicamente. Conídios isolados de escamas ou lexiviados por água destilada foram a incubar em placas de Agar. Nenhum conídio germinou nem nunca foi observado micélio viável nas escamas. Louw concluiu que o fungo não seria capaz de sobreviver ao Inverno na forma de conídios ou micélio na zona mediterrânica do Cabo.

Nos EUA Becker e Burr (17) detectaram 2– 15 conídios viáveis por gomo em pomares não tratados no ano anterior. Conídios removidos ao intumescimento de gomos infectados e inoculados em estufa sobre plântulas de macieira causaram infecções indicando que os conídios sobreviveram ao Inverno. Lesões de pedrado foram detectadas na face adaxial de 12 dos 1000 gomos observados em Abril de 1990. Os autores atribuíram a viabilidade dos conídios à protecção climática oferecida pelas escamas, à íntima associação entre os conídios e os tecidos vivos e ao nível constante de humidade sem dissecação.

Estromas e conídios em lesões nos ramos

As lesões existentes nos ramos, caso não se destaquem durante o Verão, poderão constituir a fonte alternativa de conídios primaveris no ano seguinte (16, 27, 37, 38, 81, 82, 91, 103, 109, 173, 216). Após o intumescimento dos gomos da pereira o fungo evolui através da epiderme dos ramos formando uma pequena lesão na qual numerosos conídios se formam, geralmente antes do botão verde. A maioria das

lesões destaca-se dos ramos durante o Verão mas ocasionalmente as poucas que restam podem produzir conídios na estação seguinte. Evidência de infecções anteriores pode ser observada nos ramos de dois a cinco anos na forma de depressões circulares (82). Em pereiras, lesões viáveis (contendo conídios viáveis), foram detectadas na Noruega, de Junho a Novembro em lançamentos anuais, e de Fevereiro a Novembro em ramos com dois ou três anos (173).

Vários estudos efectuados nos EUA sobre esta forma de hibernação no fungo *V. inaequalis* em macieira revelaram que as lesões presentes nos ramos de dois pomares produziram a média de 191 e 281 conídios por lesão em Julho com 21% e 47% de viabilidade, respectivamente. Em Outubro desse ano, o número de conídios por lesão nos mesmos dois pomares tinha baixado para 97,6 e 9,8 com viabilidade inferior a 7%. Na Primavera seguinte não foram detectados conídios nas lesões num dos pomares e no outro somente uma lesão produziu 10 conídios, cinco dos quais viáveis. Os autores concluíram que as lesões nos ramos não constituíam fonte significativa de inóculo primário (17).

Sobrevivência na forma teleomorfa

Pseudotecas em frutos infectados

A presença de pseudotecas formadas durante o Inverno na superfície de frutos que permanecem no chão do pomar nunca foi mencionada para *V. pirina* e é um caso muito raro para *V. inaequalis* (97).

Pseudotecas em folhas infectadas na manta morta

Em 1896, Aderhold demonstrou que os ascósporos emitidos pelas pseudotecas em folhas mortas de pereira podiam germinar e infectar folhas novas (1, 97, 151).

Os pedrados da pereira e macieira possuem enorme capacidade de resistência a condições desfavoráveis em folhas infectadas sobre o solo. Podem sobreviver ao Inverno em câmara frigorífica de atmosfera normal ou controlada (-1°C a 1°C), seguido de um Verão em caixas secas ao ar livre e mesmo assim, se essas folhas forem colocadas no chão do pomar, conseguem formar pseudotecas que amadurecem e produzem ascósporos na Primavera seguinte (170). Aparentemente,

só as folhas colocadas em contacto com o solo originam pseudotecas viáveis (97, 170).

Sobreiro (158) verificou a formação normal de pseudotecas de *V. pirina* em folhas recolhidas à queda e colocadas horizontalmente sobre uma rede a cerca de cinco centímetros do solo, no interior de bolsas de nylon. Aparentemente, não foi necessário o contacto directo com o solo para a formação das pseudotecas.

Formas de hibernação na região do Oeste de Portugal

Oliveira (118) referiu em 1932 a ausência da fase sexual do fungo *V. pirina* no ecossistema agrário do Oeste, após um longo estudo de prospecção sobre o qual, a dado momento disse “não podemos investigar a acção da temperatura sobre a germinação dos ascósporos, por não termos encontrado em Portugal, *in natura*, as formas *Venturia*”². Reforçou ainda a ideia aquando das experiências que realizou no anamorfo, referindo que “estas observações tiveram de ser realizadas sobre culturas, pois nunca conseguimos obter qualquer forma, mesmo incipiente, da formação peritecial nas folhas de macieira, pereira e nespereira, que deixámos a hibernar no campo com esse fim”³. Propôs então a hipótese da temperatura invernal não ser suficientemente baixa para permitir o aparecimento da forma teleomorfa do fungo. Em tais circunstâncias *V. pirina* sobreviveria na forma estromática em lesões nos ramos ou em gomos. Cruz (37) em 1973 foi o primeiro a identificar a presença da fase sexual na região do Oeste e deduziu ser possível ao fungo hibernar como teleomorfo, no interior de pseudotecas em folhas caídas no solo, ou como anamorfo, através de estromas em lesões nos ramos ou nas escamas dos gomos. Noutras regiões de Portugal a fase sexual do pedrado da pereira foi igualmente observada pela primeira vez na década de 70 (128). Até 1995 não se conhecia a contribuição relativa, para as infecções primárias, das duas formas de hibernação de *V. pirina* na região do Oeste. Sobreiro (158) após várias observações visuais na Primavera de 1994, em

² Referência bibliográfica 118, pág. 100.

³ Referência bibliográfica 118, pág. 287.

diferentes pomares da região, constatou serem aleatórias as lesões dos primeiros ciclos de **infecção primária** e verificou a elevada frequência de pseudotecas hibernantes nas folhas caídas. O aparecimento de pseudotecas era evidente quer em pomares abandonados, quer nos regularmente pulverizados na estação anterior. A contribuição da fase sexual na epidemiologia do fungo era mais elevada que o suposto inicialmente.

Resumo do modo de hibernação do fungo *V. pirina*

O fungo *V. pirina* sobrevive ao Inverno na forma de pseudotecas imersas em folhas infectadas sobre o solo e em lesões nos ramos ou nas escamas de gomos infectados. Quando o fungo só hiberna em folhas infectadas, os ascósporos emitidos pelas pseudotecas são a única fonte de inóculo primário. Quando as lesões nas escamas dos gomos ou nos ramos existem, conídios viáveis destacados das lesões podem constituir parte do inóculo primário, embora o papel destes conídios nas epidemias de pedrado varie de negligenciável a importante, dependendo das regiões geográficas, temperatura invernal e condições de humidade. Em casos raros, os conídios do fungo podem sobreviver aderentes no interior dos gomos, contribuindo também para o inóculo primário. Geralmente, o fungo presente na superfície da árvore não sobrevive ao Inverno.

Factores que influenciam a fase sexual

A fase sexual do ciclo de vida do fungo *V. pirina* inicia-se no Outono com a queda da folha e termina com o fim da emissão dos ascósporos, na Primavera seguinte. Dentro das folhas, ocorre um pequeno período de crescimento micelial do fungo nas duas a três semanas após a abscisão, durante o qual tem início a fase de produção e maturação das pseudotecas.

Sendo os ascósporos a única ou a principal fonte de inóculo primário, o conhecimento de todos os factores condicionantes desta fase do fungo é crucial para o entendimento profundo da relação entre a fase sexual e o desenvolvimento epidémico inicial do pedrado da pereira.

Factores que actuam antes da queda das folhas

Cultivar

Independentemente da cultivar poder influenciar a produção de ascósporos de *V. inaequalis* por unidade de folha, os ascósporos amadurecem à mesma taxa nas folhas, da cultivar onde foram produzidas (73, 97, 108).

Tipo e número de lesões presentes nas folhas

As infecções primárias dão frequentemente origem a lesões discretas, com o centro necrótico e rodeadas de micélio estromático difuso. Nas infecções do fim da estação predominam as margens difusas e a baixa concentração micelial.

Nas lesões discretas de *V. inaequalis* as pseudotecas são formadas junto às margens das lesões. Nas lesões difusas, que se desenvolvem em maior quantidade na face inferior da folha, as pseudotecas desenvolvem-se abundantemente em toda a extensão da lesão (97). Wilson (217) observou a reduzida expansão das ramificações das hifas de *V. inaequalis* através dos tecidos infectados, após a queda das folhas, e raramente observou pseudotecas a mais de um centímetro das lesões. A presença de lesões macroscopicamente invisíveis nas folhas verdes levou à falsa concepção da ramificação das hifas em grande extensão no interior do tecido das folhas.

Um dos factores que influencia o desenvolvimento da fase sexual é o número de lesões existentes por folha, dado este aspecto ser condicionante do número de encontros entre hifas sexualmente compatíveis e assim do número de pseudotecas formado. Em *V. inaequalis* Gadoury e MacHardy (51) encontraram, para baixo nível de incidência de pedrado à queda das folhas, relação positiva entre a incidência da doença e a fertilidade das lesões. As lesões com pseudotecas maduras aumentavam de 3% para 9% quando a incidência de pedrado nas folhas aumentava de 0,1% para 5%.

Fungicidas aplicados no ano anterior

A acção dos fungicidas persiste até 14 dias após a sua aplicação, dependendo da substância activa. Aplicações sucessivas de fungicidas, ao diminuírem o número de lesões, influenciam negativamente o número de pseudotecas formado após a queda

das folhas. Alguns fungicidas possuem a capacidade de reduzir o inóculo primário, embora não seja claro se a sua acção se exerce sobre o anamorfo, o teleomorfo ou em ambas as fases do ciclo de vida do fungo. Alguns fungicidas aplicados depois da infecção podem evitar o desenvolvimento de sintomas ou levar à sua manifestação através de manchas cloróticas. O fungo pode neste caso ficar inibido em vez de destruído, e nestas condições não foi provado se as infecções inibidas se desenvolvem ou não nos tecidos do hospedeiro de modo a originar emparelhamentos, após a queda das folhas.

Data da queda das folhas

De modo geral, as últimas folhas a cair produzem maior número de pseudotecas e maior quantidade de ascósporos. Este facto deve-se principalmente à temperatura e humidade mais favoráveis que ocorrem nas quatro semanas após a queda das folhas. A queda da folha da pereira (cv. Rocha) ocorre na maioria dos anos, na região do Oeste de Portugal, desde o início de Novembro até meados de Dezembro, seguindo a curva normal (Fig. 8) (158).

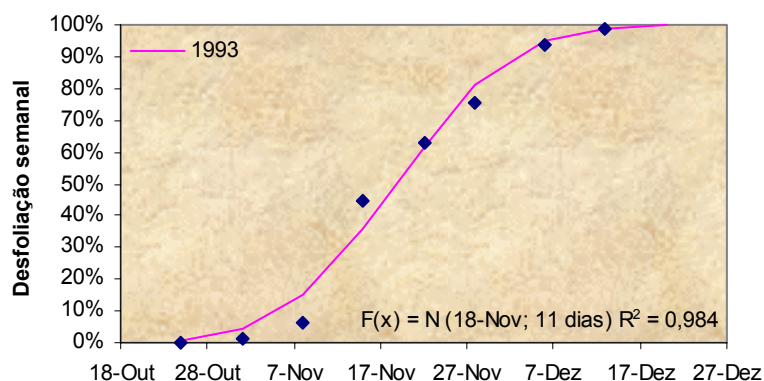


Fig. 10 Evolução semanal da queda das folhas num pomar de pereira (cv. Rocha) localizado no Painho (Cadaval) durante o Outono de 1993 ($p < 0,001$) (158).

A probabilidade de ocorrerem maior número de infecções por folha é maior nas folhas que caem mais tarde devido a infecções de fim de estação. O período da queda das folhas condiciona o desenvolvimento das pseudotecas, e assim é provável que a queda tardia das folhas da macieira seja favorável à melhor sincronização da população das pseudotecas na Primavera seguinte (97).

Factores que actuam após a queda das folhas

Local de hibernação

Aparentemente, em *V. inaequalis* o desenvolvimento da fase sexual na manta morta não difere significativamente entre diferentes pomares, a menos que sujeitos a diferentes condicionalismos, caso de áreas encharcadas, onde o desenvolvimento das pseudotecas será prejudicado (97).

Tropismos

Sobreiro (158) verificou que folhas colocadas em bolsas de rede plástica no Outono, à queda das folhas, apresentavam na Primavera as pseudotecas de *V. pirina* com os ostíolos orientados para a luz, independentemente da face da folha exposta à luz. Quando as folhas de pereira se sobrepunham, e nessas circunstâncias permaneciam ao longo do Inverno, as folhas inferiores não apresentavam pseudotecas nas faces sobrepostas.

Gadoury e MacHardy (50) verificaram que em folhas com lesões em ambas as faces, mais de 90% das pseudotecas de *V. inaequalis* se encontravam orientadas para a face superior durante a hibernação no escuro. Os autores concluíram que o geotropismo era determinante na orientação das pseudotecas para a face superior, durante as últimas etapas do desenvolvimento das pseudotecas, mas não excluem a possível influência do fototropismo na colonização do tecido das folhas mortas pelo fungo, antes e durante a formação das pseudotecas ou no estado anterior à formação dos ascos.

Temperatura

Para *V. inaequalis* as baixas temperaturas parecem favorecer o número de pseudotecas desenvolvidas nas folhas infectadas.

Wilson (217) verificou que temperaturas entre 13°C e 16°C são o estímulo óptimo para o início da fase sexual e crescimento inicial das pseudotecas. Cerca de 90% das pseudotecas são formadas nos 28 dias após a queda das folhas (48). Nos EUA, 4°C no mês seguinte à queda das folhas, parece ser a temperatura na qual se forma o maior número de pseudotecas (48, 116). Na África do Sul a temperatura que induz o

aparecimento do maior número de pseudotecas varia entre 7°C e 13°C, mas parece depender da raça de *V. inaequalis* presente (95). Ross e Hamlin (134) observaram, em laboratório, que a formação das pseudotecas de *V. inaequalis* era mais abundante à temperatura de 4°C, cessando acima de 15°C.

A temperatura óptima para o desenvolvimento das pseudotecas varia de 10°C, no aumento inicial do seu diâmetro, para 20°C na maturação dos ascósporos (48). Para temperatura acima de 24°C verifica-se o abortamento de pseudotecas (116).

A temperatura também influencia o número de ascos de *V. inaequalis* produzido. O número de ascos produzidos por pseudoteca de *V. inaequalis* varia de 100 a 130 (média de 122) (51, 52) e para *V. pirina* de 136 a 150 (média de 143) (169). Na região do Oeste de Portugal os valores oscilam entre 84 e 206 ascos por pseudoteca de *V. pirina* (157).

Num estudo efectuado por Gadoury e MacHardy (52) o número de ascos por pseudoteca foi inversamente proporcional à temperatura no período desde o aparecimento dos primeiros ascos até ser atingido o número máximo de ascos por pseudoteca. O desenvolvimento dos ascos em folhas no pomar foi contínuo durante cerca de cinco semanas. As pseudotecas incubadas a 6°C e 12°C durante o período de desenvolvimento dos ascos e maturação dos ascósporos produziram 125 e 73 ascos por pseudoteca, respectivamente. A variação da temperatura após o aparecimento dos primeiros ascósporos maduros não parece alterar o número de ascos formados por pseudoteca.

Temperaturas de cerca de 20°C aceleram o processo de maturação dos ascósporos (48, 71). Temperaturas baixas favorecem a formação dos ascos e temperaturas altas favorecem a maturação dos ascósporos.

Humidade

O grau de humidade influencia o fungo *V. inaequalis* em todas as fases de desenvolvimento sexual iniciado com a abscisão da folha. Num estudo de Wilson (217) o fungo não cresceu nos tecidos de folhas secas, após um período de 20 dias; em folhas molhadas ramificou em três dias. O fungo não cresceu no interior de

folhas verdes destacadas e mantidas sem dissecar mas cresceu para o interior dos tecidos das folhas, três dias após o seu acastanhamento. Para Wilson o nível de humidade que mantivesse as folhas “totalmente maleáveis”, talvez o fornecido pelo orvalho, seria suficiente para iniciar o desenvolvimento das pseudotecas. Folhas sujeitas a 37,8 mm, 10,2 mm e 0,2 mm de precipitação nos 15 dias após a sua queda produziram pseudotecas com diâmetros médios de 39 μ m (1,1 μ m/dia), 49 μ m (1,0 μ m/dia) e 20 μ m (0,4 μ m/dia) medidos 36, 50 e 56 dias após a queda das folhas. O atraso no desenvolvimento das pseudotecas da terceira experiência foi atribuído à presença de condições secas (0,2 mm) nos 15 dias seguintes à queda da folha. Wilson também estudou a influência do nível de humidade na maturação dos ascósporos mantendo folhas permanentemente molhadas, húmidas e alternadamente secas e molhadas. Nas folhas permanentemente molhadas observou o menor número de ascos com ascósporos maduros em relação aos outros tratamentos. Nas folhas maleáveis as pseudotecas amadureceram rapidamente o mesmo acontecendo nas folhas sujeitas a condições alternadamente secas e molhadas. Assim, “a humidade contínua conduziu a certas anormalidades no desenvolvimento das pseudotecas” (217). Louw (95) confirmou as observações de Wilson (217).

Dos estudos de Wilson (217) e Louw (95) concluiu-se ser necessária a humectação das folhas na formação das pseudotecas, contudo o excesso de humectação ou a humectação contínua pode ser prejudicial. Ciclos intermitentes secos e molhados nas folhas, como é normal ocorrerem no pomar, são os mais favoráveis ao desenvolvimento da fase sexual do fungo *V. inaequalis*.

Louw (95) concluiu que as pseudotecas se formam em folhas molhadas ciclicamente por orvalho, contudo, o número de pseudotecas nelas formado era muito menor, em relação ao número observado em folhas molhadas em laboratório. A secagem das folhas após a queda reduz o desenvolvimento das pseudotecas, mas períodos secos de dois ou três meses nas folhas hibernantes parecem não ser prejudiciais ao fungo, após esta fase. Folhas mantidas secas durante 16 dias, ou só molhadas por orvalho 16 ou mais dias após a queda, resultou no decréscimo substancial do número de

pseudotecas formado e isto pode ter impacto significativo nas epidemias do pedrado (95).

A formação de pseudotecas não ocorre em folhas de macieira mantidas secas mas estas evoluem e atingem a maturação quando expostas a humidade relativa de 100% (71). Contudo, a presença de condições acima de 95% de humidade relativa aumenta o número de pseudotecas de *V. inaequalis* formadas nas folhas (116).

Em *V. inaequalis*, após a formação dos ascos, a maturação destes ocorreu independentemente da emissão dos ascósporos quando as folhas foram incubadas a 15°C, com 90% de humidade relativa e molhadas em intervalos de 7, 14 e 21 dias. A acumulação de ascos com ascósporos maduros, entre os períodos de emissão, não inibiu a maturação dos restantes ascos dentro das pseudotecas. Não houve diferença significativa na taxa de maturação dos ascos para as diferentes modalidades (52). Contudo, estudos em França revelaram que a frequência da humectação sobre folhas hibernantes colocadas no pomar ao abrigo da chuva, se relacionava com o número de unidades de calor necessárias para completar a maturação dos ascósporos. Quanto menor foi a frequência da humectação maior foi o número de unidades de calor necessário para completar a maturação (97).

De acordo com Jeger e Butt (72) o Novembro frio e molhado (favorável à formação das pseudotecas de *V. inaequalis*) pode compensar, no início da Primavera, temperaturas baixas menos favoráveis à maturação das pseudotecas. O contrário não acontece. Precipitação elevada (> 100 mm) no mês seguinte à queda das folhas (Novembro) pode compensar, na mesma altura, temperaturas altas pouco favoráveis à formação das pseudotecas. O contrário também não se observa. Precipitação inferior a 50 mm no mês seguinte à queda da folha estende o período normal de maturação dos ascósporos na Primavera de 15 a mais de 30 dias.

O efeito da humidade sobre a fase sexual do fungo parece funcionar como factor limitante no processo e não como variável que altere a taxa de progressão. Acima de determinado nível mínimo de humidade, a formação, desenvolvimento e maturação das pseudotecas é determinada prioritariamente pela temperatura.

pH e nutrientes das folhas

As folhas caídas no solo adquirem consistência mole e desintegram-se devido a microrganismos vários que colonizam os tecidos das folhas. Daí resultam alterações no pH e teor de nutrientes das folhas. Muitos nutrientes são lexiviados e variações contínuas de pH e nutrientes ocorrem na manta morta. Em virtude destas mudanças o fungo *V. pirina* é capaz de produzir as pseudotecas.

Abundantes pseudotecas foram produzidas em 2,5% de Agar com 0,5% de extracto de malte incorporando a decocção obtida por 2,5% de folhas mortas secas. De salientar que a adição ao meio da decocção de folhas de macieira não estimula a formação de pseudotecas de *V. pirina* e vice-versa. A decocção de folhas duma cultivar resistente aos isolamentos testados foi tão eficiente como a de outra cultivar muito susceptível. Cinzas de folhas mortas de pereira tinham pequeno ou nenhum efeito estimulante na produção de pseudotecas (89). A inoculação do meio com duas raças de *V. pirina* permitiu obter pseudotecas no menor intervalo de tempo quando as placas foram incubadas a 20°C por 12 dias (para promover o rápido crescimento vegetativo), de seguida 7°C até à formação inicial dos ascos e finalmente 15°C (89). No período anterior ao início da formação dos ascos a temperatura de 7°C foi crítica para a formação dos ascósporos.

Aplicações de calcário dolomítico à razão de aproximadamente cinco toneladas por hectare reduziram em 34% a área das folhas da pereira na manta morta (166). Os autores observaram que as reduções de área foliar (11% a 34%) eram consideravelmente menores que a redução da dose potencial de ascósporos (PAD) (46% a 88%), calculada após a aplicação do calcário. Spotts *et al.* (166) concluíram estarem envolvidos outros factores no decréscimo da PAD, para além do decréscimo da área foliar e apontam o aumento indiscutível do pH nas folhas de pereira, provocado pelo calcário, como o factor mais plausível. Contudo, não quantificaram o nível desse aumento.

A aplicação de ureia aumenta o pH para valores próximos de 7,4. Cook, citado em MacHardy (97) sugeriu que a ausência de pseudotecas de *V. inaequalis* advém das condições alcalinas estabelecidas imediatamente após a aplicação de ureia. Cook

deduziu ser a metabolização da ureia na superfície das folhas pelo fungo, transformada em amoníaco, na quantidade suficiente para elevar o pH da folha e assim inibir a formação das pseudotecas. De acordo com este autor, a actividade microbiana esgotava a ureia do tratamento no período de três a quatro semanas, daí resultando a acumulação de elevadas concentrações de compostos amoniacais. Aplicações de ureia a 2% (p/v) reduziram a produtividade de ascósporos de *V. pirina* por unidade de área foliar em 79,8% (90).

Quando as folhas infectadas por raças compatíveis de pedrado caem, o fungo cresce dentro dos tecidos mortos durante um breve período, forma o início do ascocarpo, emparelha e produz pseudotecas. Estas formam-se numa estreita gama de concentrações de azoto. Diferentes catiões e sais interferem também na fase sexual do fungo.

Etapas do desenvolvimento das pseudotecas

A maioria das pseudotecas de *V. inaequalis* forma-se no mês seguinte à queda da folha, durante o qual a temperatura e a humidade são as variáveis climáticas determinantes do número de pseudotecas formado. Após a sua formação, as pseudotecas desenvolvem-se continuamente se a temperatura e a humidade forem favoráveis. De modo semelhante, a formação e maturação de ascos e ascósporos progride continuamente, dependendo da influência da temperatura e humidade. De modo geral, a taxa de crescimento e maturação das pseudotecas depende da temperatura. No início do Inverno as pseudotecas observam-se em diferentes estados de desenvolvimento devido principalmente a diferentes condições observadas à queda das folhas. Ao longo do Inverno o crescimento das pseudotecas abranda. No fim do Inverno a maturação acelera em resposta à temperatura, progredindo regularmente se a humidade não for factor limitante.

Antes do intumescimento dos gomos da macieira ou da pereira poderão observar-se ascósporos maduros de *V. inaequalis* ou *V. pirina* mas poucos estudos indicam a emissão de ascósporos antes desta fase. Existe forte evidência indicando a sincronização entre a maturação das pseudotecas e o intumescimento dos gomos. Alguns ascósporos poderão amadurecer antes desta fase mas os ascos requerem

unidades adicionais de calor que lhes permitam absorver água, inchar, rebentar e emitir os seus ascósporos maduros (97). Nos ascos de *V. inaequalis* parece existir a maturidade diferencial entre os ascósporos maduros (ascósporos corados de verde pálido com septo bem nítido) e os ascos correspondentes, isto é, verificou-se após o estímulo muito favorável, pseudotecas sem a emissão dos ascósporos presentes em ascos aparentemente maduros (55). Não existem estudos comparativos para *V. pirina*. Outro aspecto importante é a observação de pseudotecas de *V. pirina* com o ostíolo ausente contendo no interior ascósporos maduros. A formação do ostíolo é por vezes posterior ao início do amadurecimento dos ascósporos (157).

Dose potencial de ascósporos (PAD)

Este conceito foi definido por MacHardy e Jeger, pesando as diferentes variáveis que influenciam o número de ascósporos antes do intumescimento dos gomos do hospedeiro (97). A dose potencial de ascósporos é a produção de ascósporos estimada por m² de superfície de pomar. Segundo MacHardy (97), a dose potencial de ascósporos representa actualmente a melhor previsão da produção de ascósporos num pomar contudo, poderá ser ainda necessário introduzir novos refinamentos. O método baseia-se na contagem de lesões macroscopicamente identificáveis.

A dose potencial de ascósporos resulta do produto da densidade de lesões (Dl) × n° de pseudotecas por lesão (Dp) × n° de ascos por pseudoteca (Da) × n° de ascósporos por asco × densidade da manta morta (Dmm). A densidade das lesões é o número de lesões por m² de folha e a densidade da manta morta é a fracção do solo do pomar coberto por folhas ao intumescimento dos gomos da pereira (estado B).

$$\text{PAD (ascósporos/m}^2 \text{ de pomar)} = \text{Dl} \times \text{Dp} \times \text{Da} \times 8 \times \text{Dmm}$$

A estimativa do número de lesões é realizada no Outono nas folhas de lançamentos terminais, local onde a maioria das lesões é observável e que constitui mais de 75% das folhas da árvore (51).

As estimativas da dose potencial de ascósporos poderão ser úteis para comparar diferentes estratégias de protecção em diferentes pomares. Diferenças no valor da dose potencial de ascósporos podem explicar o sucesso da estratégia, tratamento ou

outra prática cultural num pomar, e não noutra, sujeito às mesmas condições climáticas (96).

Spotts *et al.* (167) mediram as variáveis necessárias ao cálculo do PAD no estado de Oregon (EUA), em relação ao pedrado da pereira. A área média das folhas da pereira foi avaliada em 20 cm², o número de lesões por folha variou entre 1,8 e 2,2. Das pseudotecas imersas nas folhas, verificaram que 13,5% a 41,7% eram férteis, variando o seu número de 15,2 a 24,4 por folha. O número médio de ascos por pseudoteca foi de 131,5. A densidade da manta morta atingiu valores de 0,34 a 0,67 em pomares sujeitos ou não ao corte das infestantes, respectivamente. Nestas circunstâncias, o PAD calculado variou de 1114 a 708320 ascósporos/ m² de superfície, para pomares comerciais ou abandonados, respectivamente. A incidência de pedrado nas folhas variou de 0,1% a 32,3%.

Padrão sazonal da maturação e emissão dos ascósporos

Poucos ascósporos amadurecem e podem ser emitidos antes do intumescimento dos primeiros gomos florais da pereira. Na maior parte dos anos, em diferentes locais do mundo, os primeiros ascósporos de *V. pirina* estão maduros entre o intumescimento (estado fenológico B) e a ponta verde (estado fenológico C) dos gomos florais do hospedeiro (16, 82, 90, 91, 109, 131, 169, 210). A maturação dos ascósporos apresenta geralmente o seu pico máximo entre o estado fenológico de botão branco (E) e a queda das pétalas (H). Pouco após esta fase acaba o período de maturação dos ascósporos. Duas a seis semanas após a plena floração finalizam as emissões e acaba a época das infecções primárias. Dentro das pseudotecas podem então observar-se ascos vazios, em degeneração, ascósporos anómalos e alguns ascos imaturos que aparentemente perderam a faculdade de formar ascósporos (157).

As pseudotecas de *V. pirina* realizam o processo de maturação e emissão de ascósporos num período de dois (16, 210, 216), três (27, 38, 41, 60, 81, 82, 198) ou quatro meses (90, 91, 109, 120, 169).

Em climas do tipo mediterrânico, os ascósporos de *V. pirina* amadurecem e podem ser emitidos num período de quatro a 10 semanas (16, 157, 210), mas a maioria é

emitida num menor intervalo de tempo, durante os dois a cinco períodos de chuva primaveris principais (157). A maturação dos ascósporos e dos ascos correspondentes não é simultânea. O processo de maturação completa-se aparentemente em dois passos, primeiro amadurecem os ascósporos no interior dos ascos e só depois o asco ganha a faculdade de emitir os seus ascósporos. No início da estação os dois processos podem estar separados por vários dias (157). O fim da época das infecções primárias ocorre quando o número de ascos com ascósporos maduros é superior a 95% do seu número máximo (97, 157, 162, 169).

Na ausência de condições climáticas para a emissão dos ascósporos o fungo *V. inaequalis* acumula os ascósporos maduros dentro das pseudotecas sem inibir o processo de maturação dos restantes (52).

Emissão dos ascósporos

O fungo *V. pirina* apresenta vários mecanismos de adaptação **biótica**. Por exemplo, os ascósporos amadurecem quando evoluem os primeiros tecidos vegetais susceptíveis. Por outro lado, a emissão de ascósporos acontece nos períodos de chuva principais (proporcionam aos ascósporos as condições óptimas à germinação e penetração da cutícula). Estes e outros mecanismos optimizam a eficácia de infecção do fungo.

A emissão dos ascósporos de *V. inaequalis* e *V. pirina* acontece quando as pseudotecas absorvem água e o asco se distende através do ostíolo de forma a expôr os dois ou três ascósporos da extremidade. Nesse momento os ascósporos estão alinhados no interior do asco, em fila. Quando a extremidade do asco rompe, o asco retrai de modo a expulsar os oito ascósporos em rápida sucessão (30, 154, 157).

A chuva fraca de 0,0025mm é suficiente para iniciar a emissão dos ascósporos de *V. inaequalis* (97). Contudo, o mais comum é observarem-se capturas acima de 0,2mm de chuva (97, 65), mesmo em pomares com dose potencial de ascósporos elevada (97). Por vezes, alguns ascósporos ficam retidos no interior dos ascos, fenómeno frequente no final da estação (157). Simultaneamente, podem ser observados vários

ascos distendidos através do ostíolo; contudo não existe emissão sincronizada de ascósporos por vários ascos no mesmo momento (157).

Os ascos proporcionam aos ascósporos a força necessária para alcançarem distâncias máximas de sete milímetros (12, 197) e permite-lhes sair da camada limite existente em torno das folhas, arrastados pela turbulência atmosférica. A presença da luz é necessária à emissão dos ascósporos.

Dose de ascósporos versus produtividade de ascósporos

Os capta-esporos volumétricos foram desenvolvidos por Hirst (63) em 1952 e são o meio de medir a concentração de esporos na atmosfera do pomar.

O termo dose de ascósporos foi introduzido por Hirst (64) e representa o total da concentração horária anual estimada no pomar. Expressa-se no número acumulado de esporos capturados por m³ de ar. Este valor pode ser utilizado para comparar o inóculo de diferentes pomares ou o inóculo do mesmo pomar em diferentes anos. Esta medida representa o número total de esporos expostos às folhas e frutos do pomar na proximidade da armadilha.

O termo produtividade de ascósporos foi igualmente introduzido por Hirst (65, 66) para indicar o número total de esporos capturados num túnel de vento, dos tecidos de folhas molhadas várias vezes ao longo da estação, geralmente, em intervalos semanais, até a maturação de todos os ascos e emissão dos seus ascósporos. A produtividade de ascósporos é definida pelo número total de ascósporos produzido por cm² de tecido vegetal. A produtividade de ascósporos representa a produção de ascósporos estimada por cm² de folha, capturados num túnel de vento ou noutro dispositivo que recolha os ascósporos emitidos pelas folhas em laboratório.

Ambos os termos representam a produção relativa de esporos e não o valor absoluto dos esporos emitidos.

A principal diferença entre as duas formas de estimativa, é a dose de ascósporos depender de outros factores para além da área de folha amostrada. Estes factores incluem a densidade da manta morta, o número de ascósporos captados pelo coberto vegetal do solo, o número de ascósporos lexiviados do ar pela chuva e a velocidade

do vento, durante os períodos de emissão dos ascósporos. A densidade da manta morta reduz-se constantemente durante o período hibernante do fungo.

Efeito da temperatura na emissão dos ascósporos

A taxa de emissão dos ascósporos de *V. inaequalis* diminui para temperaturas abaixo de 10°C. Com temperaturas próximas da congelação a emissão dos ascósporos é muito limitada. Abaixo de 10°C verifica-se o atraso de duas a três horas na captura de 90% dos ascósporos desse dia (97). Gadoury *et al.* (56) e Stensvand *et al.* (176) verificaram o aumento consistente na taxa de emissão dos ascósporos de *V. inaequalis* nos minutos seguintes ao aumento da temperatura acima de 1°C (de 1°C para 20°C). A baixa temperatura produz três efeitos nítidos na emissão dos ascósporos. Primeiro, o intervalo de tempo necessário para o início da emissão dos ascósporos é inversamente proporcional à temperatura. Segundo, as temperaturas baixas diminuem a taxa de emissão. Terceiro, a baixa temperatura diminui o número total de ascósporos emitidos num dado intervalo de tempo (176).

Efeito da luz na emissão dos ascósporos

Em laboratório, a emissão dos ascósporos de *V. pirina* tem resposta rápida à luz branca ou vermelha (612- 800nm) e lenta à azul (390- 492nm) ou verde (484- 612nm); ao contrário do fungo *V. inaequalis*, onde o estímulo azul ou verde não produz efeito (32). Na ausência da luz, poucos são os ascósporos emitidos pelas pseudotecas dos dois fungos (30, 31, 32, 97).

A emissão dos ascósporos pelas pseudotecas de *V. inaequalis* e *V. pirina* parece ser estimulada pela presença da luz. Este facto foi observado em experiências realizadas em laboratório (30, 31, 32, 97) e no campo (65, 90, 99, 109, 157, 167, 174, 192, 193, 208, 210), recorrendo a variados dispositivos de captura de esporos.

Para o fungo *V. pirina* existe uma relação linear entre o aumento da intensidade luminosa e o número de ascósporos capturados na superfície duma lâmina de vidro situada quatro milímetros acima da folha molhada contendo as pseudotecas (97).

Em condições de campo existem alguns resultados, aparentemente contraditórios, para os quais ainda não foi encontrada explicação lógica. Se, em alguns casos, a quase

totalidade dos ascósporos é capturada durante o fotoperíodo (90, 99, 157, 192, 193, 210), outros há, em que quantidades significativas de ascósporos são capturadas durante a noite (16, 169, 174, 175, 208).

Certos autores fixaram o nível de radiação solar global considerado necessário para separar o dia da noite em $11,1\text{Wm}^{-2}$, sensivelmente a radiação captada na hora antes e depois do nascer e pôr-do-sol (21). Outros utilizaram níveis de radiação global semelhantes ($0,22 - 16,4\text{Wm}^{-2}$) (97, 169, 175) ou bastante superiores, como os presentes ao nascer e pôr-do-sol (100, 208). Esta disparidade de critérios pode explicar diferenças na classificação das capturas de ascósporos (nocturnas ou diurnas). As capturas nocturnas de ascósporos são assinaladas, fundamentalmente, em trabalhos realizados em latitudes mais elevadas, onde a distinção entre dia e noite acontece de forma mais esbatida, tornando menos preciso o estabelecimento do período nocturno com base em critérios como o nascer e pôr-do-sol (174, 175, 208). Em *V. inaequalis* $0,5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ no comprimento de onda de 725nm representa o limite mínimo de intensidade luminosa que acelera a emissão dos ascósporos (97) e na Noruega são registados valores acima deste limite às quatro horas da manhã (175). No caso de *V. pirina* e *V. inaequalis*, o pico da emissão dos ascósporos coincide com o meio-dia solar, altura do máximo fluxo radiante. Contudo, este fenómeno pode depender também da temperatura do ar (99).

A maioria dos ascósporos de *V. pirina* presentes nos pomares são emitidos durante o período diurno e o pico ocorre das 11:00 às 14:00 horas de acordo com o máximo de radiação solar (91, 157, 210).

Efeito da chuva na emissão dos ascósporos

A emissão dos ascósporos depende da presença de um filme de água sobre as folhas que contêm as pseudotecas.

Borecki (27) refere que a emissão maciça de ascósporos de *V. pirina* só ocorre quando a precipitação é superior a 0,4mm. Todavia, não indica os valores de temperatura onde verificou este facto. Segundo Gadoury *et al.* (56) a baixa temperatura (2 a 8°C) atrasa a emissão dos ascósporos de *V. inaequalis* por várias

horas. Williamson e Burchill (216) referem a emissão de alguns ascósporos de *V. pirina* com precipitação ligeira (inferior a 0,25mm). Segundo os mesmos autores, pequenas quantidades de ascósporos foram emitidas nos períodos de elevada humidade relativa, que ocorreram até 24 horas após a chuva. Todavia, é mais plausível pensar que a captura de ascósporos durante esses períodos é dependente de ascósporos emitidos durante a chuva presentes na atmosfera até 24 horas após a sua emissão.

Em laboratório, sob condições de humectação contínua, a maioria dos ascósporos de *V. inaequalis* são emitidos num intervalo de 75 minutos e poucas descargas acontecem 120 ou 150 minutos após a permanência nestas condições (55, 57). Em pomares, 75% dos ascósporos emitidos na sequência de chuvas ligeiras fazem-no em intervalo inferior a três horas (65). Quando o período de chuva é muito extenso, após o primeiro pico de ascósporos no ar segue-se o segundo, nove a 14 horas após o primeiro (106).

Hirst (65) indica 0,2mm de precipitação como o mínimo para emissão de quantidades substanciais de ascósporos de *V. inaequalis*, embora com valores inferiores se possam emitir alguns. Aylor e Sutton (14) obtiveram quase 50% dos ascósporos de *V. inaequalis* capturados do ar em períodos onde a intensidade da chuva foi inferior a 0,25mm/h.

A absorção de água pelo asco possibilita o aumento da pressão hidrostática no seu interior que produz a energia propulsora para os ascósporos, assim que a ponta do asco rompe. A parte final do processo envolve a ruptura da extremidade da exotúnica, mecanismo dependente da luz, talvez devido a composto foto-receptor presente na extremidade desta estrutura. Se a chuva começa durante a noite, a quantidade de ascósporos emitida é muito baixa até a intensidade luminosa interceptada pela manta morta ser superior ao limite necessário ao processo. Se a chuva ocorre durante o dia, o mecanismo de ejeção está completamente funcional e a emissão dos ascósporos pode ser imediata. Desta forma, talvez o fungo evite emitir os seus ascósporos durante os períodos de orvalho, a maioria demasiado curtos, para o processo de infecção.

Efeito do orvalho na emissão dos ascósporos

O papel do orvalho na emissão dos ascósporos de *V. pirina* é referido como bastante importante por alguns autores e pode constituir uma diferença em relação ao *V. inaequalis* (146, 148, 169).

Geralmente, a presença de orvalho nocturno é insuficiente para a emissão de quantidades significativas de ascósporos de *V. pirina*, na região do Oeste. Contudo, em 1997 observou-se a captura de 160 ascósporos/m³ durante a manhã na sequência de forte orvalho nocturno (registou-se 0,2mm de precipitação). O fenómeno aconteceu durante a ausência prolongada de chuva (43 dias) (157).

Brooke (30) constatou que a presença de orvalho promove a emissão de alguns ascósporos de *V. inaequalis*, mas muito poucos, em comparação com a chuva. O forte orvalho pode desencadear a emissão dos ascósporos, mas a baixa velocidade do vento associada à formação do orvalho, ou o grosso filme de água formado nas superfícies, contribui para a deposição dos ascósporos no chão do pomar ou no interior do filme de água. Dessa forma, poucos atingirão a atmosfera, e daí a copa das árvores. Contudo, se à noite calma se seguir o vento matinal, poder-se-á conjugar uma das raras situações que permite a presença de ascósporos na atmosfera.

Dispersão e deposição dos esporos

A emissão dos esporos pelo fungo marca o início do processo de dispersão, que termina na deposição dos esporos sobre o hospedeiro. Os esporos atingem a superfície dos órgãos susceptíveis por diversos meios. Estes incluem a sedimentação, a troca na camada limite, a deposição pela turbulência, o impacto ou a lavagem pela chuva (8, 86). Quando os esporos estão presentes na atmosfera, correntes aéreas forçam o seu impacto nas superfícies. Se estas têm textura áspera, caso dos frutos ou das folhas jovens, ou se estão molhadas, a probabilidade de aí permanecerem é elevada.

Como grande número de lesões de pedrado surge na página inferior das folhas, a acção do impacto parece ter um papel importante, sendo a forma privilegiada para a atingir. Dependendo a eficiência do impacto da velocidade do vento e da diminuição

do diâmetro do obstáculo, ramos, pecíolos e pedúnculos, não ficam imunes ao estabelecimento da infecção.

Ascósporos

Nos habitats naturais a oportunidade dos ascósporos do *V. pirina* concretizarem a infecção é mais provável de acontecer com a sua deposição nos tecidos susceptíveis da árvore da qual a folha infectada se destacou. Atingir a próxima pereira, no meio de outras árvores e arbustos densos, constitui formidável desafio. A concentração do hospedeiro favorece a progressão das epidemias, facilitando o seu contacto com o **parasita**.

A concentração dos ascósporos presentes no ar decresce exponencialmente com a distância do solo. Nos pomares de pereira japonesa, a maioria dos ascósporos encontra-se nos dois primeiros metros do perfil atmosférico (197). Umemoto (197) observou que os ascósporos de *V. pirina* se dispersam a mais de 10 metros, em relação à fonte de inóculo.

Segundo MacHardy (97) a maioria dos ascósporos de *V. inaequalis* são depositados a menos de 100m do foco epidémico. Geralmente, os ascósporos não se dispersam para além do pomar de origem.

Os ascósporos são esporos relativamente pesados, com velocidades de sedimentação de 2 a 6mm/s (10, 12, 14). Assim, com vento fraco ou folhas cobertas por película de água de espessura suficiente para impedir a sua progressão, grandes quantidades serão perdidas (158). Várias experiências indicam que o número de folhas ou frutos infectados diminui exponencialmente com a distância ao foco epidémico (97, 86).

Conídios

Durante o ciclo vegetativo do hospedeiro podem existir várias gerações de lesões de pedrado. A primeira geração de lesões, também conhecida por infecção primária, dá origem a várias gerações de lesões subsequentes que dispersam o *V. pirina*. Estas constituem a **infecção secundária** do fungo.

Diferentes procedimentos foram desenvolvidos *in vitro* com o objectivo de produzir conídios de *V. pirina* de forma eficiente e mantê-los conservados a longo prazo. A

produção *in vitro* envolve a cultura na superfície estéril de gaze, saturada com extracto de malte a 10% (130) ou noutro meio sintético apropriado (19).

Os conídios formam-se naturalmente nas lesões sobre as folhas, sépalas, flores, frutos, ou mais raramente nos lançamentos. São os responsáveis pelo aumento do pedrado durante a época das infecções secundárias.

Cada lesão de *V. inaequalis* produz o máximo de 100 000 conídios (25), embora MacHardy (97), num estudo com diferentes cultivares de macieira, refira valores inferiores (até 30 000 conídios por lesão).

A esporulação de *V. inaequalis* ocorre para temperaturas de 4°C a 28°C, (16- 20°C é o intervalo óptimo) e humidade relativa de 70% a 100% (óptimo a 90%). A esporulação reduz-se para metade a 80% ou 100% de humidade relativa (97). A intensidade da radiação luminosa e o fotoperíodo não afectam o comportamento dos conídios (97), mas a ausência contínua de luz diminui a sua produção (28).

Numa experiência realizada por Tomerlin e Jones (191) plântulas inoculadas e mantidas a baixa HR (60- 70%) por 30 dias não exibiram lesões. Embora nas condições da experiência o desenvolvimento subcuticular do fungo fosse normal, as lesões não apareceram porque o fungo foi incapaz de esporular.

Os conídios são libertados principalmente durante os períodos de chuva ou orvalho. Os conídios soltam-se por um processo passivo, destacando-se do conidióforo pela acção abrasiva do vento (178). A concentração máxima de conídios de *V. pirina* e *V. inaequalis* no ar coincide com o período do dia de temperatura mais elevada (64, 109). Durante os períodos secos os conídios permanecem ligados aos conidióforos e são difíceis de destacar. Durante os dias de chuva os conídios dispersam-se dentro da copa das árvores de origem, através das gotas de água. O vento pode transportar conídios para fora da copa em pequeno número ou a curta distância. Segundo Umemoto (197) os conídios de *V. nashicola* podem viajar pelo menos oito metros em relação ao local de origem.

Em pomares comerciais de pereira, onde a protecção fitossanitária é eficaz (incidência nos frutos inferior a 1,5%) a captura de conídios nas fitas de capta-

esporos é um acontecimento raro, mesmo quando existem lesões nas árvores junto ao dispositivo (157).

Germinação e viabilidade dos esporos

Temperatura e humectação são os factores particularmente determinantes na germinação dos esporos.

Ascósporos

Umemoto (201) verificou que a germinação dos ascósporos de *V. nashicola* na superfície de água de Agar ocorre de 3°C a 28°C, com o óptimo de 15°C. Os ascósporos de *V. inaequalis* germinam numa gama de temperatura similar (0,5°C a 32°C, óptimo de 17°C) (28).

Louw, citado por MacHardy (97), ao estudar a germinação dos ascósporos de *V. inaequalis* na superfície foliar ou sobre lâminas de vidro, verificou que os ascósporos aderem fortemente às duas superfícies, no intervalo de duas horas. Quando isto acontece torna-se muito difícil deslocá-los. A germinação ocorre de modo similar nas duas superfícies contudo, na superfície foliar o *apressorium* forma-se na extremidade dum tubo germinativo mais curto. Sobreiro (157) confirmou estas observações no caso dos conídios de *V. pirina*.

Os ascósporos de *V. inaequalis* germinam e penetram o tecido vegetal directamente, com ou sem formação de *apressoria* (152). Enzimas do tipo cutinase, provenientes do fungo, parecem estar envolvidas no processo de penetração de *V. inaequalis* (85) ou *V. nashicola* (112).

Conídios

Umemoto (201) constatou que os conídios de *V. nashicola* germinaram na superfície de água de Agar para temperaturas de 3°C a 30°C. A temperatura óptima foi de 20°C. Os dados são similares aos reportados por MacHardy (97) para *V. inaequalis* (0°C a 32°C, intervalo óptimo de 16°C a 20°C). Os conídios de *V. nashicola* não germinaram em períodos de humectação inferiores a três horas e só existiu ligeira germinação ao fim de seis horas a 20°C (201). Em dois ensaios efectuados por Umemoto a 20°C,

metade da população de conídios germinou no período de 9h a 12h. Após o intervalo de 24 horas, a formação de *apressoria* nos conídios foi “muito elevada” (201). À temperatura óptima, mais de 95% dos esporos de *V. inaequalis* formaram os *apressoria* no intervalo de 24 horas (196).

Para a generalidade dos conídios germinados de *V. inaequalis* observa-se a morte da célula apical do tubo germinativo após a breve interrupção da humectação. A restante parte do conídio ou do tubo germinativo continua viável e é capaz de reiniciar o crescimento da hifa quando humectado. Becker e Burr (18) sugerem que os danos na célula apical desencadeiam a rápida obturação do poro septal, que comunica com a célula adjacente, através de **corpos de Woronin**. Os danos na célula apical ocorrem após um breve período seco de 15 a 120 minutos. Os conídios de *V. pirina* parecem possuir um mecanismo semelhante. Conídios de *V. pirina* a 20°C, depositados sobre lâminas de vidro e sujeitos a quatro períodos de humectação de 24h, alternados com períodos secos de 30 minutos, apresentaram a capacidade de formar novas hifas em pelo menos dois dos três períodos de humectação que sucederam o primeiro. A maioria dos conídios não perdeu a viabilidade após dois períodos secos (157).

No caso de *V. inaequalis*, nas experiências de Becker e Burr (18), períodos secos de 48h, 72h e 96h reduziram de 19% a 29% o inóculo viável. Os conídios exibiram maior mortalidade imediatamente após o término da humectação e embora o aumento do período seco causasse mortes adicionais, elas ocorreram gradualmente ao longo do tempo. Não existiram diferenças significativas na estimativa da mortalidade de conídios sujeitos a períodos secos de 15 minutos a 12 horas.

Quanto à viabilidade dos conídios expostos às condições atmosféricas, Aylor e Sanogo (13) verificaram que a radiação solar não era, aparentemente, forte impedimento à sobrevivência de conídios de *V. inaequalis* destacados e depositados em folhas, até períodos de 12 horas. Conídios não expostos à radiação solar directa (ex. depositados no interior da copa das árvores) e sujeitos a temperaturas de 20°C a 30°C, não sofreram decréscimo significativo da faculdade germinativa. Assim, segundo os autores, existe forte razão para acreditar que os conídios depositados em

folhas do interior da copa das árvores possam sobreviver dois ou mais dias no pomar.

Factores abióticos e bióticos com influência na infecção de folhas e frutos

A temperatura e a humectação das superfícies, resultado de chuva ou orvalho, em conjunto com a humidade relativa presente no ar envolvente, são os factores **abióticos** mais determinantes na infecção dos ascósporos e conídios de *V. pirina*. Densidade de inóculo, cultivar e fase do ciclo vegetativo da pereira (quantidade e qualidade do tecido vegetal susceptível à infecção) são os factores bióticos com influência marcante no nível de infecção.

Aspectos abióticos

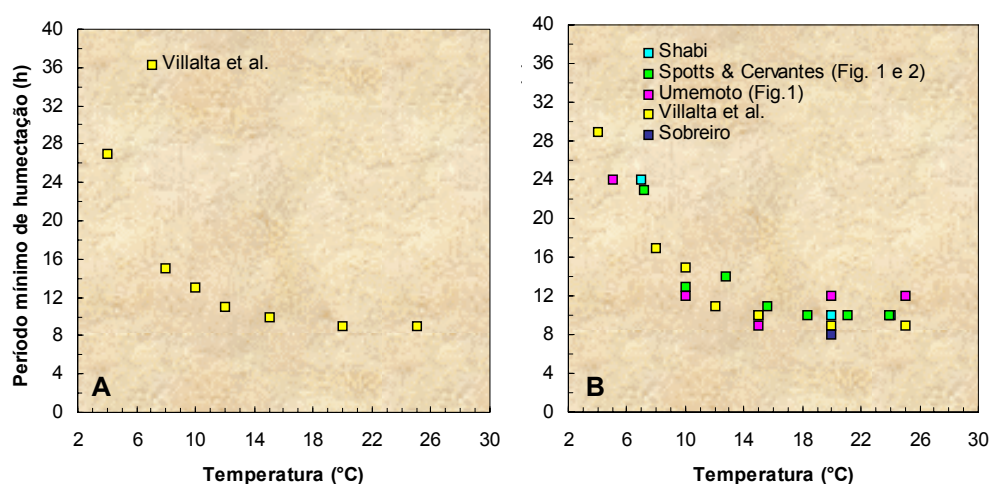


Fig. 11 Período mínimo de humectação observado a cada temperatura para expressão do pedrado da pereira, após inoculação laboratorial por ascósporos de *Venturia pirina* **A** e conídios de *V. pirina* ou *V. nashicola* **B** (148, 157, 168, 205).

Com base em diferentes estudos laboratoriais (148, 157, 168, 205), relacionando o período de humectação com a temperatura, determinou-se o período mínimo de humectação necessário à infecção por ascósporos e conídios (Fig. 11). Não existem diferenças significativas no período mínimo necessário à infecção da pereira por ascósporos de *V. pirina* e conídios de *V. pirina* ou *V. nashicola*. Como os ensaios foram realizados em laboratório, inoculando as folhas do hospedeiro no período de

máxima susceptibilidade e utilizando quantidade elevada de inóculo, os valores são conservadores na maioria das condições observadas nos pomares (157).

A temperatura ótima para a infecção do *V. pirina* é de 20°C a 21°C (148, 157, 158, 168, 205). No intervalo de 15°C a 25°C a infecção é máxima. A temperatura mínima para a infecção de *V. pirina* e *V. inaequalis* é geralmente superior a 1°C e a máxima inferior a 30°C (25, 148, 205). A temperatura ótima de infecção pelos dois tipos de esporos de *V. pirina* ou *V. nashicola* em pereira e *V. inaequalis* em macieira é muito semelhante (25, 78, 97, 100, 107, 140, 148, 157, 168, 201, 205).

O período mínimo de humectação contínua necessário à infecção de *V. pirina* por conídios é de oito horas (157). Os esporos de *V. inaequalis* necessitam, dentro do intervalo ótimo de temperatura, o mínimo de seis horas contínuas de humectação, para infectarem os tecidos do hospedeiro (78, 79, 97, 111, 140, 176, 181). Após 24 a 30 horas de humectação à temperatura ótima o nível de infecção, expresso pelo número de lesões causadas, atinge o seu máximo (97, 201, 205). Quando o período de humectação é interrompido por um período seco de duração superior a 30 minutos a evidência mostra que os conídios de *V. pirina*, de modo semelhante aos conídios de *V. inaequalis*, interrompem o seu ciclo de infecção (157). Deste modo, nestas circunstâncias, considera-se findo o período de humectação anterior e assume-se o início de um novo período de humectação. A inviabilidade da parte terminal do tubo germinativo do conídio determina a formação de novo tubo germinativo. A humidade relativa interfere na rapidez de secagem das superfícies, condicionado os períodos de humectação.

Em geral, a mortalidade de esporos atribuída aos períodos de secagem pode provocar reduções no número de lesões posteriormente desenvolvidas.

Aspectos bióticos

Aparentemente, o número de infecções é proporcional à densidade do inóculo depositado ao acaso na superfície do tecido vegetal susceptível.

Spotts e Cervantes (168) utilizando concentrações conidiais de *V. pirina* de 0 a 50000 conídios/mL encontraram a relação linear entre a concentração do inóculo e o

número de folhas infectadas por lançamento, e entre a concentração do inóculo e o número de lesões por folha ou lançamento. Segundo os autores, a concentração de inóculo de 1×10^5 conídios/mL não aumentou a infecção, quando comparada com 5×10^4 conídios/mL. Segundo Hartman *et al.* (58) a aplicação de conídios de *V. inaequalis* na concentração de 1×10^4 conídios/mL e a duplicação do período de humectação, ou a aplicação de 25×10^4 conídios/mL mantendo o período de humectação, tiveram efeito equivalente na incidência do fungo em folhas de macieira (incidência elevada). Isto mostra que a relação entre o inóculo e a incidência são linearmente independentes do período de humectação.

As folhas são susceptíveis ao *V. pirina* durante a fase de expansão. Cerca de 15 dias após o início deste processo as folhas estão totalmente expandidas e tornam-se resistentes. A susceptibilidade das folhas expandidas volta a aumentar no Outono, observando-se então, ou a expressão de infecções latentes desde a Primavera, ou a presença de novas infecções, caracterizadas pelo crescimento difuso do fungo nos tecidos vegetais (157).

Stadelmann e Schwinn (171) estudaram o número total de microorganismos nas folhas, concluindo que o valor na macieira era superior ao da pereira provavelmente pela maior quantidade de pêlos presente na face abaxial. Essa circunstância resultava na menor lexiviação de nutrientes exsudados pela chuva e também no microclima mais favorável à proliferação de microorganismos saprófitas. A presença de lesões de *V. inaequalis* ou *V. pirina* favorecia o crescimento dos saprófitas num valor 16 a 77 vezes superior.

Os frutos jovens (cv Rocha) são os mais susceptíveis, diminuindo a sua susceptibilidade ao longo da estação. Os frutos são muito susceptíveis do botão verde (estado D) ao vingamento, aumentando a resistência à infecção pelo aproximar da maturação. No início da estação, são mais frequentes nas jovens peras as lesões no cálice ou lesões laterais. No fim da estação, a pêra fica pendente e as lesões tornam-se comuns junto à fossa apical, devido à maior humectação nessa área. Na pereira japonesa (cv. Kosui) a susceptibilidade é muito alta do estado fenológico de botão verde (D) até 15 dias após a floração. A susceptibilidade decresce então dos 25 aos 50

dias após a floração. Depois desta fase, a susceptibilidade volta a aumentar e os frutos atingem uma fase de grande susceptibilidade de 75 a 90 dias após a floração (203). Na macieira a susceptibilidade dos frutos ao *V. inaequalis* decresce ao longo da estação (142, 144).

Existe a influência marcada do nível de certos nutrientes minerais no aumento ou decréscimo da susceptibilidade da pereira japonesa à infecção por *V. nashicola*. Segundo Umemoto (200), a aplicação excessiva de azoto está directamente relacionada com o aumento da incidência de *V. nashicola* nas folhas da pereira (cv. Chojuro). Existe a correlação positiva significativa entre o azoto total na terceira ou sétima folha e a incidência da doença. No mesmo estudo, 2,69% de azoto total na sétima folha é tido como o limite que separa a circunstância favorável a baixo nível de incidência de pedrado, da favorável ao nível elevado. Aplicações de azoto acima de 50 ou de 100 kg/ha provocaram até 50% de aumento de pedrado nas folhas. Existe também uma relação negativa entre o teor de cálcio nas folhas e a incidência de pedrado. Os resultados mostraram que o aumento da fertilização azotada aumenta o azoto total e o magnésio nas folhas, decrescendo o conteúdo em cálcio das mesmas, favorecendo assim a maior susceptibilidade da pereira japonesa ao pedrado.

Factores abióticos e bióticos com influência no período latente

Para a temperatura e a humidade relativa mais elevadas as lesões tornam-se mais numerosas e aparecem mais cedo. A temperatura é o factor abiótico mais importante na duração do **período latente** (127, 225). A densidade do inóculo, a cultivar, e a idade das folhas ou frutos condicionam igualmente a duração do período latente.

Factores abióticos

O período latente depende da temperatura e da humidade relativa.

Em plântulas de pereira ou em jovens pereiras envasadas (cv. Rocha), inoculadas por conídios e colocadas a 20°C em condições de 90% a 95% de HR, as lesões iniciaram o seu aparecimento ao fim de 10 e 11 dias, respectivamente. Normalmente, o menor período latente observado em pomares de pereira (cv. Rocha) situados na região do Oeste de Portugal é de 12 a 18 dias (157).

Tomerlin e Jones (191) constataram a dependência da duração do período latente de *V. inaequalis* da humidade relativa do ar que rodeia o hospedeiro. As lesões não se desenvolveram em plântulas inoculadas e mantidas continuamente a níveis baixos de HR (60- 70%), nem em plântulas mantidas a baixa HR, após três a seis dias de permanência em condições de 95% a 100% de HR, durante os 30 dias da experiência. Em macieira, para condições de humidade relativa superior a 95% e a 20°C, observou-se o período latente de cerca de 10 dias. O período latente foi significativamente mais longo (15 e 18 dias) quando as plântulas permaneceram nove ou 12 dias a baixa HR, respectivamente, antes de serem transferidos para alta HR.

O período latente em frutos perto da maturação pode durar vários meses e as lesões só se evidenciarem durante o processo de conservação frigorífica das peras (168) ou das maçãs (142, 144, 190).

Em traços gerais, o período latente decresce um dia por cada 1,11°C adicionado num intervalo de temperaturas de 9,5°C a 18,5°C. Na temperatura óptima de cerca de 20°C o período latente atinge o seu mínimo. Aparentemente, o período prolongado de baixa HR, ao invés de impedir a colonização do fungo sob a cutícula, atrasa consideravelmente o aparecimento das lesões ao impedir a esporulação. Este fenómeno pode ser particularmente importante em regiões de clima seco.

Factores bióticos

Umemoto (201) determinou, para a pereira das cultivares Chojuro e Kosui, inoculadas por ascósporos e conídios de *V. nashicola* em ambas as páginas da folha e mantidas numa estufa sem qualquer regulação climática, um período latente mínimo de 13 e 16 dias, respectivamente. A concentração de esporos utilizada foi de 10⁵ esporos/mL. Quando a inoculação foi realizada na página superior das folhas com uma concentração de esporos 10 vezes inferior, o menor período foi de 16 e 38 dias para ascósporos e 14 e 22 dias para conídios.

Shabi (148) refere períodos latentes de *V. pirina* de oito dias nas folhas jovens de pereira a mais de 60 dias nas folhas velhas. A presença de **resistência ontogénica**, em folhas totalmente expandidas ou em frutos perto da maturação, na altura da

inoculação, pode prolongar o período latente. Em folhas de macieira totalmente expandidas (adultas) o período latente pode prolongar-se por 56 ou mais dias devido à resistência ontogénica que inibe o *V. inaequalis*, logo após a penetração na cutícula (97, 139).

No caso de infecções foliares, dois períodos latentes distintos poderão existir no mesmo lançamento: o período curto nas folhas jovens em expansão (sem resistência ontogénica) e o período mais longo nas folhas velhas, nas quais a resistência ontogénica está presente. Várias semanas poderão separar os dois períodos. Este facto pode ter implicações nas estratégias de protecção.

Aspectos de protecção em ecossistemas agrários

A história da protecção ao pedrado da pereira e macieira remonta ao final do século XIX. Na década de 1880 foram iniciadas as primeiras experiências de protecção ao pedrado, utilizando calda bordalesa, seguindo a história de sucesso protagonizada pela utilização desta calda na protecção do míldio da videira (*Plasmopara viticola* Berk e Curt). Segundo MacHardy (97) iniciava-se a aplicação da calda quando os jovens rebentos das árvores atingiam seis a oito centímetros de comprimento ou ao vingamento dos frutos (36), e o sucesso do tratamento dependia da sua realização em intervalos de 14 dias. Cedo se evidenciou o aumento da carepa nos frutos, causada pela calda bordalesa. Na primeira década do século XX, outros compostos utilizados na protecção do pedrado eram: o arsenito de chumbo, a nicotina, a calda sulfocálcica ou o enxofre em pó, no entanto bastante menos populares que a calda bordalesa.

Após 1940, a procura de peras e maçãs com epiderme perfeita fomentou de forma sustentada a protecção do pedrado baseada na aplicação de produtos fitofarmacêuticos.

Protecção cultural e os primeiros sistemas de avisos

Quando, em 1896, Aderhold resolveu o mistério do modo de hibernação do fungo surgiram as primeiras formas de protecção cultural, baseadas na destruição das folhas da manta morta no Outono ou ao início da Primavera. Curtis (41) verificou em 1922 que o enterramento das folhas, através da lavoura, diminuía o quantitativo de

pedrado hibernante em cerca de 70%. A queima das folhas seguida de enterramento é um método efectivo de redução do pedrado, todavia demasiado lento e oneroso para a utilização prática em pomares comerciais (97). Diferentes estratégias de erradicação do fungo foram desenvolvidas de 1920 a 1940 com o objectivo de baixar a população hibernante de pedrado e assim as infecções no ano seguinte. Outro objectivo colateral destas estratégias era permitir a aplicação de compostos químicos menos eficientes na protecção ao pedrado, ou reduzir o número de aplicações por ciclo cultural (119). Contudo, o aparecimento na década de 1940 de fungicidas orgânicos, pouco fitotóxicos e bastante eficazes, eliminou a necessidade de tais estratégias. Na mesma década, e com o intuito de melhorar a oportunidade dos tratamentos fungicidas, surgiu o **sistema** de previsão de Mills (93, 107). O sistema permitia a aplicação do enxofre molhável imediatamente após a ocorrência de chuvas prolongadas na Primavera, de forma a maximizar a sua eficácia e travar a progressão do fungo. Os avisos eram emitidos por telefone ou via rádio. Com o sistema de Mills as aplicações fungicidas destinavam-se às condições de infecção e assim, entendido pelos agricultores, como uma melhoria na eficácia dos fungicidas e a forma de redução de custos (123, 124). Desprezada por muitos agricultores era a simples ideia dum tratamento erradicante adicional, fora do ciclo cultural da pereira.

Fungicidas: o desaparecimento dos inorgânicos e o início da era dos orgânicos

As principais desvantagens dos fungicidas inorgânicos eram a fitotoxidade para as árvores e o seu resultado na redução da colheita (94), assim como a dificuldade de preparação das caldas. A calda bordalesa foi substituída por soluções mais vantajosas. O início da era dos fungicidas orgânicos ocorre segundo MacHardy (97) quando, em 1934, Tisdale e Williams referem a acção e patenteiam os compostos ditiocarbamatos em 1934. O Ferbam, o primeiro fungicida activo para o pedrado, foi difundido mundialmente. Durante as décadas de 1940 e de 1950 seguiram-se outros fungicidas ditiocarbamatos preventivos para o pedrado (zinebe, manebe, mancozebe e tirame). A captana (153) apareceu em 1951, seguida do folpete e do metirame. Em 1959 surge o primeiro fungicida orgânico preventivo e curativo para o pedrado, a dodina. Durante a década de 1970 difunde-se o benomil, o primeiro fungicida curativo de

acção sistémica, capaz de se difundir entre folhas adjacentes. Szkolnik (183) definiu a acção sistémica do seguinte modo: “a absorção do fungicida pela folha e o seu movimento no ramo para uma ou mais folhas (ou frutos), acima ou abaixo dela, em concentração suficiente para exercer actividade contra o organismo ou seus efeitos nocivos”. Durante a década de 1970 generalizou-se o aparecimento de resistência do pedrado à dodina e ao benomil nos pomares comerciais. Uma nova geração de fungicidas aparece na década de 1980: os inibidores da biossíntese dos esteróis (IBE), como bitertanol, fenarimol, miclobutanil, fluzilazol e triforina. Este grupo de fungicidas afecta a síntese da membrana celular do fungo quando o fornecimento do ergosterol é interrompido (87). A década de 1990 foi caracterizada pelo aparecimento de dois novos grupos com acção no pedrado; as estrobilurinas (ex. cresoxime-metilo) e as anilinopirimidinas (ex. pirimetanil, ciprodinil). As estrobilurinas inibem a respiração, bloqueando o complexo mitocondrial bc1, parando a transferência de electrões e a síntese de ATP do fungo (223). As anilinopirimidinas inibem a síntese da metionina e a secreção das enzimas hidrolíticas.

Tipo de acção dos fungicidas

Terminologia para os tipos de acção fungicida

Alguns fungicidas actuam eficazmente se aplicados antes da infecção. Outros há, cuja acção se exerce só após a infecção. Certas substâncias activas complementam a sua acção, impedindo o desenvolvimento da esporulação, se aplicadas antes ou após o desenvolvimento dos sintomas. Os diferentes tipos de acção definem-se por preventivo, curativo, pré-sintoma ou pós-sintoma (183, 184).

Acção preventiva: a acção química do fungicida evita a infecção do fungo. O fungicida com estas características deve ser aplicado antes ou durante o período de humectação, mas antecedendo a infecção. O fungo é bloqueado antes de penetrar a cutícula ou de estabelecer a infecção abaixo da cutícula (ex. captana).

Acção curativa: a acção química do fungicida trava a colonização do fungo após a infecção ocorrer. Nos fungicidas actuais, a acção curativa exerce-se se aplicados de oito a 120 horas após o início do **período de infecção** (ex. triforina).

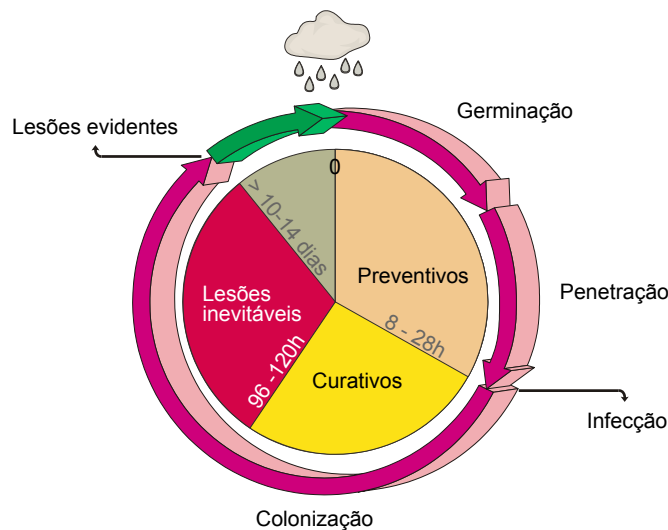


Fig. 12 Fases do ciclo de infecção do fungo *Venturia pirina* apresentando os diferentes períodos de eficácia. Os fungicidas de acção preventiva actuam desde o início da germinação até à infecção. Os fungicidas de acção curativa actuam no interior dos tecidos vegetais após a infecção e antes do aparecimento dos sintomas. Os fungicidas com características anti-esporulantes não impedem a formação de lesões contudo limitam a formação de micélio ou de conídios sobre as lesões, se aplicados antes ou depois do aparecimento das lesões (156, 158).

Ação pré ou pós-sintoma: a acção do fungicida suprime a esporulação ou o micélio constituinte das lesões. A acção anti-esporulante ocorre se aplicados após 120 horas do início do período de infecção (158). As lesões desenvolvem-se cloróticas, ou observam-se sem esporulação.

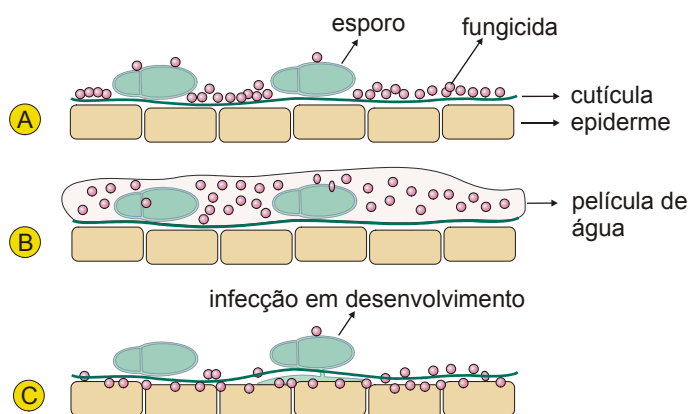


Fig. 13 Os fungicidas de acção exclusivamente preventiva actuam acima da cutícula dos tecidos vegetais impedindo a germinação ou a penetração dos esporos **A**. Actuam durante os períodos de humectação pelas moléculas absorvidas no interior dos esporos **B**. Os fungicidas de acção curativa são absorvidos através da cutícula dos tecidos vegetais actuando no espaço subcuticular sobre as hifas primárias e secundárias de *Venturia pirina*, após a infecção, bloqueando o avanço da colonização do fungo **C** (161).

Os diferentes tipos de acção estão referenciados na Fig. 12 de acordo com as etapas do ciclo de infecção do pedrado.

A actividade do fungicida preventivo ocorre à superfície da cutícula logo que o esporo absorve água, após o início do período de humectação (Fig. 13). A acção curativa acontece quando as moléculas fungicidas atingem o espaço subcuticular e bloqueiam o processo de colonização do fungo.

Propriedades químicas de algumas substâncias activas fungicidas

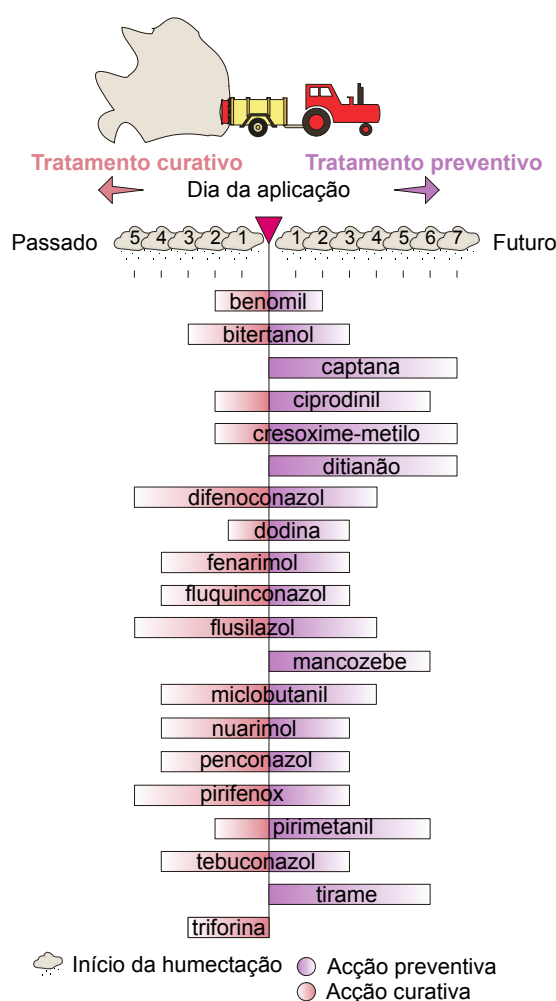


Fig. 14 Período mínimo de acção de diferentes substâncias activas fungicidas após o momento da aplicação, nas doses de aplicação recomendadas pelos fabricantes e na ausência de arrastamento do depósito fungicida inicial (155, 158).

Na Fig. 14 resume-se o tipo de acção e o período mínimo de acção de algumas substâncias activas utilizadas na protecção do pedrado da pereira, reportadas em

relação ao momento da aplicação. As formulações comerciais incluem diversas misturas realizadas com base nas substâncias activas existentes, procurando aumentar a eficácia, através da combinação de substâncias activas de acção complementar.

Os fungicidas com cobre são fracos preventivos para o pedrado, sem propriedades curativas. A aplicação de cobre à ponta verde só se justifica caso se manifeste carência de cobre nos pomares e na presença de baixo nível de inóculo (141).

A temperatura pode influenciar a acção curativa dos fungicidas ao alterar a permeabilidade da cutícula. Os fungicidas IBE dependem da temperatura para atingir o espaço subcuticular. Para temperaturas abaixo de 12°C, a menor concentração de fungicida abaixo da cutícula torna-o menos eficaz sobre a colonização dos tecidos vegetais pelo fungo após a infecção (113). No caso das estrobilurinas e das anilino pirimidinas, a sua acção parece independente da temperatura, talvez devido a diferenças na polaridade das suas moléculas ou à dimensão destas. Estes grupos actuam no espaço subcuticular, independentemente do valor da temperatura no momento da aplicação, sendo úteis em situações de baixa temperatura, vulgares no início da Primavera.

Melhoria do equipamento e da técnica de aplicação

Em simultâneo com os novos compostos fungicidas surgem novos pulverizadores que melhoram a técnica de aplicação de caldas. As turbinas axiais de jacto transportado foram introduzidas no início de 1950 e permitiram aumentar a área tratada e a eficiência do tratamento. O aparecimento das aplicações a baixo volume permitiu reduções no volume de água e na dose de fungicida por unidade de área tratada (cerca de 20%). Mais área pode então ser tratada e menor número de vezes é necessário encher os tanques (125). Novas técnicas de aplicação (Tree Row Volume - TRV) surgidas nos últimos anos ajustam a dose de aplicação ao volume das árvores e ao índice de área foliar (179, 180). Contudo, em Portugal a aplicação de pesticidas seguindo o método de cálculo do volume das linhas das árvores ainda não é prática corrente.

Programas de protecção integrada de doenças

Na década de 1980 os programas de protecção ao pedrado consistiam em manter a incidência do fungo nos frutos abaixo de 1%. Normalmente, os programas de protecção apoiavam-se exclusivamente na protecção química, facto corrente devido ao esforço científico ser fundamentalmente canalizado para a descoberta de novas substâncias activas, técnicas, material de aplicação e estratégias de aplicação de fungicidas (97, 114, 115, 215). As recomendações eram realizadas com base no território nacional ou nas particularidades regionais de cada país. Considerações sobre a susceptibilidade varietal ou as particularidades de cada pomar não eram avaliadas no momento da decisão. Assumia-se que o nível de inóculo em todos os pomares era suficientemente alto para conduzir a prejuízos, caso as aplicações rotineiras de fungicidas não fossem realizadas. Nos pomares comerciais o esforço de tirar vantagem do baixo nível de inóculo conseguido no ano anterior, devido à estratégia de protecção eficaz, era ausente. Na década de 1990 o Mundo assistiu a uma mudança profunda na protecção das doenças, consolidada pela crescente consciência ambiental.

Estratégias baseadas em factores abióticos

Este tipo de estratégia só depende das propriedades dos fungicidas ou de outros compostos químicos e da previsão dos períodos de infecção.

Estratégia preventiva (Fig. 15)

Baseia-se na acção preventiva dos fungicidas e nas previsões meteorológicas. Os tratamentos fungicidas são aplicados em intervalos regulares de sete a 10 dias.

Vantagens:

- permite proteger os períodos de infecção por antecipação;
- para períodos do ano onde as infecções são frequentes e próximas.

Desvantagens:

- elevado número de tratamentos fungicidas;
- elevado número de passagens nos pomares;

- eficaz quando se consegue aplicar o fungicida antes dos períodos de infecção.

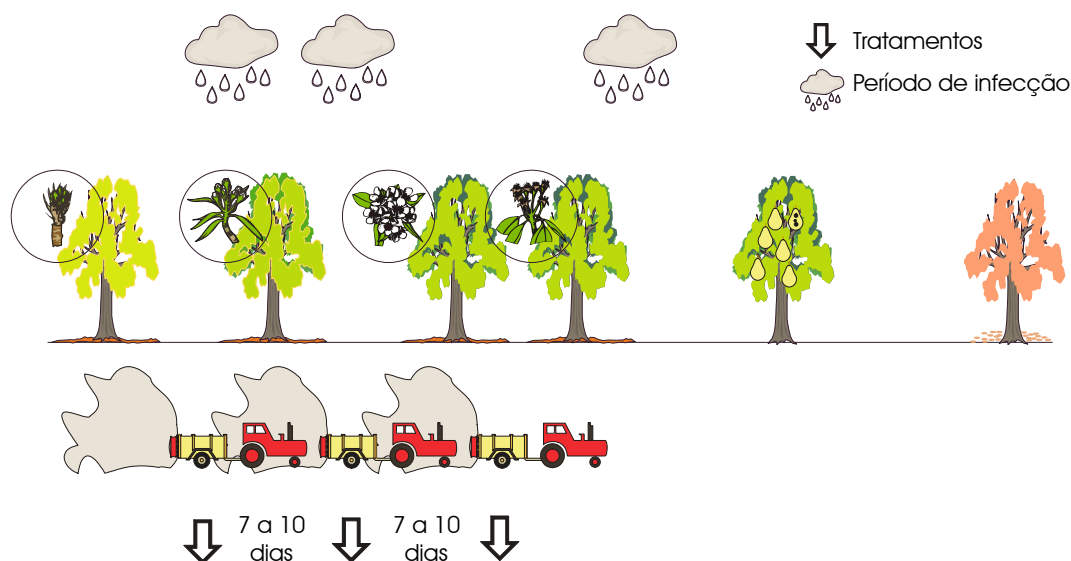


Fig. 15 Estratégia preventiva de protecção a *Venturia pirina*. Baseia-se na aplicação de fungicidas de acção preventiva antes ou durante os períodos de infecção. Nos períodos de maior risco à doença efectuam-se tratamentos em cobertura total baseados no período da acção preventiva do fungicida (actualmente de sete a 10 dias) (164).

Estratégia curativa (Fig. 16)

Baseia-se na acção curativa dos fungicidas e na previsão dos períodos de infecção através de dados climáticos. Os tratamentos devem ser realizados até quatro a cinco dias após o início do período de infecção.

Vantagens:

- os fungicidas são aplicados após a detecção de períodos de infecção;
- para períodos de infecção espaçados no tempo;
- para explorações agrícolas pequenas ou com grande capacidade de resposta.

Desvantagens:

- após o início do período de infecção, a acção curativa dos fungicidas actuais não supera 4-5 dias;
- os fungicidas de maior acção curativa têm acção preventiva curta, 3-4 dias;
- os fungicidas curativos têm custos mais elevados.

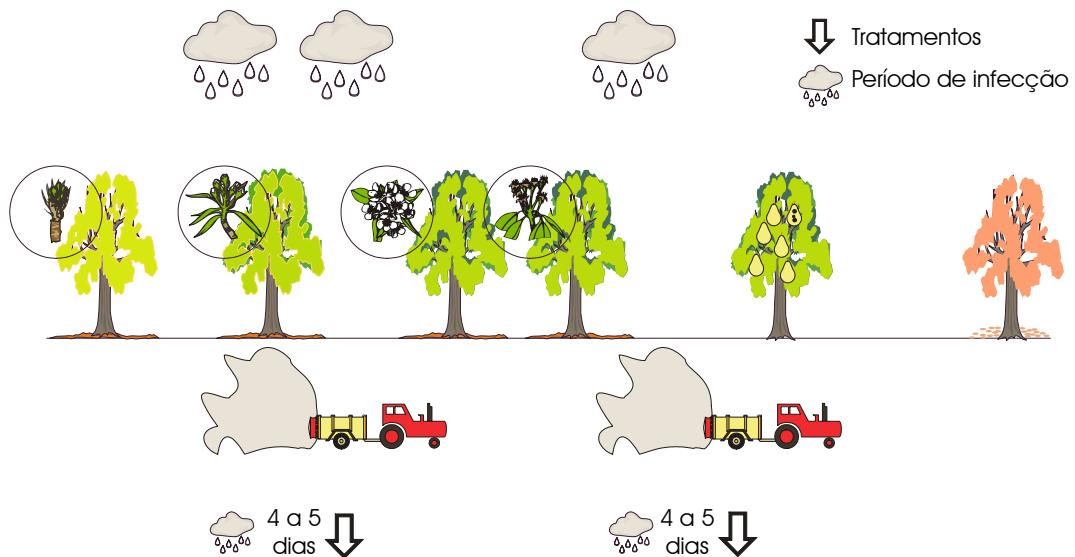


Fig. 16 Estratégia curativa de protecção a *Venturia pirina*. Baseia-se na aplicação de fungicidas de acção curativa, após a previsão dos períodos de infecção. Os tratamentos são realizados no intervalo inferior ao período de acção retroactiva do fungicida curativo (actualmente inferior a cinco dias). Depende da previsão dos períodos de infecção (164).

Estratégia mista (Fig. 17)

Procura associar as vantagens da estratégia preventiva com as da estratégia curativa. Os tratamentos são realizados até quatro a cinco dias após a previsão do período de infecção. A mistura de substâncias activas com acção preventiva garante a protecção adicional nos sete dias seguintes ao tratamento.

Vantagens:

- permite diminuir o número de aplicações fungicidas;
- permite aumentar o intervalo entre as aplicações;
- para situações meteorológicas instáveis e de alto risco;
- retarda o aparecimento de resistência aos fungicidas pois baseia-se em substâncias activas com tipos de acção distintos.

Desvantagens:

- tratamentos mais caros;
- não tem em conta as particularidades do pomar.

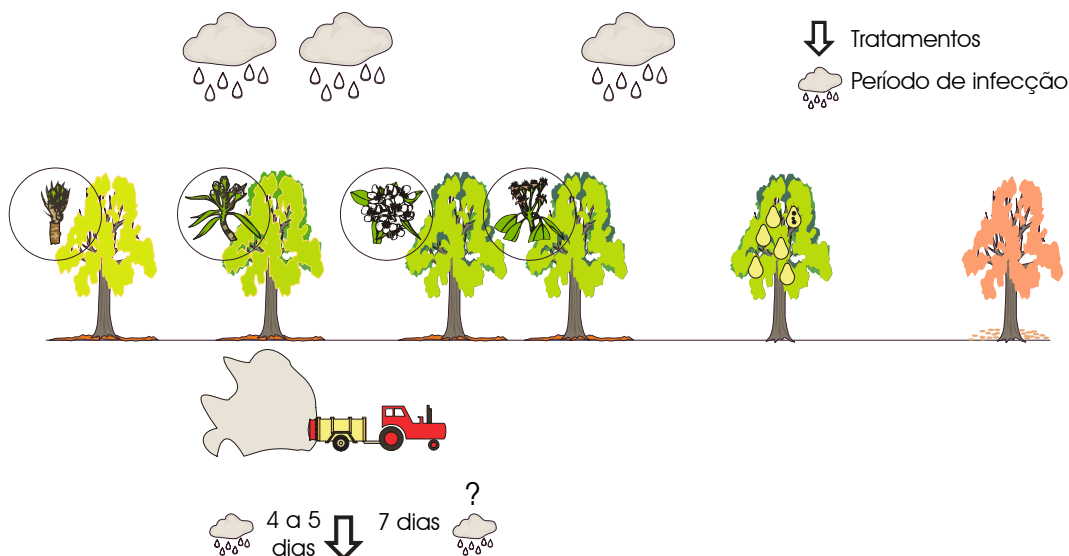


Fig. 17 Estratégia mista de protecção a *Venturia pirina*. Baseia-se na aplicação de fungicidas de acção preventiva e curativa, após a previsão dos períodos de infecção. Os tratamentos são realizados no intervalo inferior ao período de acção retroactiva do fungicida curativo (actualmente inferior a 5 dias). Depende da previsão dos períodos de infecção. Deve ser utilizada em períodos de elevado risco de pedrado pois prolonga a cobertura do tratamento curativo, permitindo deste modo evitar futuros períodos de infecção (164).

Estratégias anti-resistência

As estratégias anti-resistência procuram manter a estrutura genética da população do fungo *V. pirina* em relação ao aumento da frequência de resistência. A aplicação de fungicidas pode alterar o equilíbrio no seio da população de pedrado através do desenvolvimento de raças com características específicas, as quais englobam por vezes a resistência a determinados compostos químicos. As novas raças condicionam o modo como o Homem efectua a protecção às populações de pedrado nos ecossistemas agrários, tornando muitas técnicas de protecção insustentáveis a médio ou longo prazo. Os fen menos de resistência a certas substâncias activas adv m destas actuarem em mecanismos muito específicos do fungo, passíveis de sofrerem evoluções, criando vias metabólicas alternativas. No seio das substâncias activas actuais, as com maior probabilidade de sofrerem processos de resistência englobam os compostos unisítio (o modo de acção do fungicida exerce-se sobre uma etapa específica duma via metabólica do fungo). A dodina e os benzimidazóis foram as primeiras substâncias activas onde o fenómeno foi detectado, após 1977, em macieira

(75, 88, 105, 135, 138) e pereira (68, 147, 149, 204). Existem procedimentos para a detecção deste tipo de resistência no campo (83, 84) ou em laboratório (204).

Também a família das anilinopirimidinas (24), das estrobilurinas (23, 117) e dos IBE (121) são passíveis de exercer deriva genética nos fungos o que conduzirá inevitavelmente à diminuição da sua eficácia.

Os fungicidas multisítio como as ftalimidas (ex. captana, folpete), os ditiocarbamatos (ex. mancozebe, tirame), o ditianão e o enxofre, actuam no fungo simultaneamente em diferentes etapas de vias metabólicas distintas, diminuindo a probabilidade de ocorrência de deriva genética direccional na população dos fungos.

A manutenção do baixo nível de resistência química no seio duma população de *V. pirina* pode ser realizada de diferentes formas, incluindo a restrição do número de aplicações por família química, no caso de fungicidas unisítio. Outra alternativa será a mistura de substâncias activas com diferentes características químicas (ex. fungicidas unisítio e fungicidas multisítio) o que será preferível do ponto de vista da eficácia, à alternância entre famílias uni e multisítio (76). Uma estratégia frequentemente utilizada foi a aplicação de compostos unisítio antes da queda da folha com o objectivo de evitar a formação de pseudotecas (26, 97). Contudo, este tipo de estratégia deve ser evitado por favorecer a selecção de raças menos susceptíveis e o seu posterior emparelhamento.

Estratégias de protecção cultural

O tipo de sistema de rega adoptado no pomar pode promover o aumento da incidência de pedrado, se a rega é realizada sobre a copa das árvores. Sugar e Lombard (177) observaram que a incidência de *V. pirina* nos frutos aumentava cerca de 10% durante o Verão no Oregon, consequência de cinco regas por aspersão com 18h de duração, à taxa de 4,25mm/h. O aumento médio da incidência nos blocos com rega ao nível do solo foi de apenas 1,7%.

A aplicação de herbicida sob a copa das árvores e o tipo de herbicida utilizado (129) condicionam o comportamento da fase sexual do fungo. A aplicação outonal de diurão na concentração de 0,2% reduziu em 78% o número de ascos formados nas

pseudotecas de *V. pirina* (77) e o mesmo tratamento realizado de Dezembro a Fevereiro foi igualmente eficaz.

A alteração química das características da manta morta é outro factor a considerar. Aplicações de ureia na concentração de 2% (90) a 5% (22, 33, 34, 216, 220), ou a aplicação de calcário dolomítico (166) à queda das folhas, foram suficientes para reduzir em mais de 80% a produtividade e mais de 45% da dose potencial de ascósporos (PAD) presentes na manta morta (90, 166).

Drapaux *et al.* (43) verificaram em França que aplicações de ureia na dose de 5kg/ha ou 10kg/ha, reduziram 98% a 99% a emissão dos ascósporos de *V. pirina* e *V. inaequalis* na Primavera seguinte. Os tratamentos foram realizados de Novembro a Janeiro.

Em Inglaterra, a imersão de folhas de pereira infectadas por *V. pirina* em solução de 3% a 5% de ureia no Outono, suprimiu a formação de ascósporos na Primavera seguinte. Quando a imersão das folhas ocorreu no fim do Inverno, antes do intumescimento dos gomos das árvores, só parcialmente foi suprimida a formação dos ascósporos. Tratamentos realizados no Outono e repetidos no fim do Inverno nas concentrações acima indicadas, suprimiram a emissão dos ascósporos, mas estimularam a produção de conídios nas lesões dos ramos (216).

Na Jugoslávia (15) ureia aplicada a pereiras (cv. Williams) imediatamente após a colheita, na concentração de 4%, evitou a formação das pseudotecas de *V. pirina*. Segundo o autor, cinco tratamentos primaveris com fungicidas conferiram melhor protecção às árvores tratadas com ureia, relativamente aos oito tratamentos efectuados em árvores não pulverizadas com ureia.

Nalguns casos, as aplicações de ureia foram realizadas com concentrações entre 5% e 10% (15, 77, 102, 188, 189). Na Alemanha, aplicações outonais de ureia a 5,5% (1300L/ha) suprimiram a produção de ascósporos de *V. pirina* em 99,7%, estimativa realizada à maturação das pseudotecas, em folhas de pereira Beurré Hardy (102). Aplicações primaveris de ureia a 7% sobre as folhas de pereira na manta morta reduziram de 78% a 81% a formação dos ascósporos de *V. pirina* (189), ou 64,5% quando a ureia foi aplicada a 5% (188). Aplicações realizadas no Outono, após a

queda da folha, foram nestes casos menos eficazes (188, 189). Noutro estudo, realizado ao Outono, aplicando ureia na concentração de 7%, reduziu-se o número de ascos de *V. pirina* formado nas pseudotecas em 98% (77).

Um estudo recente realizado em macieira demonstrou que a aplicação outonal de ureia a elevada concentração (superior a 5%) danifica os gomos da macieira (220).

O aumento de pH na cutícula das folhas da pereira ou da macieira pode influenciar negativamente a germinação dos esporos na superfície foliar (211, 212, 219). Seis a dez aplicações de hidróxido de cálcio a 2% reduziram significativamente a incidência de pedrado nos frutos (até 41%) ou nas folhas da pereira (até 89%) (212).

Estratégias de protecção baseadas em factores bióticos

As estratégias biológicas têm por finalidade diminuir a população do fungo por intermédio de organismos vivos.

Estratégias de protecção biológica

Este tipo de estratégia consiste em aplicar um fungo antagonista (ex. *Athelia bombacina*) às folhas do hospedeiro, após a sua queda (6, 29, 39, 40, 61, 222). O fungo ao desenvolver-se decompõe as folhas impedindo a formação das pseudotecas de *V. inaequalis*. Pode ser uma estratégia interessante para diminuir o impacto do inóculo hibernante do fungo na Primavera seguinte e também para evitar o aparecimento de resistência aos fungicidas.

Estratégias de protecção cultural

Neste tipo de estratégia, a forma e altura ideais da copa das árvores são importantes para minimizar a intercepção dos esporos primários do fungo ou reduzir os períodos de humectação. São igualmente aspectos a considerar a orientação das linhas das árvores, em relação aos ventos dominantes, a altura ao solo da inserção das primeiras pernadas, assim como o compasso mais favorável. Num estudo de três anos, na China, a infecção de *V. nashicola* atingiu 12,1% das folhas no interior da copa e 5,4% no exterior da copa das pereiras. Pereiras plantadas no compasso 5× 4m, apresentaram 15,8% dos frutos infectados, enquanto outras plantadas a 4× 2m, foi observada 29,6% de infecção nos frutos (74). O vigor da árvore parece interferir

também no grau de susceptibilidade ao pedrado. Jia e Jia (74) verificaram que as árvores de menor vigor eram as mais infectadas. As árvores podadas no Inverno, de normal vigor vegetativo na Primavera seguinte, apresentaram menor infecção.

Outro factor importante é o tipo de coberto vegetal presente no solo dos pomares, as espécies envolvidas e a cadência dos cortes ocorridos, especialmente durante a época das infecções primárias.

Estratégias de protecção genética

Neste tipo de estratégia, cultivares com diferentes graus de susceptibilidade ao pedrado são plantadas de modo a promover a biodiversidade na população do fungo. Do ponto de vista teórico, a melhor situação seria seleccionar três a quatro cultivares, com diferentes graus de susceptibilidade ao pedrado (35) e efectuar a sua plantação aleatória. Do ponto de vista agronómico, tal facto só seria possível com cultivares de grande semelhança fisiológica de forma a facilitar as diferentes tarefas agrícolas, caso da colheita. Desta forma, ao promover a deriva genética da população do fungo, diminuir-se-ia a quantidade de inóculo com os genes específicos para cada cultivar e assim o risco de infecção proveniente de inóculo presente em árvores vizinhas. A plantação uniforme baseada numa só cultivar resistente deve ser evitada pois promove o aparecimento de raças resistentes do fungo (122).

Estratégias de protecção baseadas em factores bióticos e abióticos

Estratégias inteligentes (Fig. 18)

Têm em atenção o comportamento biológico da população de *V. pirina* e do hospedeiro, em consonância com o padrão climático, tirando partido das especificidades de cada pomar, das propriedades das substâncias activas fungicidas, bem como da sequência das aplicações fungicidas.

Este tipo de estratégia baseia-se na estimativa da população do fungo, nos níveis da doença e nas regras de decisão com o intuito de poupar tratamentos em determinados pomares.

Quando se observa menos de 8% de folhas infectadas pelo pedrado no Outono a população hibernante será baixa e vários tratamentos iniciais poderão ser suprimidos

na Primavera seguinte. Segundo MacHardy (97) nestas circunstâncias a protecção química no pedrado da macieira torna-se irrelevante até ao aparecimento do botão rosa (Estado E), caso não se observem mais de três períodos de infecção.

O fim da emissão dos ascósporos acontece quando as pseudotecas apresentam 5% a 10% de ascos intactos no seu interior (97, 157, 162). Em pomares com incidência de pedrado nos frutos inferior a 1%, alguns ou todos os tratamentos podem ser eliminados no fim da emissão dos ascósporos, em condições climáticas de baixo risco (155, 157). Em pomares sem lesões de pedrado visíveis, os tratamentos podem ser eliminados no final da emissão dos ascósporos (155, 157).

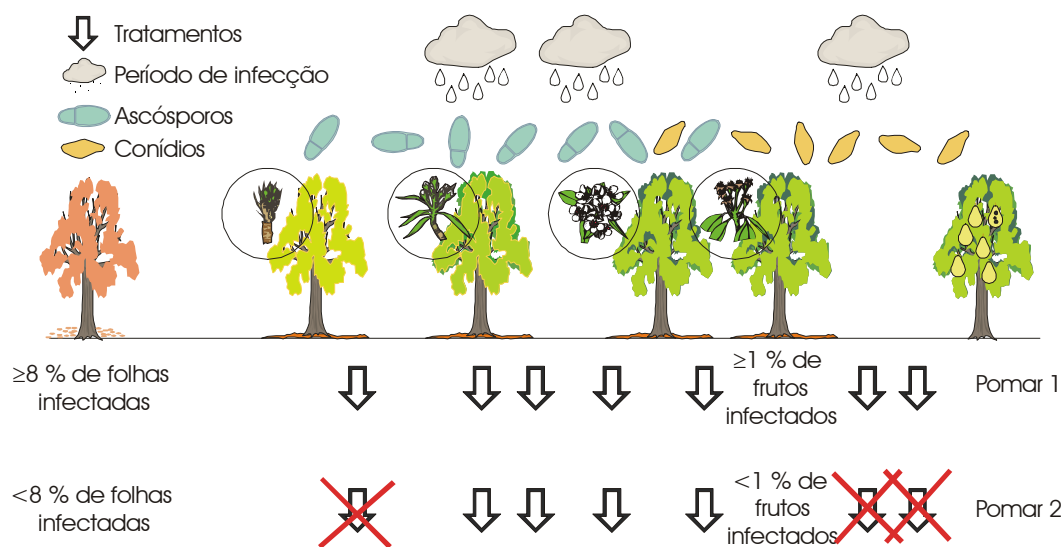


Fig. 18 Estratégia inteligente de protecção a *Venturia pirina*. Baseia-se na estimativa do risco efectuada no pomar à queda das folhas, na presença ou ausência de esporos primários, na incidência de infecções primárias no pomar, na previsão dos períodos de infecção e nas propriedades químicas dos fungicidas (164).

Proposta de estudo

Os estudos tiveram como objectivo conceber um novo sistema de protecção a *V. pirina* flexível e adaptado à região do Oeste de Portugal.

Deu-se ênfase ao estudo do teleomorfo de *V. pirina* devido à sua importância na epidemiologia do fungo. Clarificar este aspecto pareceu muito importante pois os estudos anteriores eram contraditórios quanto à presença e importância da fase sexual na região do Oeste.

Descrição dos objectivos

Análise climática

Este objectivo visou a reunião de uma base de dados climática do ecossistema agrário que servisse de suporte às observações experimentais do campo. Deste modo optou-se por recolher dados climáticos na cadência de 15 e 60 minutos.

As variáveis climáticas definidas como importantes para o estudo foram a temperatura do ar, o período de humectação e a precipitação.

Aspectos de epidemiologia do teleomorfo de *V. pirina*

Evolução das pseudotecas e da maturação dos ascos e ascósporos

A correcta previsão da taxa de maturação dos ascósporos é importante pois marca o eventual início da protecção ao pedrado da pereira. Por outro lado, condiciona o final da protecção, caso a doença esteja ausente após o fim das infecções primárias, permitindo também conhecer o inóculo primário potencial esperado durante a Primavera.

Deste modo, o desenvolvimento dum modelo matemático para o processo seria vantajoso pois permitiria, baseado em factores climáticos mais facilmente observáveis, prever o desenvolvimento biológico do fungo durante a época das infecções primárias e assim otimizar a utilização dos meios de protecção.

O objectivo consiste em:

- avaliar a extensão do período das infecções primárias;
- desenvolver ou validar um modelo matemático para a evolução da maturação dos ascósporos.

Método de previsão do grau de maturação dos ascos e ascósporos

Procurou-se desenvolver um método simples que permitisse medir a produtividade de ascósporos mantendo as amostras constantes ao longo do tempo. O método deveria ser suficientemente flexível para a utilização em laboratório e no campo. O

método poderia então ser utilizado em diferentes experiências que envolvessem o processo de hibernação ou a emissão de ascósporos pelo teleomorfo.

O objectivo consistiu em:

- desenvolver um método para medir a produtividade de ascósporos em condições predefinidas.

Dinâmica dos ascósporos na atmosfera

Esta linha é das mais importantes para o conhecimento da influência dos factores abióticos e bióticos na emissão dos ascósporos de *V. pirina* para a atmosfera. Desta forma procurou-se avaliar a quantidade de ascósporos na atmosfera dos pomares ao longo da época das infecções primárias. O equipamento escolhido foi a utilização dum capta-esporos volumétrico da marca Burkard, devidamente padronizado a nível mundial para este tipo de estudo.

O objectivo consistiu em:

- avaliar a extensão da época das infecções primárias em vários anos assim como a influência da luz, chuva e orvalho na emissão dos ascósporos de *V. pirina*.

Importância dos ascósporos nas infecções primárias

Clarificar este ponto revestiu-se da máxima importância para as futuras estratégias de protecção ao pedrado da pereira na região do Oeste.

A estratégia tomada foi a observação, ao nível do ecossistema agrário, do padrão das lesões provenientes do primeiro ou primeiros ciclos de infecção. Caso o inóculo estivesse presente em gomos ou em ramos nas árvores, locais próximos alguns centímetros dos locais a infectar, podia-se esperar o padrão de infecção agregado, imediatamente observável nos primeiros ciclos de infecção. Caso o inóculo estivesse presente em locais afastados alguns metros do material vegetal susceptível o padrão observado durante os primeiros ciclos de infecção seria sempre aleatório, dado que seria aleatório o caminho seguido para atingir os locais susceptíveis (percurso do esporo através da atmosfera). Neste último caso poderiam ainda haver duas

hipóteses, o inóculo primário proviria de folhas mortas da estação anterior ou de hospedeiros alternativos sobre os quais passaria o período dormente da pereira.

O objectivo consistiu em esclarecer:

- onde hiberna o fungo *V. pirina* na região do Oeste de Portugal e qual a importância relativa das diferentes formas de hibernação.

Aspectos de natureza abiótica e biótica na evolução do patossistema

Evolução fenológica do hospedeiro

A evolução fenológica corresponde ao comportamento biológico da pereira no início da estação de crescimento. Procurou-se conhecer a frequência dos gomos florais dentro de cada estado fenológico.

O objectivo foi:

- a avaliação da frequência dos estados fenológicos da pereira ao longo da Primavera, para conhecimento global do funcionamento do patossistema no ecossistema agrário da região do Oeste de Portugal.

Estudo laboratorial da infecção por conídios

O conhecimento do mecanismo de infecção do fungo *V. pirina* no seu hospedeiro é um aspecto epidemiológico muito importante. Procurou-se estudar o mecanismo de infecção dos conídios do fungo para diferentes valores de período de humectação, à temperatura considerada óptima. Decidiu-se analisar o comportamento de dois tipos diferentes de material biológico: plântulas de pereira obtidas por via seminal e plantas de pereira (cv. Rocha) envasadas com um ano de idade. Embora fosse interessante ensaiar várias temperaturas, houve a consciência inicial da impossibilidade de concretização, dado os meios a envolver.

O objectivo foi:

- analisar as capacidades de infecção dos conídios de *V. pirina* à temperatura de 20°C em plântulas de pereira ou em pereiras envasadas (cv. Rocha) com um ano de idade;

-
- avaliar a capacidade de germinação e sobrevivência dos conídios.

Validação do modelo de infecção do pedrado (MIP)

A validação do modelo de infecção do pedrado (MIP) foi a parte mais importante do trabalho. Procurou-se utilizar o modelo de infecção previamente desenvolvido (158) e validá-lo num ecossistema agrário específico, o da região Oeste de Portugal. Novos melhoramentos seriam introduzidos no modelo original, de forma a fazer depender as previsões do nível de inóculo atingido a cada momento, para além da dependência da temperatura e do período de humectação.

O objectivo desta linha foi:

- melhorar e validar o MIP previamente desenvolvido em trabalhos anteriores.

Evolução das epidemias de *V. pirina* no ecossistema agrário do Oeste

Procedeu-se ao estudo da evolução natural das epidemias de pedrado numa parcela sem tratamentos fungicidas. Procurou-se estabelecer relações entre o nível de lesões observadas nos corimbos, frutos e folhas, com a incidência dos órgãos infectados. Estas relações poderiam facilitar e indicar novos métodos de amostragem.

O objectivo foi:

- observar a progressão da doença nos corimbos, frutos e folhas;
- explorar relações entre o número de órgãos infectados e o número de lesões dentro destes, ou seja, definir relações incidência– severidade no caso do pedrado da pereira;
- observar o aspecto das lesões de *V. pirina* no fim das epidemias, no Outono.

Aspectos de protecção de V. pirina

Sequências de protecção química

Estabeleceram-se diversas sequências de protecção química, utilizando fungicidas preventivos, curativos ou sua mistura, de forma a verificar a viabilidade da utilização das previsões do MIP em pomares comerciais. Sempre que possível, os fungicidas

curativos foram aplicados após os períodos de infecção determinados pelo MIP. No final do ano, avaliou-se a incidência de pedrado nos frutos, dentro de cada estratégia.

O objectivo foi:

- estabelecer uma estratégia preventiva tradicional e compará-la com a estratégia conduzida pelo MIP, tendo por base a estimativa do inóculo de pedrado observado num pomar durante a Primavera.

Capítulo 2 Princípios conceptuais

Filosofia do problema V. pirina

Evolução da protecção de doenças das plantas nos ecossistemas

A evolução da protecção das doenças das plantas está intimamente ligada à evolução do pensamento social das diferentes épocas, condicionado por objectivos frequentemente antagónicos, quer de índole económica, quer ambiental.

Num ecossistema natural, a vegetação climácica impera e toda a energia solar captada pelo ecossistema flui permitindo a vida a determinado número de seres vivos (capacidade de sustentação do ecossistema). A espécie humana há muito que ultrapassou a capacidade de sustentação dos ecossistemas onde se implanta, pelo que o seu crescimento acontece porque utiliza quantidades de energia superiores às interceptadas pelos ecossistemas agrários da Terra em cada momento. São vários os sustentáculos energéticos da sociedade humana, basicamente toda a energia acumulada nos últimos milhões de anos (ex. petróleo, carvão, gás natural). Essa energia acumulada está a ser incorporada nos ecossistemas naturais, transformando-os em ecossistemas agrários, onde animais e plantas são optimizados pela eficiência da conversão energética directa (dos alimentos fornecidos) e pela qualidade visual, ao invés da eficiência global e qualidade intrínseca.

A agricultura sustentável é uma forma de agricultura intimamente ligada aos ecossistemas naturais; evita os desperdícios energéticos e pode ser realizada durante séculos. Engloba todos os aspectos sociais, trabalha os alimentos da forma energética mais eficiente e procura do consumidor a aceitação para o género de alimento produzido. Esta forma de agricultura será indissociável do mercado, da publicidade ou da distribuição global.

Diferentes passos têm sido realizados de forma a se atingir a agricultura sustentável (Fig. 19). A agricultura biológica e a produção integrada são alternativas que procuram realizar a fusão entre os sistemas de protecção e os sistemas de produção

de modo a otimizar a utilização energética. Todavia, nesta concepção os agentes económicos envolvidos na produção e na distribuição são entidades distintas frequentemente sem interligação. Luta química cega, luta química aconselhada e protecção integrada são diferentes sistemas de protecção utilizados no seio de sistemas de produção menos otimizados. Os sistemas de protecção que utilizam luta química cega são os menos eficientes e os mais poluentes. Nos sistemas de protecção integrada a eficiência da utilização dos pesticidas é grande mas a optimização energética circunscreve-se ao sistema de protecção. Nestes três sistemas (luta química cega, luta química aconselhada e protecção integrada) existe a separação clara entre o sistema de protecção e o sistema de produção.

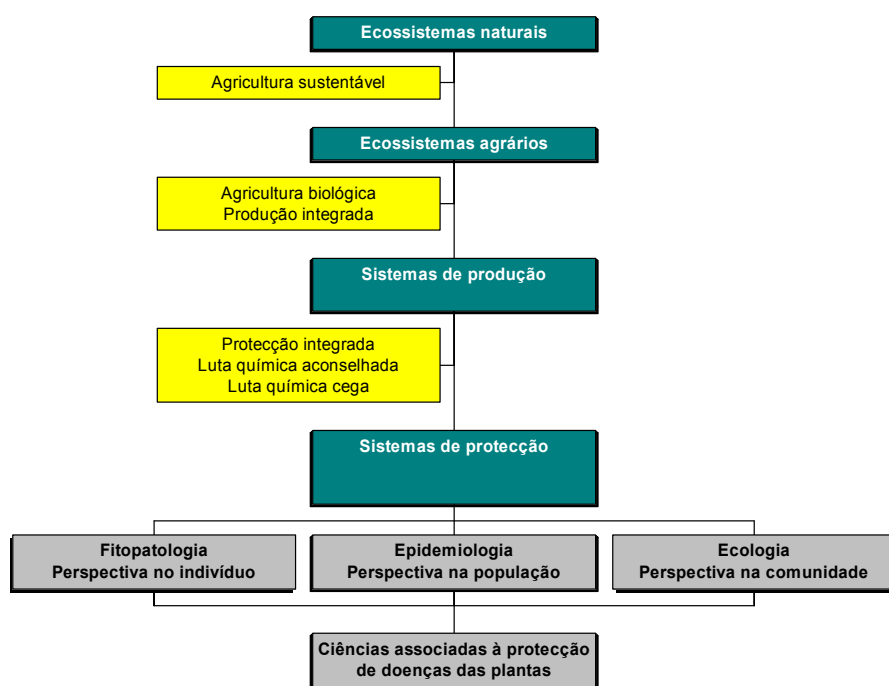


Fig. 19 Níveis de integração entre os vários sistemas de protecção de doenças das plantas e as ciências associadas.

As ciências envolvidas nos sistemas de protecção de doenças das plantas estudam a doença a três níveis de integração. A fitopatologia analisa o problema do ponto de vista do patógeno, isto é na perspectiva individual. À epidemiologia interessa a dinâmica da população do patógeno associada ao hospedeiro, enquanto que para a ecologia, a ênfase é na comunidade formada pela população do patógeno e pela população do ou dos possíveis hospedeiros presentes num patossistema (225, 226).

Paradoxo do Mundo no final do século XX

Os aspectos visíveis provocados pelo fungo *V. pirina* nos frutos resumem-se a suberificações na epiderme das peras; quando a infecção é intensa, a epiderme de alguns frutos pode fendilhar. Alguns frutos podem não vingar, mas o fenómeno é insuficiente para a redução da produção. As infecções nas folhas apresentam-se sob a forma de lesões com extensão insuficiente para diminuir significativamente a capacidade fotossintética das árvores e só marginalmente a acumulação de reservas para o ano seguinte.

O fungo *V. pirina* ao provocar o pedrado da pereira não interfere marcadamente na produtividade da árvore e os frutos infectados encontram-se em boas condições de consumo e têm aptidão para a conservação. Parte do problema assume características cosméticas enraizadas na nova cultura mundial do pós-guerra que provoca no consumidor repulsa pelos frutos infectados, prevendo a qualidade inferior. Do ponto de vista do consumidor há que ponderar se é preferível o consumo do fruto infectado, eventualmente sem ou com baixo teor de resíduo fungicida, ou pelo contrário, o consumo de frutos perfeitos mas passíveis de provocar no Homem interações imprevisíveis. No balanço destas duas questões nascem os princípios de protecção e manutenção dos ecossistemas agrários, fortemente condicionados pelas estratégias de publicidade das empresas de produção e distribuição globais, e pelas políticas também globais que orientam os diferentes países.

Aos cientistas, cabe encontrar soluções para o paradoxo do consumidor, exigente de frutos perfeitos e simultaneamente isentos de substâncias artificiais.

Simulação de períodos de infecção e epidemias de *V. pirina*

Concepção de um modelo

Simular significa imitar, decalcar ou ser mimético do fenómeno observável (59). O acto de simular materializa-se pela transposição matemática de diferentes atributos do fenómeno, isto é, através da construção de modelos.

Duas vias podem ser utilizadas na construção do modelo. Aos resultados empíricos obtidos por experimentação cuidada poderá ser ajustado o modelo simples que explique os dados obtidos. Os resultados deste tipo de modelos são válidos dentro do intervalo experimental. Outro caminho é conceptualizar o modelo teórico explicativo e validá-lo procurando os valores dos diferentes parâmetros. A vantagem deste tipo de modelos é a possibilidade de extrapolar conclusões para além dos valores experimentados ou observados.

Os modelos podem ainda ser divididos entre determinísticos e estocásticos. Nos primeiros os valores produzidos pelo modelo assumem cariz absoluto enquanto que, nos segundos se associam a probabilidades de observação. Os primeiros são os preferidos pela simplicidade, embora os segundos possam ser por vezes mais realistas.

No caso concreto de modelos utilizados para simular epidemias existem os que entendem as epidemias como uma entidade única determinada por um conjunto reduzido de factores, os modelos analíticos, ou os modelos sintéticos onde as epidemias são subdivididas por etapas (59).

Modelo de infecção do pedrado (MIP)

O modelo de infecção do pedrado teve origem num modelo universal de infecção desenvolvido por conceptualização teórica que envolveu a seguinte equação diferencial não homogénea de segunda ordem (158):

$$\text{Equação 1} \quad w''_{(T)} + Aw'_{(T)} + Bw_{(T)} = C$$

Posterioros desenvolvimentos do modelo conduziram por simulação à seguinte expressão, pela qual o período de humectação (w) se relaciona com a temperatura (T):

$$\text{Equação 2} \quad -\frac{1}{ak^2}w''_{(T)} + \frac{a-1}{ak}w'_{(T)} + w_{(T)} = w_{T_0} - \frac{w_{T_0}}{e^a} \left(1 + \frac{1}{a}\right)$$

ou

$$\text{Equação 3} \quad w''_{(T)} + k(1-a)w'_{(T)} - ak^2w_{(T)} = -ak^2 \left[w_{T_0} - \frac{w_{T_0}}{e^a} \left(1 + \frac{1}{a}\right) \right]$$

Da resolução da Equação 3 obtemos a seguinte solução geral:

$$\text{Função 1} \quad w_{(T)} = b_1 e^{-kT} + b_2 e^{akT} + w_{T_0} - \frac{w_{T_0}}{e^a} \left(1 + \frac{1}{a}\right)$$

Transformando a Função 1 em torno da temperatura óptima (T_0), obtém-se:

$$\text{Função 2} \quad w_{(T)} = b_{1T_0} e^{-k(T-T_0)} + b_{2T_0} e^{ak(T-T_0)} + w_{T_0} - \frac{w_{T_0}}{e^a} \left(1 + \frac{1}{a}\right)$$

Em que:

$$b_{1T_0} = b_1 e^{-kT_0} \text{ e } b_{2T_0} = b_2 e^{akT_0} \text{ são constantes reais}$$

Um conjunto de soluções particulares da Função 2 pode ser obtido estabelecendo as seguintes condições iniciais (1) e (2):

O período de humectação $w_{(T)}$ atinge o mínimo quando a temperatura para a infecção é a óptima (T_0). Quando a temperatura atinge T_0 o valor de $w_{(T)}$ é igual ao período mínimo de humectação (w_{T_0}) ou seja a função está sujeita às restrições seguintes:

$$(1) \quad w'_{(T_0)} = 0 \text{ e } w''_{(T_0)} > 0$$

$$(2) \quad w_{(T_0)} = w_{T_0}$$

A condição (1) conduz a $b_{2T_0} = \frac{b_{1T_0}}{a}$ ($a \neq 0$) e à igualdade $w''_{(T_0)} = k^2 b_{1T_0} + a^2 k^2 b_{2T_0}$,

positiva se $(b_{1T_0} > 0 \wedge a > -1) \vee (b_{1T_0} < 0 \wedge a < -1)$, e consequentemente resulta:

$$\text{Função 3} \quad w_{(T)} = b_{1T_0} \left(e^{-k(T-T_0)} + \frac{e^{ak(T-T_0)}}{a} \right) + w_{T_0} - \frac{w_{T_0}}{e^a} \left(1 + \frac{1}{a}\right)$$

Da condição (2) resulta $b_{1T_0} = \frac{w_{T_0}}{e^a}$, ($w_{T_0} > 0$) que substituindo na Função 3 e

rearranjando conduz à função seguinte:

$$\text{Função 4} \quad w_{(T, w_{T_0}, T_0, k, a)} = \frac{w_{T_0}}{e^a} \left(e^{-k(T-T_0)} - 1 + \frac{e^{ak(T-T_0)} - 1}{a} \right) + w_{T_0}$$

Na Função 4 (Fig. 20 e 21) pode-se demonstrar facilmente, por simulação, que $a = \ln(T_0)$, qualquer $T_0 > 1$ no caso da infecção por *V. pirina*, *V. nashicola* ou *V. inaequalis*.

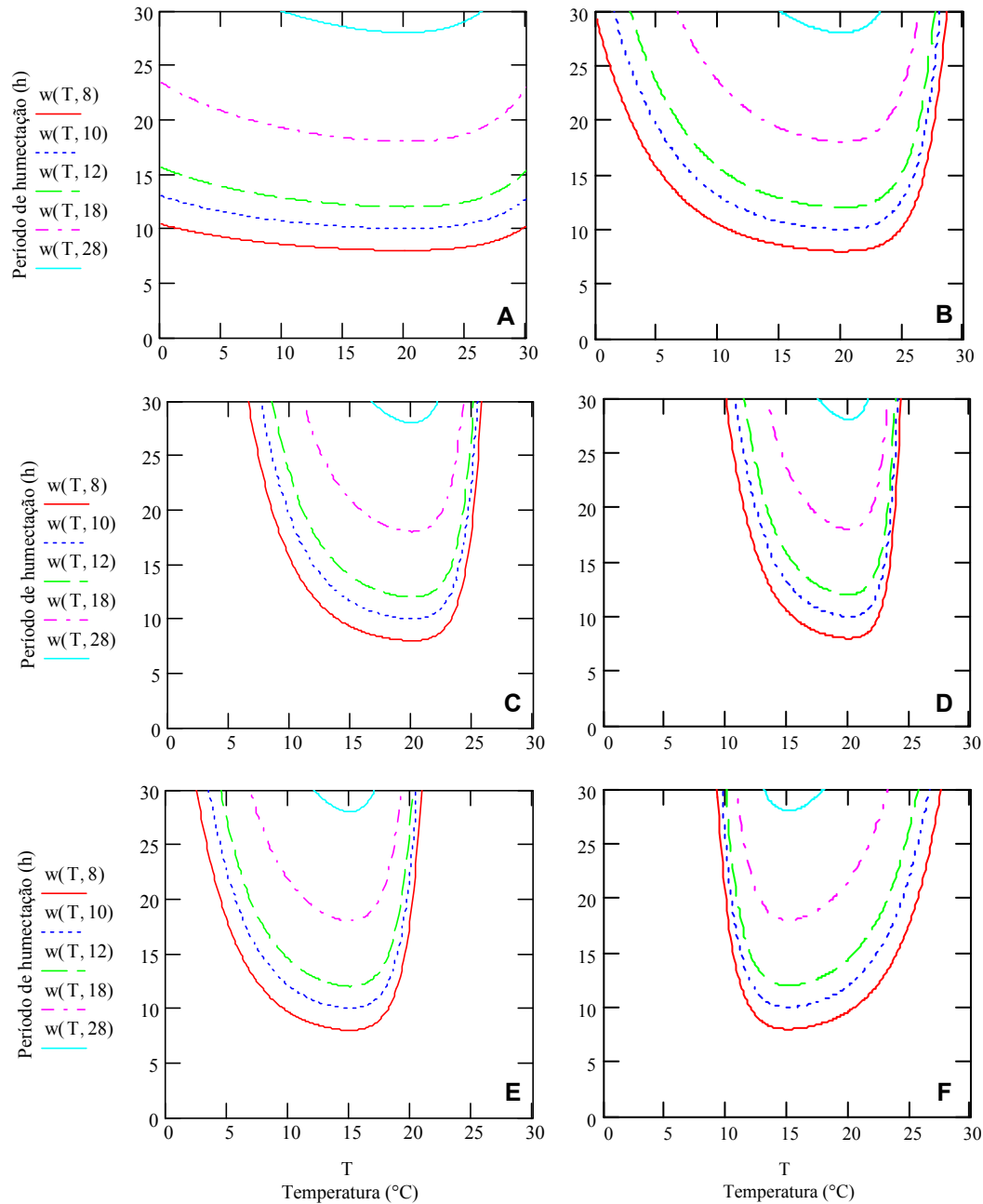


Fig. 20 Relações entre o período de humectação (h) e a temperatura (°C), para diferentes intensidades de resposta (%) calculadas com base em períodos mínimos de humectação (w_{T_0}) de 8h, 10h, 12h, 18h e 28h, determinadas pelo modelo de infecção (Função 4). Temperatura óptima (T_0) de 21°C A, B, C e D ou 15°C E e F. Coeficiente de compensação térmica (k) de 0,1/°C A, 0,2/°C B, 0,3/°C C e E, 0,4/°C D e -0,3/°C F.

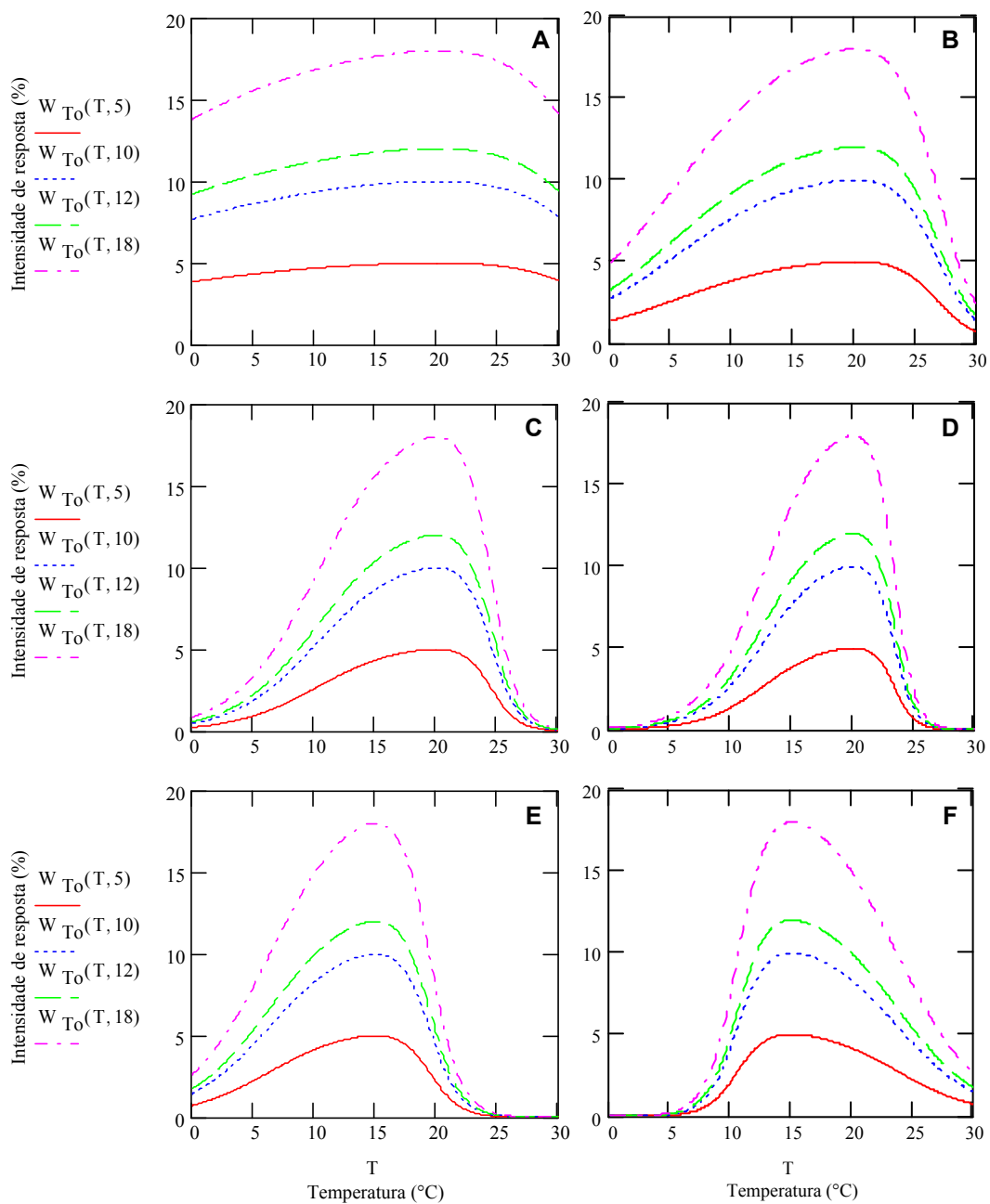


Fig. 21 Relações entre a intensidade de resposta (%) (calculadas com base em períodos de humectação $w_{(T_0)}$ de 5h, 10h, 12h e 18h) e a temperatura (°C), determinadas pelo modelo de infecção (Função 4, resolvida em relação a $w_{T_0}=W_{T_0}(T, w_{(T)}, T_0, k, a)$). Temperatura ótima (T_0) de 21°C A, B, C e D ou 15°C E e F. Coeficiente de compensação térmica (k) de 0,1/°C A, 0,2/°C B, 0,3/°C C e E, 0,4/°C D e -0,3/°C F.

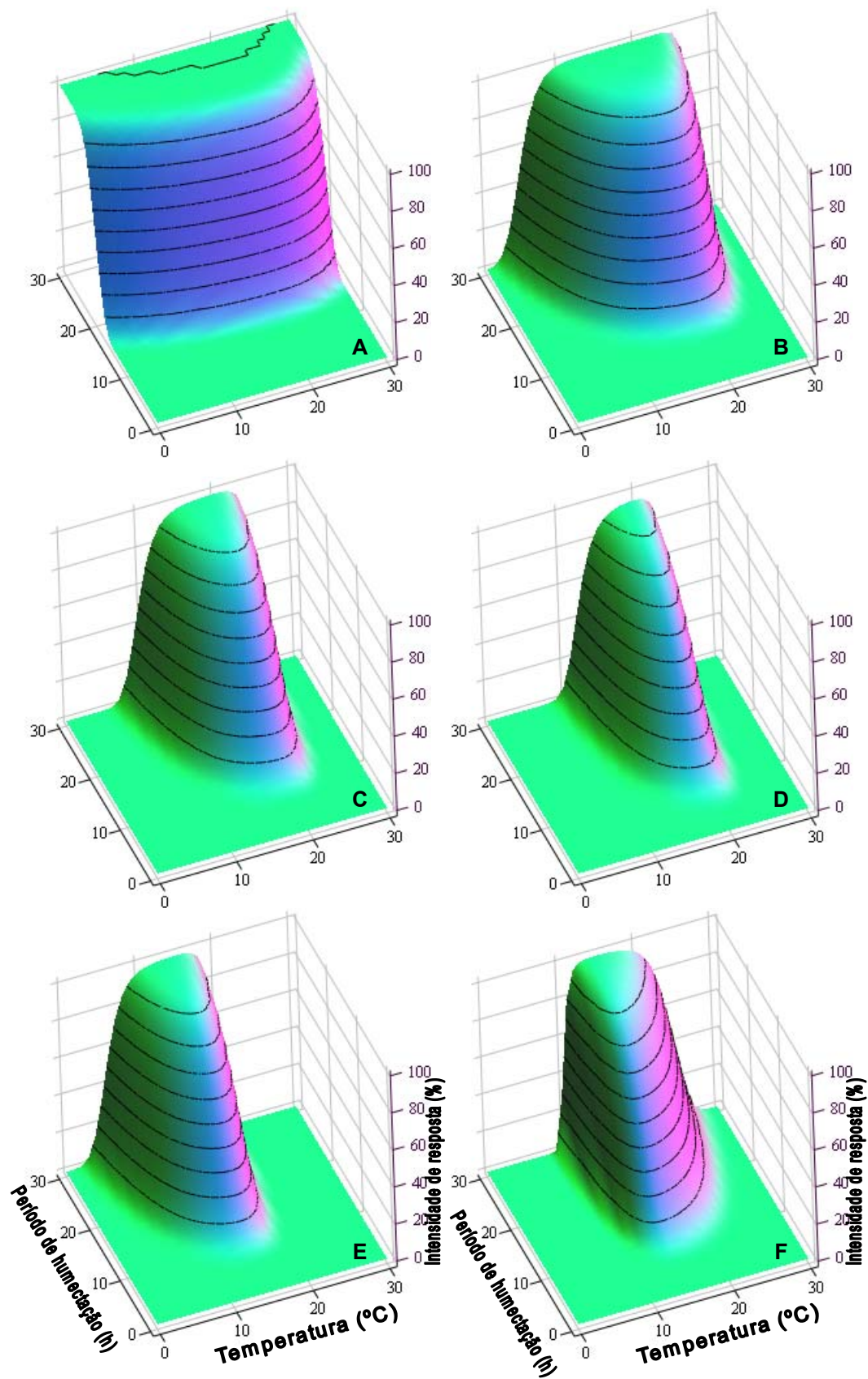


Fig. 22 Relações entre a intensidade de resposta (%), temperatura (°C) e período de humectação (h), determinada pelo modelo de infecção (Função 6). Temperatura óptima (T_o) de 21°C A, B, C e D ou 15°C E e F. Coeficiente de compensação térmica (k) de 0,1/°C A, 0,2/°C B, 0,3/°C C e E, 0,4/°C D e -0,3/°C F. Período mediano de humectação (\tilde{w}_{T_o}) de 15h. (Ambiente constante).

A intensidade instantânea de resposta $I'(w)$ duma população de esporos de *V. pirina*, *V. nashicola* ou *V. inaequalis* em germinação ou infecção, durante um período de humectação (w), pode ser descrita por um modelo estocástico, caso da função densidade da distribuição Lognormal (42, 158) (Função 5):

$$\text{Função 5} \quad I'(w) = \frac{1}{w\sigma_{\log}\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2\sigma_{\log}^2}[\ln(w)-\ln(\tilde{w}_{T_o})]^2}$$

O período mediano de humectação (\tilde{w}_{T_o}) representa o período de humectação necessário a 50% do evento.

Intensidade de resposta em ambiente constante

Quando a temperatura e o inóculo são constantes ao longo do período de humectação, a distribuição Lognormal (Fig. 23) descreve a intensidade de resposta, da população do fungo *V. pirina*. Diferentes modelos estocásticos são gerados associando soluções particulares da equação diferencial (Equação 3) à distribuição Lognormal (Função 6):

$$\text{Função 6} \quad I(w) = \int_0^w \frac{1}{w_{T_o}\sigma_{\log}\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2\sigma_{\log}^2}[\ln(w_{T_o})-\ln(\tilde{w}_{T_o})]^2} dw_{T_o}$$

em que σ_{\log} pode ser calculado de forma aproximada pela seguinte constante (158, 206, 207):

$$\sigma_{\log} \approx \frac{1}{\ln(\tilde{w}_{T_o})}$$

ou pelo valor do coeficiente de compensação térmica (k), quando nos aproximamos da temperatura óptima.

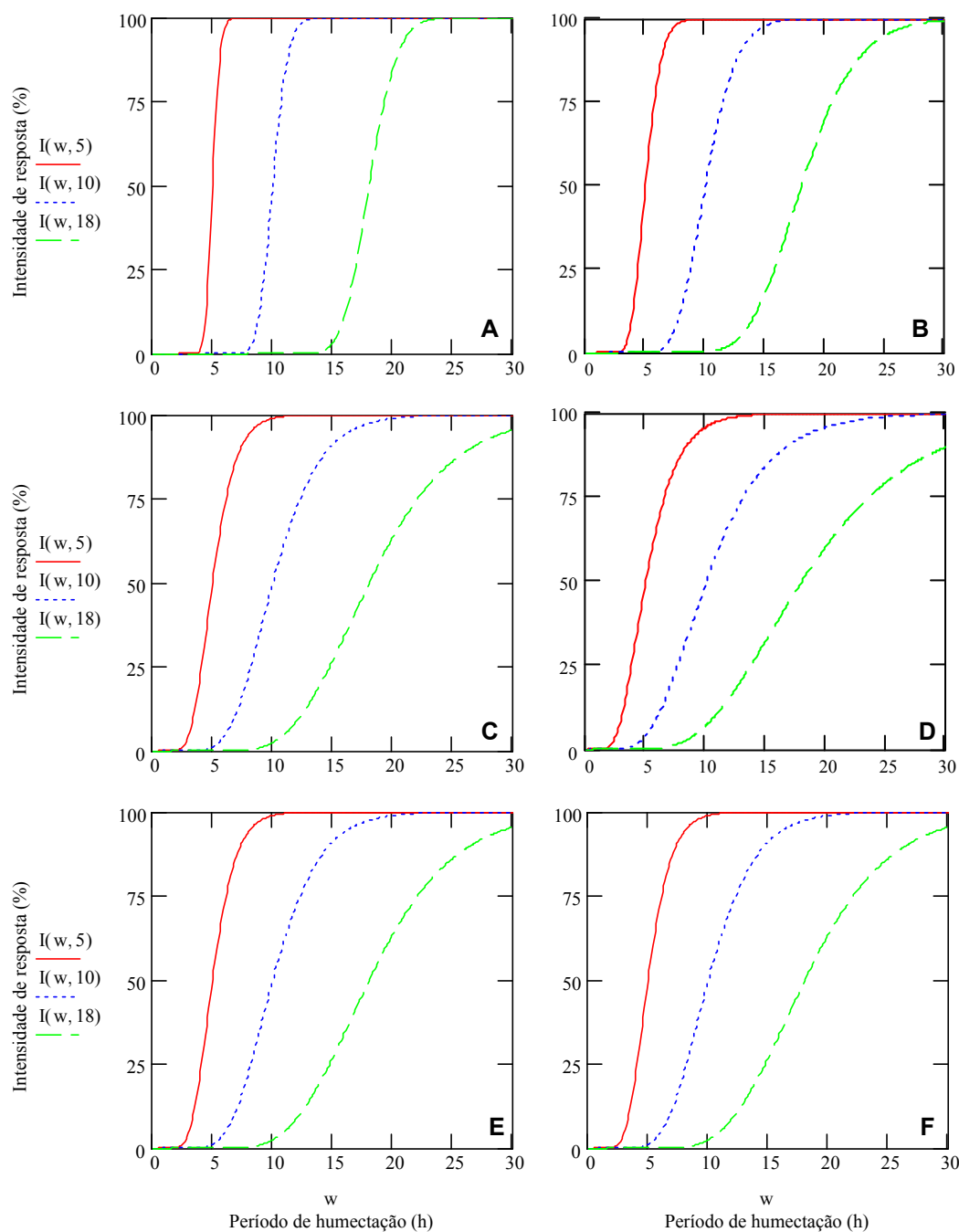


Fig. 23 Relações entre a intensidade de resposta (%) e o período de humectação (h), para diferentes valores de período mediano de humectação (\tilde{w}_{T_o}) (5h, 10h e 18h, à temperatura óptima), determinada pelo modelo de infecção (Função 6). Temperatura óptima (T_o) de 21°C A, B, C e D ou 15°C E e F. Coeficiente de compensação térmica (k) de 0,1/°C A 0,2/°C B, 0,3/°C C e E, 0,4/°C D e -0,3/°C F. (Ambiente constante).

Em ambiente constante a população do fungo reage estocasticamente, seguindo a distribuição Lognormal (Função 6) num valor de temperatura e inóculo particular (Fig. 22).

Intensidade de resposta em ambiente variável

A intensidade de resposta pode ser calculada discretizando a Função 5. Decompondo o período de humectação em fracções infinitesimais, supomos constante o inóculo e a temperatura em cada fracção. A integração pode ser então realizada através dum algoritmo de integração numérica, como o método de Simpson (Função 7).

A Função 7 representa a intensidade de resposta da população do fungo em ambiente variável.

$$\text{Função 7} \quad I(w) = \lim_{b \rightarrow 0} \sum_{i=1}^n \frac{b}{6} \left[I'(w_i) + 4I'(w_{i+\frac{b}{2}}) + I'(w_{i+b}) \right]$$

O período de humectação é decomposto em n intervalos finitos $[w_i, w_{i+h}]$ de comprimento constante b . A aproximação numérica ao valor da função será tanto melhor quanto menor b . No caso do período de humectação, valores de b de 10 a 15 minutos conduzem a uma boa aproximação.

Acção do inóculo

O desenvolvimento epidémico do fungo *V. pirina* pode ser descrito em ambiente constante pela seguinte distribuição de Gompertz (44, 46) (Fig. 24A):

$$\text{Função 8} \quad I(t) = (I_o)^{e^{-rt}}$$

Entre o início e o fim do ciclo de crescimento do hospedeiro o inóculo no pomar aumenta continuamente. Contudo, no final da estação verifica-se o decréscimo da taxa de progressão das epidemias devido à menor disponibilidade de tecido vegetal susceptível, menor produtividade das lesões ou balanço desfavorável da relação entre ambos.

A intensidade da doença ao longo do tempo depende da intensidade inicial da doença (I_o) e da taxa de infecção (r). A taxa de infecção depende fundamentalmente da observação de períodos de humectação e da temperatura (Fig. 24B).

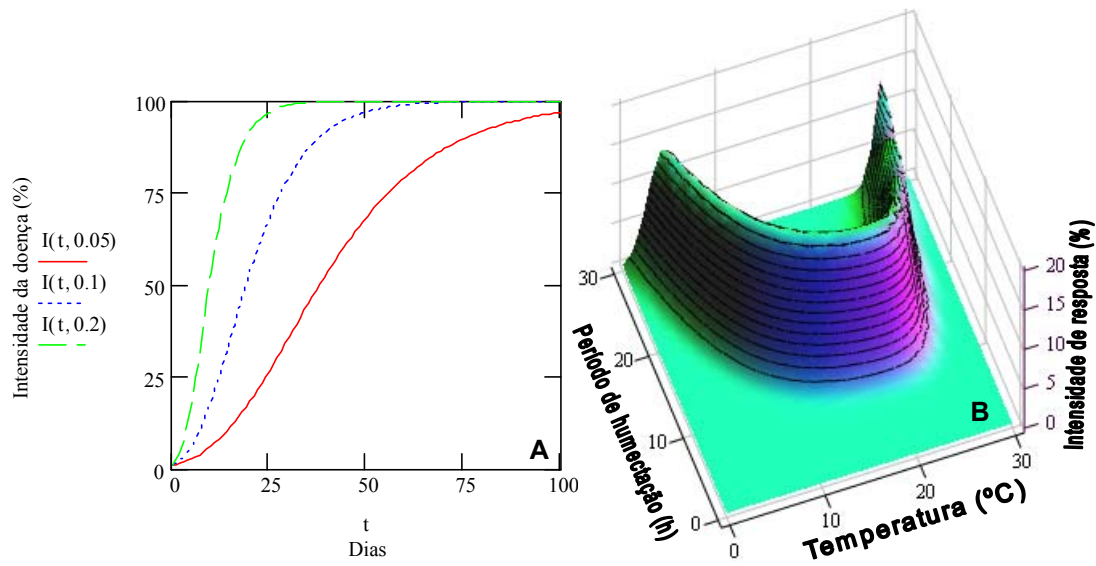


Fig. 24 Evolução da curva epidémica de *Venturia pirina* ao longo do tempo segundo o modelo de Gompertz, para taxas de infecção constantes de 0,05/dia, 0,1/dia e 0,2/dia e intensidade inicial da doença (I_0) de 1% (Função 8) A. Taxa de infecção $r(w) = I'(w)$, baseada no coeficiente de compensação térmica (k) de 0,2/°C, temperatura óptima (T_0) de 21°C e período mediano de humectação (\tilde{w}_{T_0}) de 15h B. (Ambiente constante).

Em ambiente variável a intensidade instantânea da doença num instante temporal i obtém-se derivando e discretizando a Função 8, e é dada pela seguinte equação com atraso:

$$\text{Equação 4} \quad I'(t_i) = -r(t_i)I(t_i)\ln[I(t_i)]$$

com a seguinte condição inicial (1):

$$(1) \quad I(0) = I_0$$

$$\text{em que } r(t_i) = \begin{cases} 0 & \text{se } w_i = 0 \\ I'(w_i) & \text{se } w_i > 0 \end{cases}$$

O modelo de infecção do pedrado (MIP) (Função 9) baseia-se em ambiente variável no seguinte algoritmo de integração, formalmente baseado numa equação diferencial estocástica com atraso:

$$\text{Função 9} \quad I(t) = I_0 + \lim_{h \rightarrow 0} \sum_{i=1}^n \frac{h}{6} \left[I'(t_i) + 4I'(t_{i+\frac{h}{2}}) + I'(t_{i+h}) \right]$$

A Função 3 é universal para os mecanismos de infecção dos fungos; a Função 4, Função 5 e Função 6 simulam o processo de infecção dos fungos *V. pirina*, *V. nashicola* e *V. inaequalis* e são provavelmente também válidas para outros fungos. A Função 7, Função 8 e a Função 9 foram obtidas para *V. pirina*.

Conjuntura económica actual do pedrado da pereira

Na Nova Zelândia a protecção do pedrado da macieira representa 10% a 15% dos custos variáveis de produção (21). No Oeste a protecção do pedrado da pereira e macieira representam cerca de 6% a 8% dos custos variáveis de produção (158) (Fig. 25).

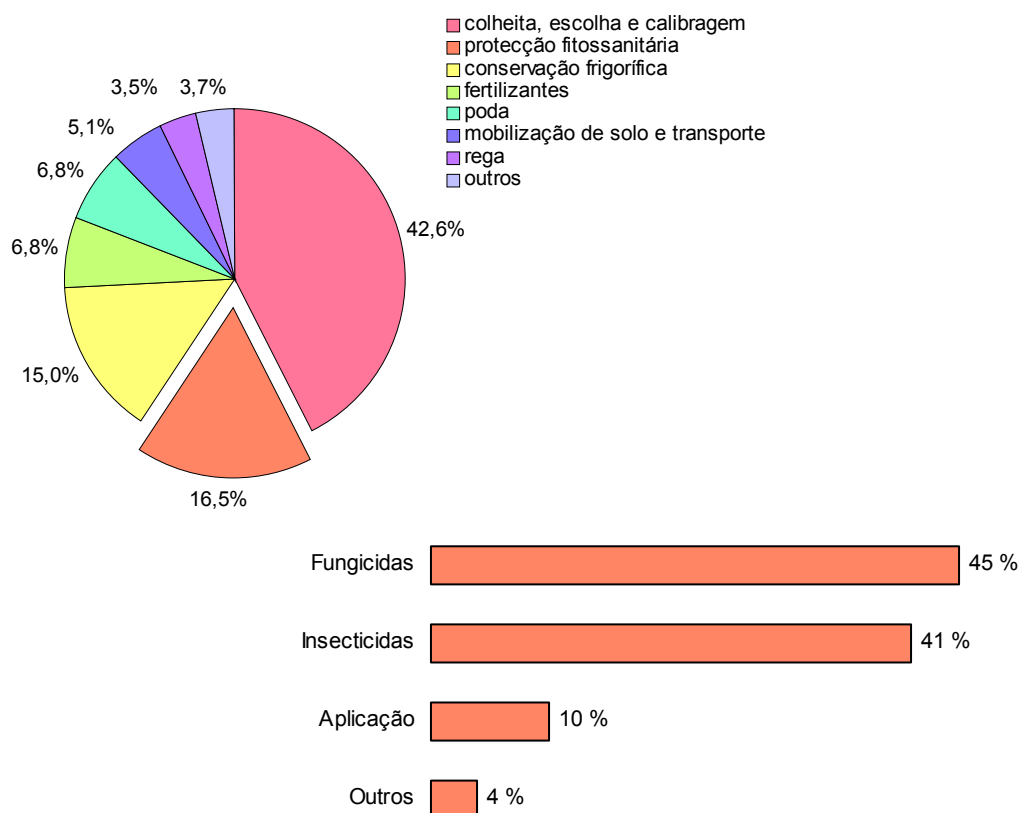


Fig. 25 Estrutura dos custos variáveis (%), dos diferentes componentes do sistema actual de produção de pêra no ecossistema agrário do Oeste.

A protecção do pedrado da pereira na região do Oeste baseava-se em tratamentos de carácter preventivo, efectuados em rotina semanal, utilizando fungicidas preventivos ou curativos. Os tratamentos iniciavam-se, normalmente, em meados de Março e

prolongavam-se até fim de Junho ou Julho. Com esta estratégia de protecção conseguia-se, na maioria dos anos, um bom resultado, evitando a progressão da doença. Todavia o método conduzia, frequentemente, ao exagerado número de 10 a 15 tratamentos (160).

O sistema eficaz de protecção do pedrado passa pela utilização de estações meteorológicas automáticas e exige rapidez de informação. Os dados das estações meteorológicas são processados num computador central que difunde automaticamente alertas aos agricultores, ou possibilita o seu contacto pessoal via telefone, caso seja detectado o risco de infecção. Desta forma, existe a oportunidade da protecção curativa eficaz. Para abranger uma região ampla, como a região do Oeste, é necessário estabelecer uma rede com várias estações meteorológicas que canalize a informação diária, via telefone, para o nó central. É este que emite os avisos tendo em conta a zona servida por cada estação e a localização da exploração agrícola ou dos blocos pertencentes a cada agricultor (154, 157, 158, 159). A redução média anual de um único tratamento para o pedrado da pereira justifica plenamente a instalação na região do Oeste de sistema similar ao exposto.

O sistema de produção de pêra na região do Oeste tem como componentes de maior custo variável o processo de colheita, escolha e calibragem, seguido da protecção fitossanitária. Dentro da protecção fitossanitária, os fungicidas representam, na maioria dos anos, a maior parte do custo (45%) seguidos dos insecticidas (41%) (Fig. 25). A diminuição dos custos de colheita, escolha e calibragem depende fundamentalmente da capacidade empresarial de constituir equipas de trabalho coesas a médio prazo, invertendo a tendência actual que assenta, geralmente, em quadros médios e superiores pouco especializados, sem autonomia, de cariz temporário e no trabalho sem planificação estratégica. A segunda componente com maior custo variável tem implicações, para além dos aspectos económicos, na credibilidade dos sistemas de produção. Os sistemas de produção mais eficientes são os mais optimizados, e correspondem a níveis de higiene e resíduos alimentares mais baixos, melhorando assim a segurança alimentar do consumidor.

Capítulo 3 Material e métodos

Análise climática



Fig. 26 Estação meteorológica equipada com capta-esporos volumétrico, udómetro, sensor de período de humectação e sensor de temperatura do ar.

Os dados climáticos foram recolhidos com a frequência de uma ou quatro medições por hora. As duas estações meteorológicas automáticas utilizadas localizaram-se na Sobrena-Cadaval (Fig. 26) e Painho-Cadaval. Os dados horários resultaram do valor médio obtido pelas estações durante o período horário, funcionando com frequência de 10 segundos. Os dados quadri-horários resultaram de medições pontuais efectuadas a cada 15 minutos.

A estação meteorológica da Sobrena estava equipada com um registador de dados, modelo DT50 (Data electronics, Rowville, Austrália) ao qual foi acoplado um sensor da temperatura modelo SKH 2012 (Skye, Powys, Reino Unido), situado a 1,5 m de altura num abrigo ventilado, e um sensor de humectação modelo SKLW 1900 (Skye, Powys, Reino Unido) não pintado, colocado horizontalmente a 0,7 m do solo, fora da canópia das árvores (67, 92). A estação meteorológica do Painho possuía um registador de dados modelo CR10X (Campbell, Leicestershire, Reino Unido) acoplado a sondas da temperatura e humectação modelo 107 e modelo 237

(Campbell, Leicestershire, Reino Unido), respectivamente. Estes sensores foram montados nas condições previamente referidas. A precipitação foi medida através dum udómetro, modelo ARG100 (Environmental measurements Ltd., Cork, Irlanda) com precisão de 0,2mm, acoplado a cada um dos registadores de dados.

Os dados climáticos anteriores a Abril de 1996 foram obtidos num termohigrógrafo colocado a 1,5m de altura, dentro de abrigo meteorológico, localizado no Bombarral. Da análise das fitas obtiveram-se dados de temperatura bi-horários.

Análise estatística e simulação matemática

A análise estatística foi realizada num computador Pentium II utilizando o pacote SPSS v.10.0 (SPSS Inc., Chicago, EUA), nomeadamente o módulo base e o módulo da regressão não linear. Nas regressões não lineares os resíduos foram minimizados pela técnica dos mínimos quadrados (44, 110) através do algoritmo de Levenberg-Marquardt. Em cada modelo obtido, procedeu-se à respectiva análise de variância (Anexo 1).

Os graus-dia foram calculados, baseados nos valores de temperatura registados a cada 15 minutos, através duma rotina programada no Excel do Office 97 (Microsoft, Redmond, EUA) (Anexo 2).

Na simulação matemática, o pacote utilizado foi o Mathcad v.8 (Mathsoft, Cambridge, EUA), na análise exploratória. Uma rotina foi então programada no Excel com base nos modelos desenvolvidos e testados na análise exploratória, e utilizada na simulação epidémica dos diferentes anos (Anexo 3).

Aspectos de epidemiologia do teleomorfo de V. pirina

Evolução das pseudotecas e da maturação dos ascos e ascósporos

Em 1996, 1997 e 1998 recolheram-se semanalmente 20 folhas da manta morta num pomar, sob árvores não pulverizadas com fungicidas no ano anterior. A recolha sistemática das folhas iniciou-se entre o intumescimento dos gomos (Estado B) e a

ponta verde (Estado C) e terminou quando o número de ascos intactos observado dentro das pseudotecas de *V. pirina* era reduzido.

Quando foi impossível observar as amostras no próprio dia da recolha, as folhas foram congeladas (-18°C). Na noite anterior às contagens, as folhas foram retiradas do congelador e colocadas à temperatura ambiente. As folhas foram fixadas na manhã seguinte.

As folhas foram lavadas em água corrente e imediatamente fixadas em solução de ácido formolacético (FAA) durante duas horas. Após esta operação as folhas foram colocadas no interior de toalhas de papel humedecidas até à sua observação. Excluíram-se as folhas sem manchas escuras marcadas.

Utilizando a lupa binocular (40 a 50×) retirou-se ao acaso de cada uma das folhas uma pseudoteca com uma agulha de ponta fina. Cada pseudoteca foi transferida para uma gota de lactofenol previamente colocada sobre uma lâmina de microscópio. Sobre a gota de lactofenol colocou-se uma lamela (22×22). A lâmina foi então colocada na base do microscópio (100×) onde, com o auxílio de duas agulhas, se deslizou a lamela lateralmente procurando espalhar o seu conteúdo em fina camada.

Os ascos foram classificados em três categorias: imaturos (**hialinos**, com ou sem os esboços dos ascósporos), maduros (ascósporos corados de verde pálido, bem septados) ou vazios (ascos hialinos, finos e ponta afilada). Os ascos presentes no interior de cada pseudoteca foram contados de acordo com estas categorias. Contaram-se os ascos imaturos ou maduros utilizando o modo de campo claro do microscópio, seguindo as linhas definidas, pela escala quadriculada (10×10) colocada numa das oculares. Para contar os ascos vazios utilizou-se o modo de contraste de fase.

O cálculo da percentagem de ascos em cada categoria foi efectuado utilizando o método diferencial de Gadoury e MacHardy (49, 54). O número máximo de ascos por pseudoteca ($A_{\text{máx}}$) de cada ano foi desconhecido até meio da estação. Antes dessa fase a percentagem das várias classes de maturação foi calculada tendo por base o número total de ascos observado em cada semana (A_s). Quando o número máximo

de ascos foi determinado, adicionou-se a diferença ($A_{\text{máx}} - A_s$) do seguinte modo: nas semanas anteriores a $A_{\text{máx}}$, ao número de ascos imaturos; nas semanas posteriores a $A_{\text{máx}}$, ao número de ascos vazios.

O método pressupõe que a formação dos ascos se conclui antes de $A_{\text{máx}}$ e que a desintegração dos ascos vazios ocorre depois de $A_{\text{máx}}$.

Para o início do cálculo dos graus-dia acumulados acima de 0°C considerou-se o ponto intermédio entre duas observações contíguas, com e sem observação de ascósporos maduros. Os graus-dia acima de 0°C foram calculados com base em medições pontuais da temperatura a cada 15 minutos. Em 1996 os graus-dia anteriores ao mês de Abril foram determinados com base em valores bi-horários.

Método de previsão do grau de maturação dos ascos e ascósporos

Em 1996, a amostragem incidiu em 20 folhas recolhidas ao acaso (estado fenológico A) na parcela não pulverizada. Em 1997, à ponta verde dos gomos da pereira (estado fenológico C) recolheram-se ao acaso da manta morta, duas amostras de 200 folhas, uma num pomar sujeito ao esquema normal de tratamentos no ano anterior e outra numa parcela sem qualquer aplicação fungicida.



Fig. 27 Tampas das placas de Petri exibindo os discos de folha utilizados nos testes de emissão dos ascósporos de Venturia pirina pelo método das placas de Petri, referentes à modalidade tratada e não tratada.

Através dum furador de escritório extraíram-se três discos, de seis milímetros de diâmetro, por cada folha. Conjuntos de 60 discos foram casualmente colados com cola sintética (UHU, Bühl, Alemanha) a discos de papel de filtro de seis centímetros de diâmetro. Os papéis de filtro com os discos foram posteriormente fixados, utilizando a mesma cola, no interior de tampas de placas de Petri acrílicas de diâmetro correspondente. Deste modo obtiveram-se dois conjuntos de 10 placas por tratamento (pomar tratado com fungicidas e pomar não tratado) (Fig. 27). Em 1996 os estudos realizaram-se numa só placa de Petri, montada da forma anteriormente descrita.

As placas foram colocadas num abrigo meteorológico no interior duma caixa de plástico contendo uma esponja humedecida de modo a manter a hidratação dos discos das folhas.

Semanalmente as placas de Petri foram retiradas do abrigo, as tampas levantadas e invertidas, e o seu interior preenchido com água destilada, de modo a submergir os discos durante cinco minutos. Seguidamente, a água foi vertida e a tampa novamente colocada sobre a base durante uma hora a 20°C e sob a influência da luz (200µE/m²s).

Findo este período, a tampa com os discos foi retirada e em cada placa de Petri contaram-se os ascósporos observados em 100 campos de microscópio (400×).

Após cada período de contagem as placas de Petri regressaram ao abrigo meteorológico.

Este método foi idealizado com base num método semelhante posto em prática por Szkolnik (182) em 1969, relativamente ao qual apresenta como diferenças principais: a manutenção do mesmo material vegetal ao longo do período das observações e a padronização das condições experimentais.

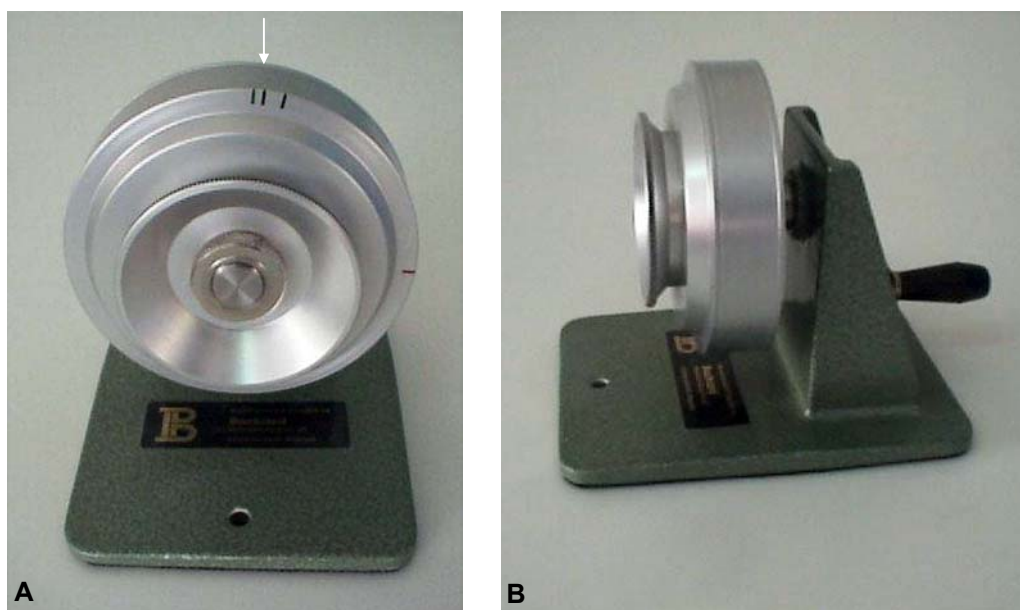
Dinâmica dos ascósporos na atmosfera

Durante 1997 e 1998 observou-se a dinâmica dos esporos primários de *V. pirina* na atmosfera através do capta-esporos volumétrico, modelo Burkard (Burkard, Herfordshire, Reino Unido) (Fig. 28). A eficiência deste modelo de capta-esporos é cerca de 90% e superior a outros dispositivos capta-esporos (9). O capta-esporos

operou de final de Fevereiro a meados de Maio. O orifício de aspiração do capta-esporos situou-se a cerca de 55cm do solo.



Fig. 28 Capta-esporos volumétrico da marca Burkard utilizado na avaliação dos ascósporos presentes na atmosfera durante a época das infecções primárias, em 1997 e 1998.



*Fig. 29 Vista frontal **A** e lateral **B** da base de fixação do tambor do capta-esporos destinada a facilitar a tarefa da montagem e revestimento das fitas de Melinex com silicone. As extremidades da fita foram justapostas no local assinalado.*

Cada fita de Melinex foi fixada no tambor, no local indicado pelo fabricante, utilizando a base fornecida para o efeito (Fig. 29). As extremidades da fita foram fixadas no tambor por intermédio dum tira de fita-cola de dupla face, com 50mm de

largura, colocada transversalmente. A fita foi pincelada com uma mistura de consistência cremosa de silicone (Barral, Lisboa, Portugal) diluído em xilol (Vreis, Lisboa, Portugal), por intermédio dum pincel de cerdas macias com largura de 12 mm, imprimindo uma dupla rotação ao tambor. O tambor com a fita de Melinex preparada foi colocado no mecanismo do capta-esporos, fazendo alinhar a marca vermelha do tambor com a seta existente na cabeça do equipamento e fornecendo corda ao relógio até o mecanismo se deter. Marcou-se a fita com o auxílio de uma agulha fina introduzida através do orifício de aspiração. Com a chave de fendas ajustou-se, caso necessário, o fluxo de ar para o caudal de 10L/minuto, medido através de um fluxómetro.



Fig. 30 Base acrílica destinada a dividir as fitas de Melinex em fracções diárias e diversos instrumentos utilizados na preparação, corte e montagem das lâminas de microscópio.

Semanalmente, à hora fixa (18:00), o tambor foi retirado do capta-esporos, substituído por outro previamente preparado de acordo com o método acima descrito, e colocado na respectiva base de suporte. A fita-cola foi cortada com o chisato no ponto de união das extremidades da fita de Melinex, levantando-se posteriormente a ponta da fita de Melinex com o auxílio da pinça. A fita foi colocada de seguida na régua acrílica fornecida pelo fabricante e cortada com o bisturi em fracções diárias (Fig. 30). As secções diárias foram montadas com a face voltada para cima, por intermédio da agulha fina, sobre duas a três gotas de Entellan (Merck, Darmstadt, Alemanha) previamente colocadas em cada lâmina de microscópio

utilizando a vareta de vidro. Para facilitar o processo de montagem das secções diárias nas lâminas de microscópio, estas foram colocadas na base dum pequeno copo de plástico invertido (Fig. 31). As fitas tiveram o período de secagem de alguns minutos antes da aplicação de nova camada de Entellan, agora sobre a face contendo os esporos. Uma lamela (51×24 mm) foi então deposta suavemente sobre os esporos utilizando a agulha de ponta fina.

Os esporos foram contados em campo claro (400×) ao longo de transversais centradas na hora do dia (secções com 2mm de largura).



Fig. 31 Fita de capta-esporos correspondente à secção diária, montada em preparação definitiva, etiquetada com a direcção do movimento, dia e período horário da amostragem.

Importância dos ascósporos nas infecções primárias

Em 1994 e no período de 1996 a 2000, observou-se o padrão de infecção, através da disposição das lesões de *V. pirina*, durante o ciclo vegetativo da pereira. Ao vingamento dos frutos (Estado I), marcaram-se com fita plástica 20 corimbos por árvore em 10 árvores (cv. Rocha, 25-30 anos de idade) não pulverizadas. Semanalmente contou-se o número de lesões observadas nos frutos infectados de dez corimbos escolhidos aleatoriamente por árvore. Durante 1994 não se procedeu à marcação ou contagem do número de lesões nos frutos infectados, por ser o primeiro ano de observação do fenómeno. Procedeu-se ao registo fotográfico das diferentes lesões de pedrado nos diferentes órgãos da pereira. Em 1998 as observações foram realizadas apenas nas folhas, pois nesse ano a ausência de peras

nas árvores não permitiu a observação neste órgão. Em 1994 as árvores localizaram-se em A-dos-Francos (Caldas da Rainha) e de 1996 a 2000 as árvores localizaram-se na Sobrena (Cadaval).

Aspectos de natureza abiótica e biótica na evolução do patossistema

Evolução fenológica do hospedeiro

Ao longo dos anos de 1994 e 1996-2000 foram marcadas 20 árvores, um ramo por árvore, num pomar com 10– 15 anos de idade situado na Sobrena (Cadaval). Em 1994 o pomar utilizado, com cerca de 15 anos de idade, situou-se em A-dos-Francos (Caldas da Rainha). Semanalmente contou-se o número de corimbo observado nos ramos em cada estado fenológico, utilizando a escala de Fleckinger (Fig. 32). O início das contagens coincidiu com o estado fenológico de A a C das pereiras e as contagens terminaram quando a maioria dos corimbo atingiu o estado J.

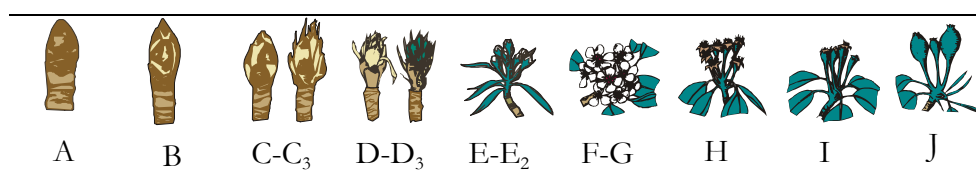


Fig. 32 Escala fenológica de Fleckinger utilizada na contagem dos corimbo da pereira presentes em cada classe fenológica.

Estudo laboratorial da infecção por conídios

Obtenção de jovens plântulas de pereira

Em Agosto de 1997 foram colhidas sementes de peras (cv. Rocha) em frutos no completo estado de maturação. Lotes de 100 sementes foram colocados em bolsas de tule e permaneceram no frigorífico a 5°C durante 25 a 50 dias (600h a 1200h a 5°C) para quebrar a dormência. As bolsas foram lavadas em água corrente em intervalos de dois a três dias. Após este tratamento, as sementes foram colocadas a germinar na estufa, modelo Fitoclima EH 750 (Aralab, Parede, Portugal), regulada para 20°C e 14 horas de fotoperíodo, sobre algodão humedecido por água destilada, no interior dum

contentor plástico com a tampa perfurada. A tampa da caixa serviu para evitar a desidratação.

Sete a 10 dias após a colocação na estufa as sementes germinaram e foram plantadas a 0,5cm de profundidade em tabuleiros (Stewart, Croydon, Reino Unido) dentro de alvéolos de plástico (8×5) cheios com substrato (Levington M2) (Fig. 33). Quando as plantas atingiram duas a três folhas verdadeiras expandidas (cerca de 10cm de altura) foram inoculadas.



Fig. 33 Tabuleiros e alvéolos utilizados no crescimento de jovens plântulas de pereira obtidas por via seminal a partir de sementes de pereira (cv. Rocha) colhidas de frutos em pleno estado de maturação.

Obtenção das pereiras envasadas

Em Novembro de 1997 obtiveram-se dum viveirista da região pereiras (*P. communis*, cv. Rocha) enxertadas sobre o porta-enxerto BA-29. As raízes das pereiras foram aparadas e de seguida plantadas em vasos de dois litros de capacidade, cheios com substrato (Levington M2). Os vasos foram posteriormente colocados no laboratório,

em prateleiras, até Janeiro (Fig. 34). Neste período os vasos necessários à inoculação foram transferidos para a estufa Fitoclima EH 750 (Aralab, Parede, Portugal) regulada a temperatura de 20°C e 14 horas de fotoperíodo (200μE/m²s). As restantes árvores foram mantidas no escuro num frigorífico a 5– 6°C até serem necessárias, de modo a evitar a evolução das pereiras.

Quando os lançamentos das pereiras atingiram dentro da estufa um crescimento de 10 a 20 centímetros procedeu-se à sua inoculação.

Obtenção do inóculo de *V. pirina*

O inóculo de *V. pirina* foi obtido a partir de folhas ou frutos com sintomas recentes de infecção. De Junho a Agosto de 1997 foram recolhidos frutos e folhas infectados na parcela de pomar sem tratamento fungicida. Os frutos ou as folhas foram colocados em sacos de plástico no congelador a –18°C até posterior utilização.

Inoculação das plântulas

No dia destinado às inoculações, os frutos ou as folhas infectados foram retirados do congelador e imediatamente colocados num copo de 500mL contendo 300mL de água destilada a 5°C. De seguida, os frutos ou as folhas foram agitados manualmente na solução e retirados os esporos das lesões por intermédio dum pincel, os suficientes para obter a solução próxima de 5×10⁵ conídios/mL de solução.

Lotes de sete tabuleiros, com 36 plântulas por tabuleiro, foram regados e posteriormente inoculados por pulverização às 9:00 da manhã, utilizando um pulverizador manual, até ser observado o escorrimento da solução. Dentro de cada lote de sete tabuleiros de plântulas foram colocadas oito lâminas de microscópio,



Fig. 34 Pereiras envasadas (cv. Rocha) em vasos de dois litros de capacidade aguardando a oportunidade de colocação em condições óptimas de crescimento para posterior inoculação.

uma por tabuleiro, para comprovar o número de conídios aplicados por centímetro quadrado de superfície e a sua viabilidade. Estas lâminas foram retiradas e colocadas no interior de placas de Petri (duas lâminas por placa), dentro da estufa Fitoclima EH 750 (Aralab, Parede, Portugal), regulada nas condições anteriormente descritas.



Fig. 35 Tabuleiro com 36 plântulas de pereira e respectiva tampa equipada com dispositivos para regulação da humidade relativa no seu interior.

Após a inoculação foi colocado sobre cada tabuleiro a respectiva tampa transparente tendo o cuidado de fechar os opérculos de modo a manter a humectação no seu interior (Fig. 35). Uma fita de Parafilm (American National Can, Chicago, EUA) foi colocada na união da tampa com o tabuleiro para garantir a estanquicidade. Os tabuleiros foram imediatamente colocados a $20^{\circ}\text{C} \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ e 90% a 95% de HR no interior da estufa, com fotoperíodo de 14 horas ($200\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$) por períodos de humectação de 0, 6, 8, 10, 12, 24 e 36 horas. A temperatura e a humidade no interior da estufa foram verificadas através dum módulo de aquisição de dados modelo Rologg Agent HT1 (Rotronic, Bassersdorf, Suíça). A cada 12 horas, a tampa transparente foi retirada momentaneamente fora da estufa, e as plantas borrifadas com água destilada de modo a garantir os respectivos períodos de humectação.

Findos os respectivos períodos de humectação, a tampa do tabuleiro foi retirada e as plântulas secas suavemente utilizando toalhas de papel e também pela corrente de ar fornecida por uma ventoinha. A secagem demorou 10 a 15 minutos. Após a secagem,

as plântulas foram novamente colocadas na estufa nas condições anteriormente descritas durante três semanas, findas as quais se analisaram as lesões obtidas. Foi anotado o primeiro dia de observação das lesões. O ensaio foi repetido duas vezes.

Inoculação das pereiras envasadas



Fig. 36 Pereiras (cv. Rocha) envasadas e em condições ideais para a inoculação com conídios de Venturia pirina. Grupo de duas lâminas de microscópio colocado nos respectivos suportes destinado a avaliar o número de esporos aplicado na superfície foliar.

Dois lotes de seis pereiras envasadas foram colocados em tabuleiros e inoculados da forma anteriormente descrita para as plântulas (Fig. 36). No seu interior foram também colocadas lâminas de microscópio (duas por tabuleiro) de modo a calcular a taxa de germinação dos conídios, procedendo-se da mesma forma que no caso anterior. A concentração do inóculo utilizado foi ajustada para cerca de 1×10^5 conídios/mL. Após a inoculação os vasos foram envolvidos por sacos de plástico, presos à base do vaso por um elástico, de forma a manter

a humectação da pereira no seu interior.

De seguida, os vasos foram colocados no interior da estufa regulada para $20^\circ\text{C} \pm 0,3^\circ\text{C}$, 90% a 95% de HR e fotoperíodo de 14 horas ($200\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$), durante períodos de humectação de 0, 6, 8, 10, 12 ou 24 horas (Fig. 37). A cada 12 horas, os sacos foram retirados momentaneamente e a planta no seu interior borrifada com água destilada. Findo cada período de humectação, as pereiras foram secas com toalhas de papel, com movimentos suaves, em conjunto com a corrente de ar fornecida pela ventoinha, e novamente colocadas no interior da estufa. O processo de secagem demorou 10 a 15 minutos. Três semanas após a inoculação, analisaram-se as lesões exibidas. Anotou-se o dia do aparecimento das primeiras lesões. A experiência foi repetida duas vezes.



Fig. 37 Interior da estufa utilizada nos ensaios de infecção por conídios de *Venturia pirina*. No tabuleiro superior podem ser observados os vasos envolvidos com sacos plásticos contendo pereiras (cv. Rocha) durante os períodos artificiais de humectação. No lado direito do tabuleiro superior é visível uma das placas de Petri contendo duas lâminas de microscópio para o cálculo da taxa de germinação e viabilidade dos conídios, e o módulo para registo da temperatura e humidade relativa.

Germinação e viabilidade dos conídios de *V. pirina*

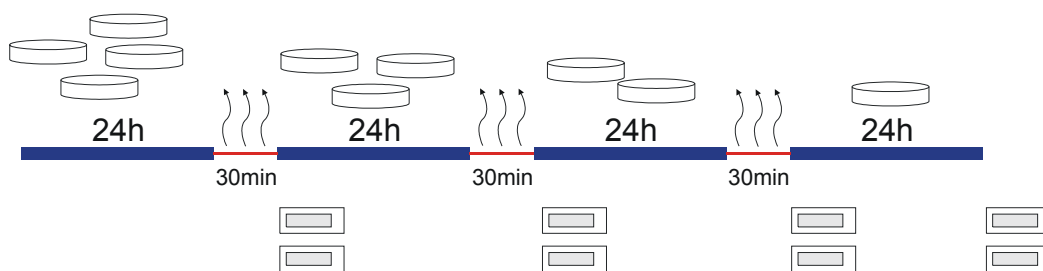


Fig. 38 Esquematização do protocolo utilizado no estudo da germinação e viabilidade de conídios de *Venturia pirina* sujeitos a períodos sucessivos de 24 horas de humectação intervalados por períodos secos de 30 minutos.

As oito lâminas de microscópio provenientes do primeiro estudo anterior, contendo à superfície os conídios de *V. pirina*, foram imediatamente colocadas no interior de placas de Petri de nove centímetros de diâmetro, após a inoculação das plântulas. Pares de duas lâminas foram colocados dentro de cada placa de Petri, sobre papel de

filtro humedecido com água destilada. As placas de Petri foram seladas com Parafilm (American National Can, Chicago, EUA) de modo a manter a humidade e evitar a secagem da superfície das lâminas. As placas de Petri foram seguidamente colocadas na estufa a 20°C. Ao fim de 24 horas, as placas de Petri foram retiradas da estufa e abertas para permitir a secagem da sua superfície. O período de secagem da superfície das lâminas demorou de 30 a 60 minutos à temperatura ambiente, verificado visualmente. Um grupo de duas lâminas, escolhidas aleatoriamente, foi montado definitivamente com duas a três gotas de Entellan (Merck, Darmstadt, Alemanha) colocadas com a vareta de vidro na superfície de cada lâmina, sobre a qual foi colocada uma lamela (51× 24), com o auxílio da agulha de ponta fina. As restantes seis lâminas foram mantidas secas por 30 minutos à temperatura e humidade relativa ambiente e novamente rehumectadas por pulverização com água destilada. Foram então colocadas no interior da estufa, nas condições anteriormente descritas, repetindo-se o procedimento temporal e amostral anterior, até ao último grupo de duas lâminas (Fig. 38). O ensaio foi repetido duas vezes.

Análise da intensidade de infecção

A intensidade de infecção foi medida através do número e extensão das lesões desenvolvidas 21 dias após a inoculação. Nos ensaios efectuados com plântulas contabilizou-se a intensidade de infecção através da incidência (nº de folhas infectadas/ nº de folhas amostrado) da doença observada nas folhas das jovens plântulas. Nos ensaios efectuados sobre as árvores envasadas, foi medida para além da incidência, também a severidade de infecção (fracção da folha infectada/ área da folha). A severidade de infecção foi medida num computador Pentium II utilizando o digitalizador de imagem, modelo Umax 600P (Umax, Fremont, EUA) e o software de análise de imagem UTHSCSA ImageTool v.2.00 (Univ. Texas, San Antonio, EUA), software gratuito obtido do servidor <ftp://maxrad6.uthscsc.edu> (Fig. 39 e Fig. 40).

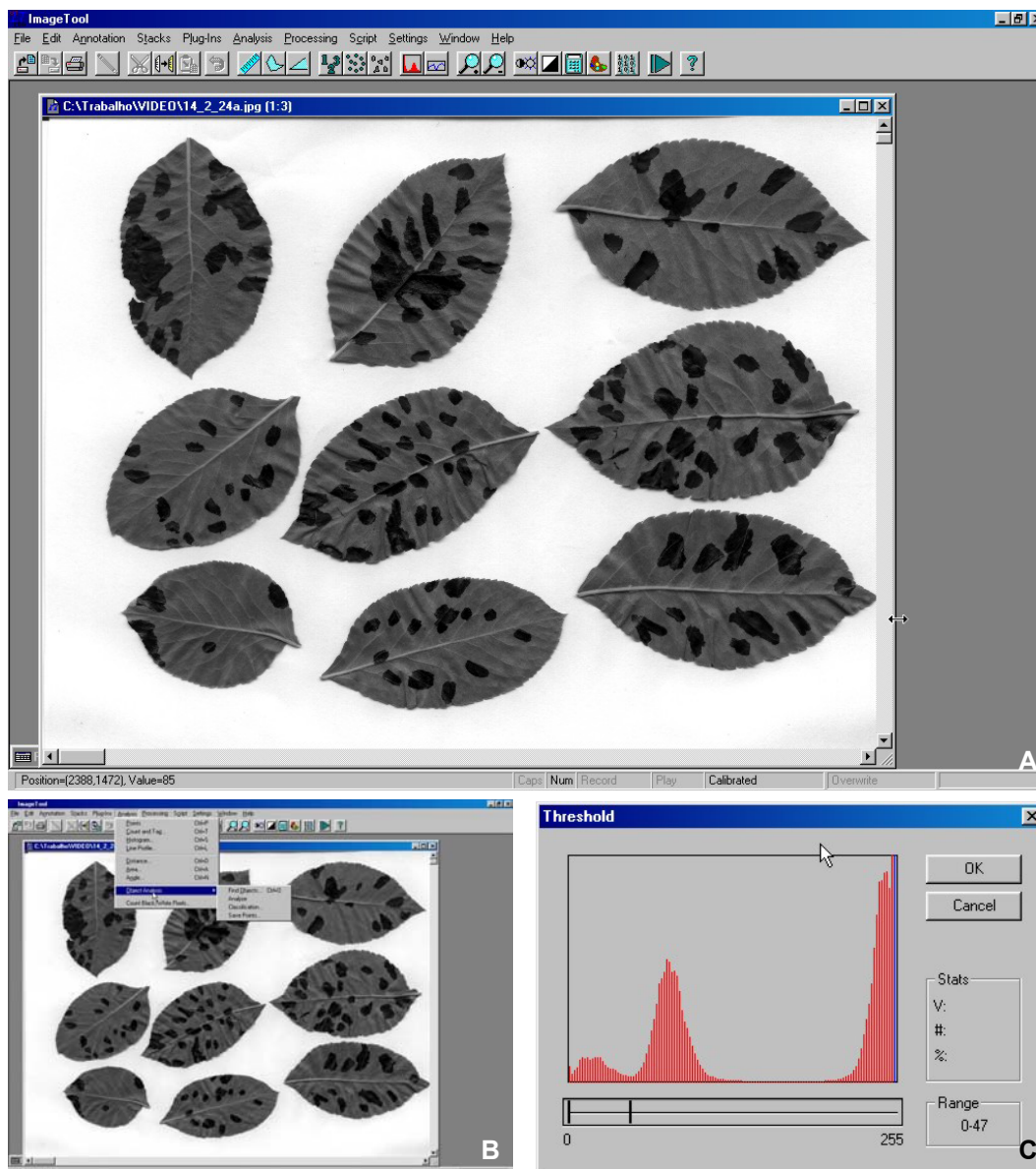


Fig. 39 Diferentes ecrãs do programa ImageTool mostrando o ficheiro digital das folhas infectadas por *Venturia pirina* em processo de análise **A**. Os passos seguidos foram: Aceder ao módulo de identificação de objectos **B**, definir as características de cor dos objectos em análise **C**.

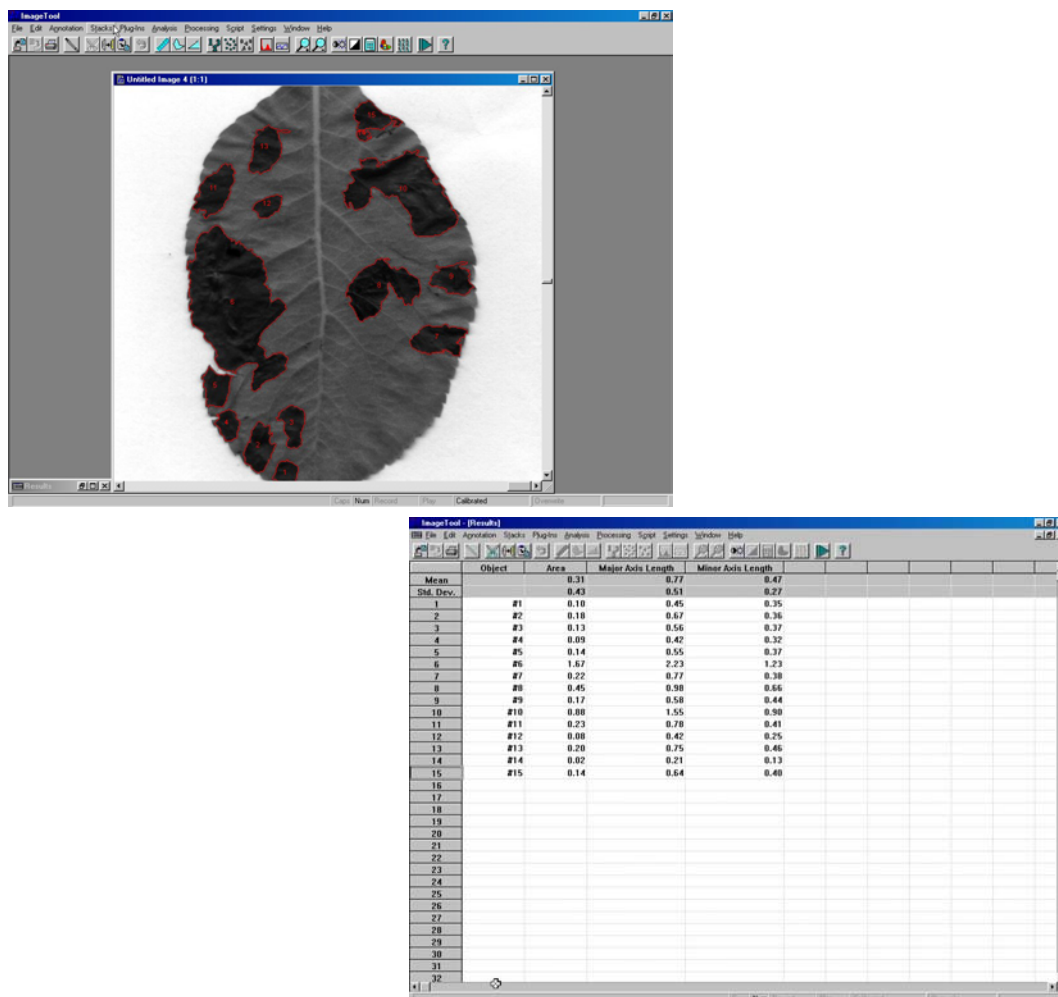


Fig. 40 Resultados da análise efectuada pelo ImageTool. O programa define o número de objectos com as características pretendidas listando-os sequencialmente. De seguida calcula os atributos associados a cada objecto listado.

Validação do modelo de infecção do pedrado (MIP)

A validação do modelo de infecção do pedrado foi realizada utilizando os dados quadri-horários da temperatura do ar e do período de humectação, observados durante 1996 a 1999 na localidade da Sobrena (Cadaval) e em 2000 na localidade do Painho (Cadaval). O modelo foi incluído numa rotina do programa Excel do Office 97 (Microsoft, Redmond, EUA) que funciona de modo aditivo, calcula o nível de infecção observado em cada período de humectação e adiciona-o ao seguinte, ponderado pela intensidade da doença presente em cada intervalo (Função 9). Os parâmetros do modelo mantiveram-se constantes ao longo dos anos nomeadamente,

a temperatura óptima de desenvolvimento do fungo ($T_o=21^{\circ}\text{C}$), o coeficiente de compensação térmica ($k=0,23/^{\circ}\text{C}$), o período mediano de humectação ($\tilde{w}_{T_o}=15\text{h}$) e a intensidade inicial da doença ($I_o=1\%$). A incidência potencial nos frutos foi estimada com base na presença constante de 5% dos frutos infectados, independentemente do valor real atingido ao longo da estação, e permitiu separar a influência climática do efeito do inóculo. Considerou-se a presença de períodos de infecção quando a probabilidade de infecção prevista pelo modelo foi superior a 1%. A rotina utilizada consta do Anexo 3.

Evolução das epidemias de *V. pirina* no ecossistema agrário do Oeste

Durante 1994 e 1996 a 2000 contou-se semanalmente o número de frutos com lesões de *V. pirina* em condições naturais pelo método referido para a avaliação da importância dos ascósporos nas infecções primárias (p.90). Em 1998, na ausência de frutos nas árvores experimentais, optou-se por colher amostras casualizadas de 100 folhas, as últimas duas folhas expandidas de cinco ramos terminais em cada uma das dez árvores.

Estudo das lesões e do crescimento difuso do fungo no final da estação

No final de Outubro de 1999 e 2000, ao início da queda das folhas, colheu-se uma amostra de cerca de 100 folhas dos ramos terminais (cerca de 10 por árvore) em 10 árvores não pulverizadas. Cada folha foi analisada à lupa binocular (10×) procurando identificar os locais infectados pelo fungo *V. pirina* (lesões discretas ou difusas). Fragmentos com dimensão média de 5× 5 milímetros foram cortados através do bisturi. Dois a três fragmentos por folha, retirados de locais com presença de lesões discretas, difusas ou ausência de lesão, foram colocados com a face abaxial virada para cima em lâminas de microscópio e montadas definitivamente com Gelvatol (Burkard, Herfordshire, Reino Unido). Três gotas de Gelvatol foram colocadas sobre cada fragmento de folha, por intermédio da vareta de vidro. Com o auxílio de uma agulha de ponta fina colocou-se sobre cada fragmento de folha uma lamela (18× 18).

As lâminas secaram à temperatura ambiente por períodos superiores a 24h após os quais foram observadas ao microscópio em campo escuro (100× a 400×). Procedeu-se ao registo fotográfico dos aspectos observados.

Aspectos de protecção de *V. pirina*

Sequências de protecção química

De 1995 a 2000 foram ensaiadas diversas sequências de protecção fitossanitária ao pedrado da pereira, através de utilização de fungicidas preventivos, curativos e mistura de ambos, num pomar localizado na Sobrena (Cadaval). No pomar experimental onde os blocos foram estabelecidos, as pereiras (cv. Rocha) com 10 a 15 anos de idade, de altura entre 3,5 a 4,5 metros estavam plantadas no compasso 4×1,8m e enxertadas sobre BA29. As parcelas experimentais consistiam em dois blocos de pereiras com aproximadamente 2,5ha cada onde se estabeleceu uma estratégia preventiva convencional e outra curativa ou mista. Após 1997 só se manteve o bloco curativo. De 1996 a 2000 os tratamentos curativos tiveram em consideração as previsões das versões iniciais do modelo MIP. Os tratamentos foram realizados através de um pulverizador rebocável de turbina axial, modelo Tomix 1000 P14 (Tomix, Torres Vedras, Portugal) até 1997. De 1997 a 2000 utilizou-se o pulverizador de torre do modelo Storm 1500 T32 (Tifone, Modena, Itália). O débito de calda por hectare foi de cerca de 1000L.

Capítulo 4 Resultados e discussão

Análise climática

A estação meteorológica da Sobrena foi instalada a 9 de Abril de 1996. Na altura as pereiras estavam no botão verde (estado fenológico D). As Primaveras de 1996 e 1999 foram as menos chuvosas (176mm e 127mm de Abril- Junho) dos anos em análise (1996- 2000). Em 1997, 1998 e 2000 as Primaveras foram mais chuvosas (204,8mm, 250mm e 267mm de Abril- Junho).

O período de Fevereiro a Março de 1997 foi anormalmente seco (apenas 10,6mm no total) e bastante chuvoso, de Julho a Agosto (141,6mm). Em 1998 a precipitação ocorrida durante Março (37,4mm) concentrou-se no final do mês e a ocorrida em Abril (115,2mm) foi das mais altas dos anos em estudo, só ultrapassada pela precipitação extremamente elevada ocorrida no mesmo mês, em 2000 (213,2mm). A precipitação observada de Junho a Agosto durante 1996 (9,4mm) e 1998 (12,6mm) foi reduzida como é normal para a região. Durante 1999 o valor da precipitação foi reduzido em Junho e Julho (12,6mm no total) e ligeiramente acima do normal em Agosto (21,2mm). Em 2000 a precipitação atingiu 21,8mm mas apenas no mês de Julho.

A temperatura média do ar em Fevereiro, foi mais baixa em 1999 (9,1°C) e mais alta em 2000 (12,6°C). A temperatura mínima absoluta foi bastante baixa em Dezembro de 1998 (-3,6°C), Janeiro de 1999 (-1,9°C) e 2000 (-3,4°C) ao contrário do ocorrido nos restantes anos. A temperatura média do ar durante Abril de 1998 (12,1°C) foi anormalmente baixa e inferior ao valor observado em Março (13,6°C). Ao longo de 1996 a temperatura média mensal do ar atingiu o seu valor máximo (20,5°C) durante Julho como é normal na região. Em 1997 Junho teve a temperatura máxima absoluta bastante mais baixa (23,9°C) que o normal para a época (acima de 30°C) (Fig. 41, Fig. 43).

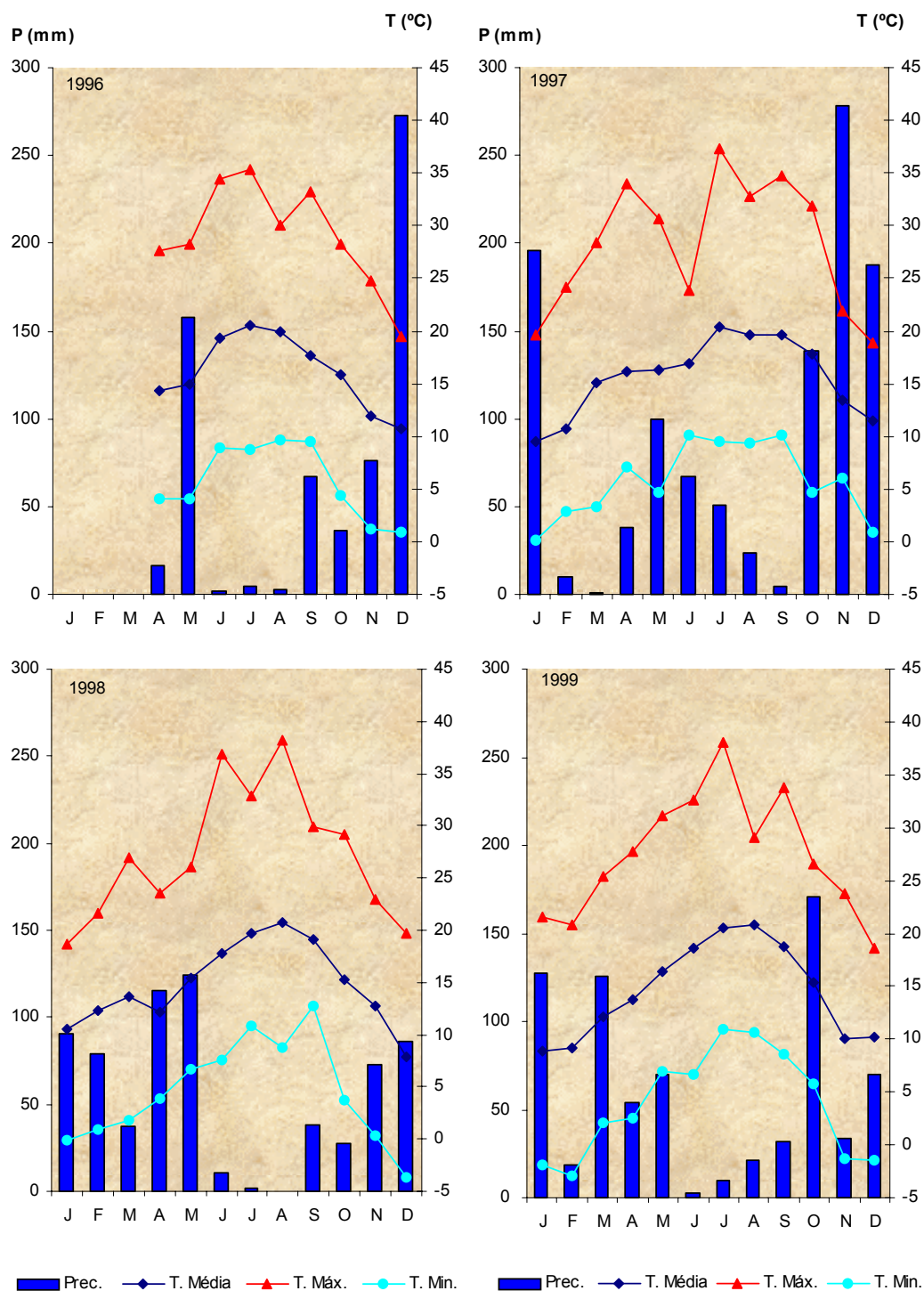


Fig. 41 Temperatura média, mínima e máxima absolutas (°C) e precipitação total (mm) mensais ocorridas na Sobrena (Cadaval) de 1996 a 1999.

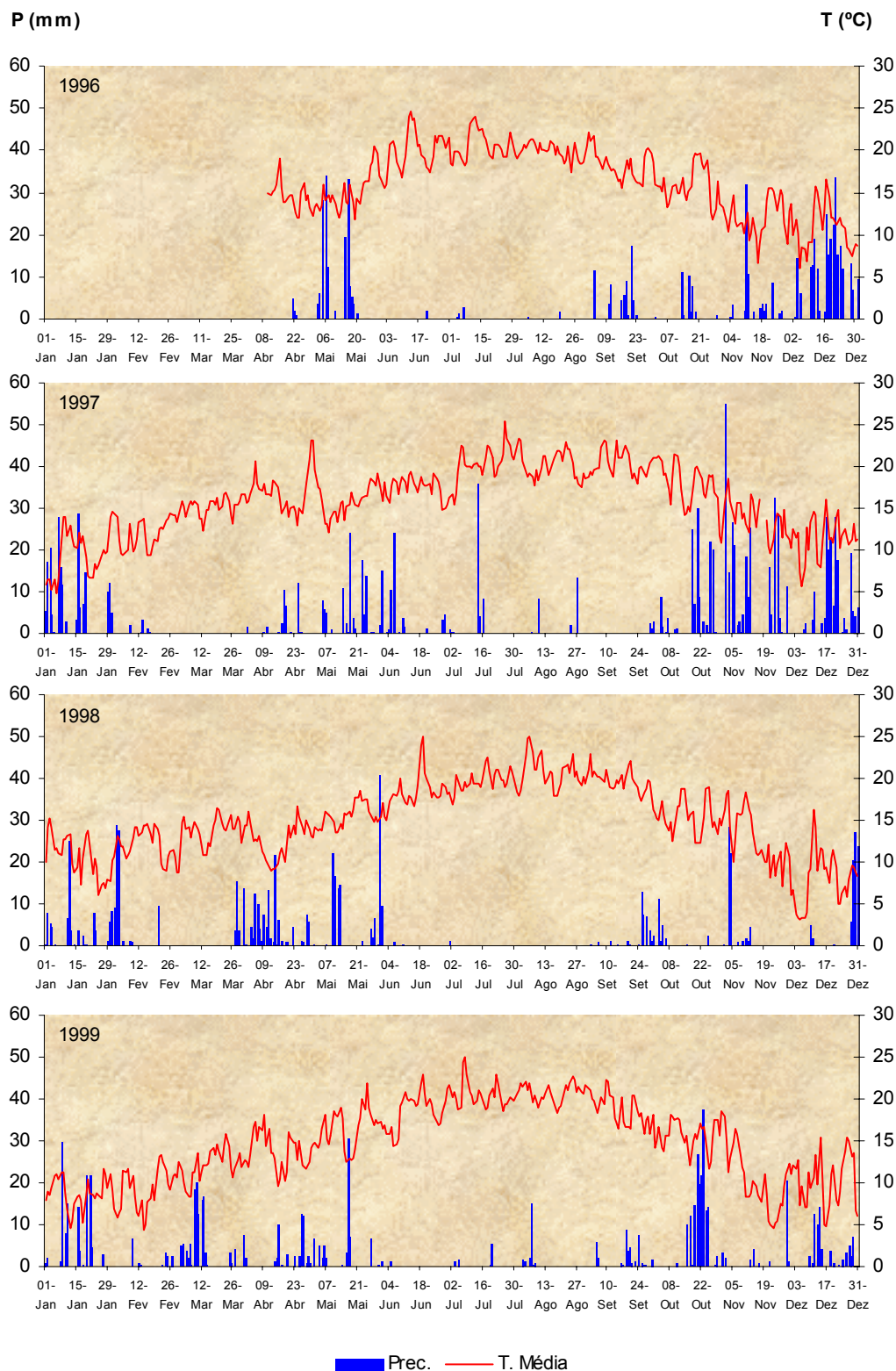
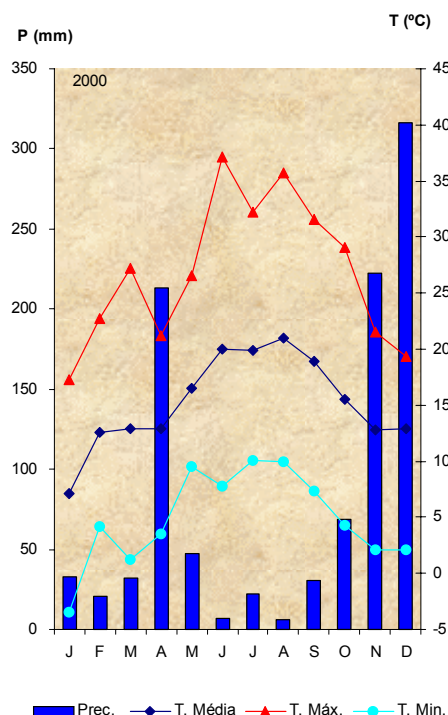


Fig. 42 Temperatura média (°C) e precipitação total (mm) diárias ocorridas na Sobrena (Cadaval) de 1996 a 1999.



A temperatura média diária durante Dezembro de 1997 e Janeiro de 1998 foi bastante elevada, atingindo as médias diárias mais de 15°C, em Janeiro de 1998. Normalmente, a temperatura média diária durante Dezembro e Janeiro oscila entre 6°C e 12°C, caso de Dezembro de 1996, 1998, 1999 e 2000 ou o Janeiro de 1999 e 2000 (Fig. 42, Fig. 44).

Fig. 43 Temperatura média, mínima e máxima absolutas (°C) e precipitação total (mm) mensais ocorridas no Painho (Cadaval) em 2000.

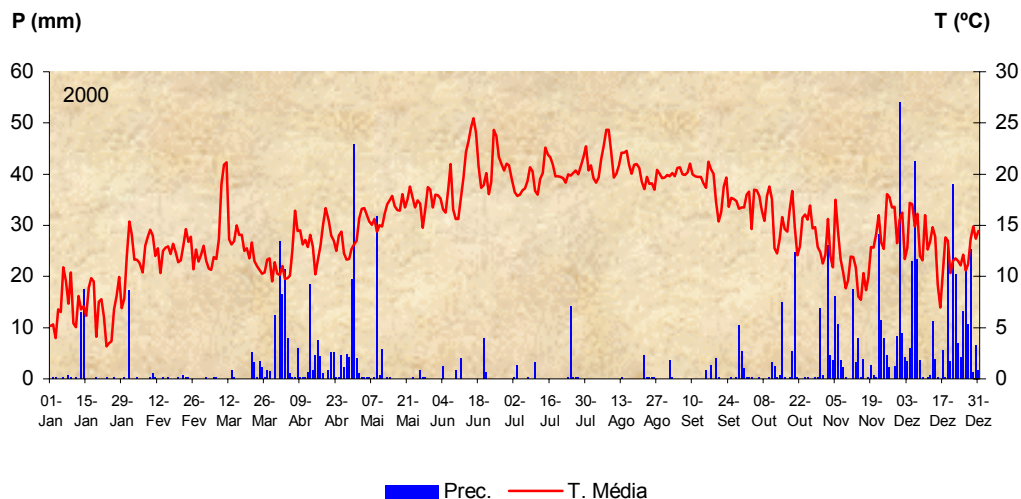


Fig. 44 Temperatura média (°C) e precipitação total (mm) diárias ocorridas no Painho (Cadaval) em 2000.

Aspectos de epidemiologia do teleomorfo de *V. pirina*

Evolução das pseudotecas e da maturação dos ascos e ascósporos

Resultados

Aspectos anteriores à maturação dos ascósporos



Fig. 45 Folhas exibindo sintomas de pedrado após a queda da folha, ao início da fase sexual, sobre a página superior da folha A e sobre a página inferior da folha B. Evolução da fase sexual em condições experimentais, no interior de bolsas de rede sobre o estrado de rede C, ou em condições naturais, cerca de um mês após a queda das folhas, sobre o solo D. Os locais assinalados indicam as lesões discretas de pedrado.

Durante a queda das folhas, em pomares onde se observaram folhas com lesões de pedrado, estas foram facilmente identificáveis nas folhas sobre o solo. As lesões foram visíveis, mesmo após o acastanhamento das folhas, nos meses seguintes à queda da folha (Fig. 45). A queda da folha na cultivar Rocha ocorreu predominantemente nos meses de Novembro e Dezembro.

Durante o Inverno de 1993, folhas recolhidas da parcela não pulverizada com fungicidas e colocadas a hibernar sobre a rede metálica no interior de bolsas plásticas, conseguiram desenvolver o teleomorfo (Fig. 45C). A rede metálica encontrava-se a

cerca de 5cm do solo. Aparentemente, não foi necessário o contacto com o solo para se observarem, durante a Primavera de 1994, grandes quantidades de pseudotecas formadas nas folhas (158).

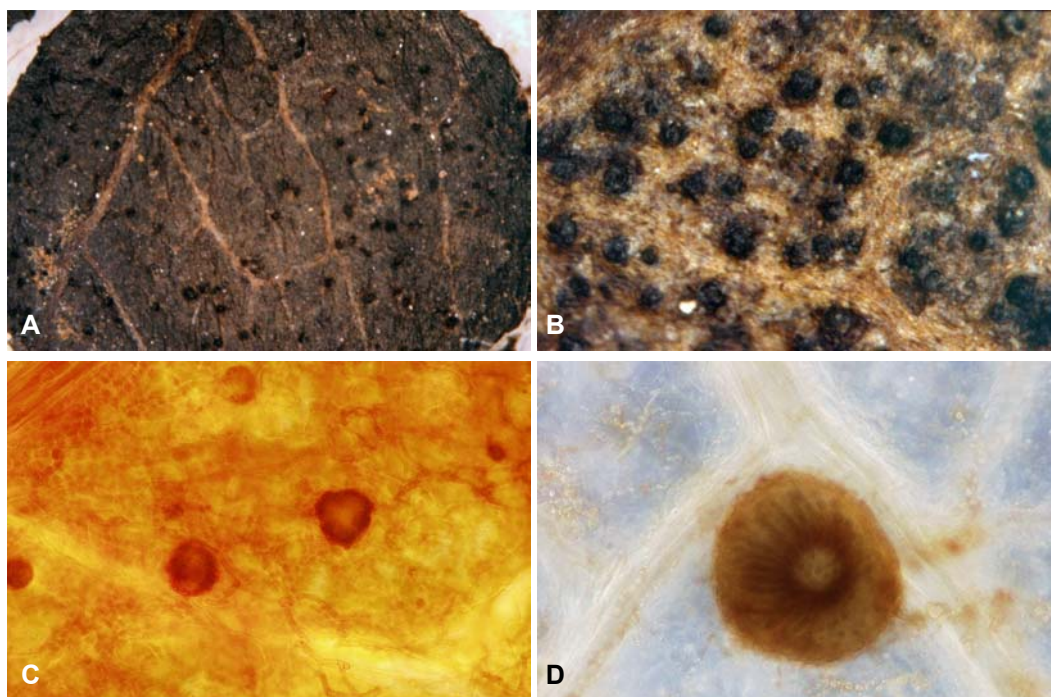


Fig. 46 *Pseudotecas de Venturia pirina imersas no interior de folhas de pereira (cv. Rocha) presentes na manta morta do pomar não tratado. Observação à lupa binocular (25×) A e (90×) B. Observação ao microscópio no início da sua formação em Janeiro (400×) C ou no início da maturação em fim de Fevereiro (400×) D.*

A maioria das pseudotecas de *V. pirina* formou-se na região do Oeste de Portugal durante os meses de Dezembro e Janeiro. Ao início de Março de 1994 e 1997 as pseudotecas imersas em folhas de pereira na manta morta do pomar apresentavam o aspecto observado na Fig. 46. A elevada precipitação ocorrida entre Novembro de 1996 e Janeiro de 1997 (468,6mm) parece ter sido o factor determinante no elevado número de pseudotecas formadas em 1997. Durante o Inverno de 1998 a precipitação ao longo do mesmo período foi inferior (278mm), mas a distribuição das chuvas apresentou um padrão similar. No Inverno de 96– 97 a temperatura média durante o período de formação das pseudotecas de *V. pirina* (Dezembro e Janeiro) foi inferior 0,9°C em relação à de 97– 98 (Quadro 1). Durante 1998 o número de pseudotecas imersas nas folhas foi menor.

Quadro 1 Temperatura média do ar (°C) e precipitação média (mm) no período de Dezembro a Janeiro durante a formação das pseudotecas de Venturia pirina. Temperatura média do ar (°C) e precipitação total (mm) ocorrida, em Fevereiro, ao início da formação dos ascos.

	96-97	97-98	98-99	99-00
Dezembro-Janeiro				
Temperatura média do ar (°C)	10,1	11,0	8,4	8,7
Precipitação média (mm)	234,3	139,0	106,8	51,7
Fevereiro				
Temperatura média do ar (°C)	10,8	12,3	8,9	12,6
Precipitação (mm)	9,6	79,4	18,2	20,6

Durante 1996 o número de ascos no interior das pseudotecas evidenciou o valor mais baixo (84 ascos/ pseudoteca) dos três anos de observação (Fig. 47). Não existem registos precisos do valor da temperatura e precipitação ocorridos no Inverno de 1995 na zona da Sobrena. Contudo, o Inverno de 1995 foi ameno com baixa precipitação e poderá explicar o reduzido número de ascos observado no interior das pseudotecas durante a Primavera de 1996.

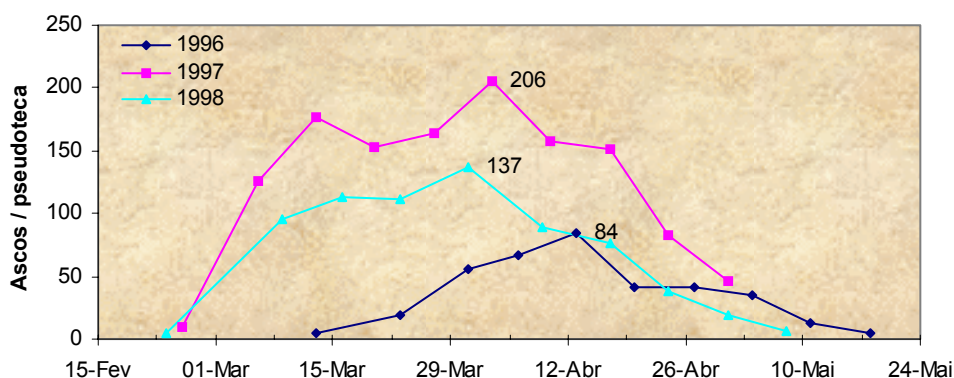


Fig. 47 Avaliação do número médio de ascos de Venturia pirina no interior das pseudotecas pelo método diferencial de Gadoury e MacHardy (49). O número máximo de ascos por pseudoteca variou de 84 em 13 de Abril de 1996 a 206 em 3 de Abril de 1997. Conteúdo médio de 20 pseudotecas esmagadas e contadas semanalmente, recolhidas das folhas na parcela não pulverizada de pereira (cv. Rocha) na Sobrena de 1996 a 1998.

O número de ascos no interior das pseudotecas atingiu em média 206 ascos/pseudoteca em 1997. Em 1998 o número de ascos formado no interior das pseudotecas foi de 137 ascos/pseudoteca, inferior ao de 1997. O estímulo para a formação dos ascos pareceu ocorrer no final de Janeiro ou no início de Fevereiro e a maioria dos ascos formou-se entre Fevereiro e Março. Em Fevereiro de 1997 a

temperatura média do ar foi 2,5°C inferior à média de 1998. Todavia, o oposto aconteceu durante o mês de Março, consideravelmente mais quente em 1997.

A baixa precipitação ocorrida durante os meses de Fevereiro e Março de 1997 parece ter retardado a formação dos ascos no interior das pseudotecas ou a evolução normal da maturação dos ascósporos.

O número máximo de ascos por pseudoteca foi de 84, 206 e 137 em 1996, 1997 e 1998, respectivamente. A média dos três anos foi de 142,3 ascos/ pseudoteca.

Aspectos posteriores ao início da maturação dos ascósporos

Na Fig. 48 são mostrados ascos em diferentes fases do processo de maturação. Os ascos podem observar-se, no interior das pseudotecas, imaturos ao início da formação dos ascósporos (Fig. 48A), com ascósporos imaturos em formação (Fig. 48B), com oito ascósporos maduros no interior (Fig. 48C), maduros e prontos para a emissão de ascósporos (Fig. 48D) ou vazios (Fig. 48E, F). No fim da época das infecções primárias podem ser observados ascos no interior das pseudotecas com um a cinco ascósporos remanescentes (Fig. 49A), com ascósporos degenerados no seu interior (Fig. 49C) e com ascos vazios em desintegração (Fig. 49D). Os ascósporos degenerados possuem cor castanha e membranas enrugadas (Fig. 49C) sendo diferentes dos ascósporos normais (Fig. 49B).

Desde o início da formação dos ascos, o seu número semanal foi aumentando e a formação de novos ascos no interior das pseudotecas pareceu ser um fenómeno contínuo. O seu declínio posterior deveu-se ao processo de desintegração que ocorreu nos ascos vazios após a descarga dos ascósporos (Fig. 49). Como consequência deste mecanismo natural, ao início da maturação dos ascósporos foi subavaliado o número de ascos imaturos e no final do processo subavaliado o número dos ascos vazios. Muitos ascos vazios desintegraram-se e desapareceram. Deste modo foi necessário corrigir as contagens semanais de modo a compensar os ascos não formados no início da época de maturação e os desintegrados no final.

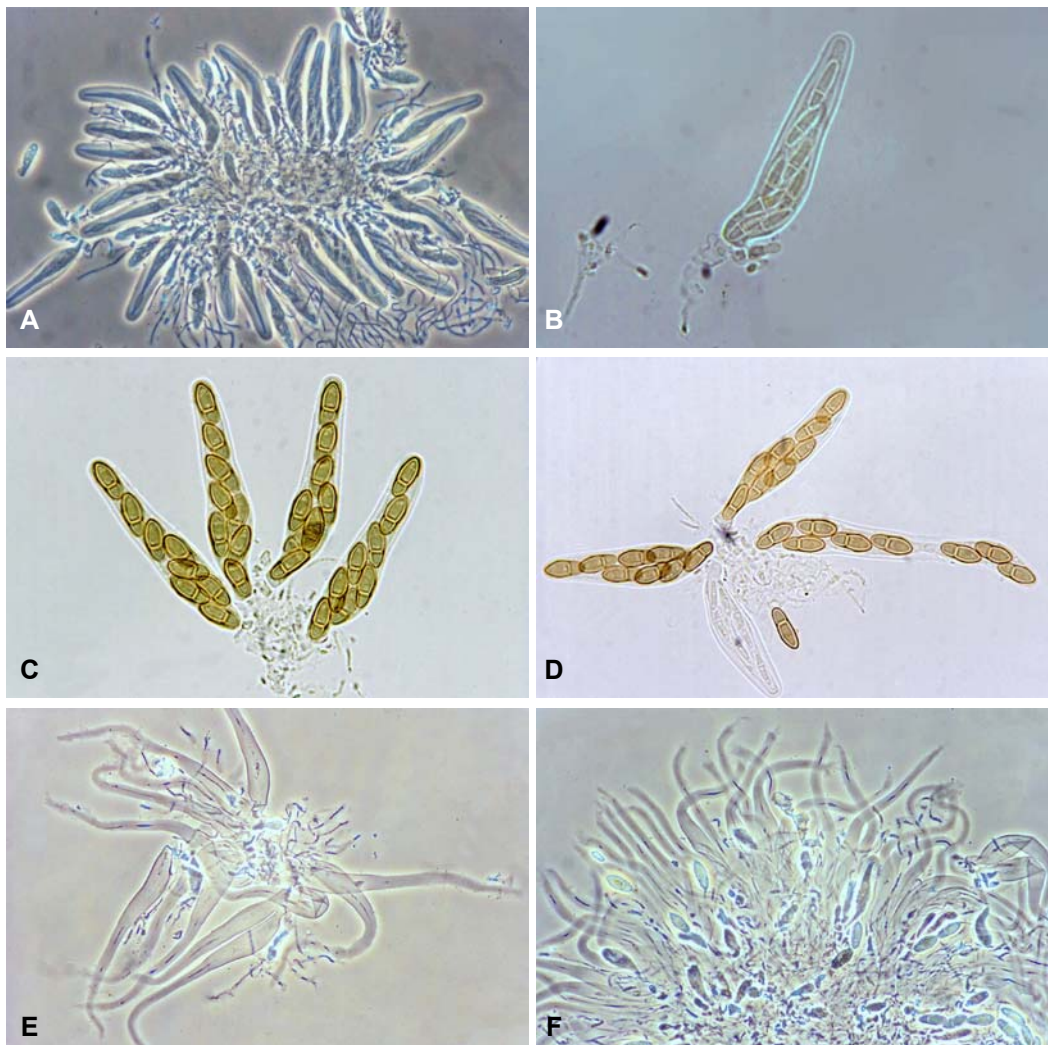


Fig. 48 Aspectos morfológicos da evolução dos ascos de *Venturia pirina* no interior das pseudotecas. Ascus imaturos sem ou com o esboço de ascósporos e pseudoparáfises (400×) **A**. Asco imaturo com ascósporos em formação (600×) **B**. Ascus com oito ascósporos maduros (600×) **C**. Asco maduro no momento da emissão dos ascósporos (600×) **D**. Ascus vazios imediatamente após a emissão dos ascósporos (400×) **E**. Conteúdo de pseudoteca mostrando o aspecto dos ascos vazios (400×) **F**.

A correcção das estimativas foi realizada do seguinte modo, exemplificando: em 23 de Março de 1996, o número médio de ascos no interior das pseudotecas foi de 19,1 dos quais 12,8 estavam imaturos (67,0%). Como após esta data se formou um número substancial de ascos, a estimativa está enviesada. Em 1996 a média do valor máximo de ascos por pseudoteca foi de 84,0 a 13 de Abril. Então, 64,9 foi a diferença entre o valor máximo e o número médio de ascos presentes nas pseudotecas a 23 de Março ($64,9 = 84,0 - 19,1$) e representou o número médio de

ascos formados entre 23 de Março e 13 de Abril, a considerar imaturos a 23 de Março. A estimativa corrigida de ascos imaturos (92,5%) a 23 de Março foi obtida adicionado 64,9 a 12,8 e dividindo por 84, o número que, provavelmente, melhor representou a quantidade total de ascos presentes nas pseudotecas nesse ano.



Fig. 49 Aspectos morfológicos de ascos e ascósporos de Venturia pirina no final da época das infecções primárias. Asco no final da época das infecções primárias com três ascósporos remanescentes no seu interior (400×) A. Ascósporo maduro evidenciando turgidez e a dupla membrana lisa (1000×) B. Asco com ascósporos degenerados (600×) C. Ascos vazios degenerados em desintegração (600×) D.

Em 1 de Maio de 1997 a estimativa não corrigida da percentagem de ascos vazios foi de 62,9% e a corrigida de 89,7%, diferença bastante importante pois condicionou a tomada de decisão baseada na estimativa final dos ascósporos presentes no ecossistema agrícola.

Na Fig. 50 apresenta-se a percentagem de ascos corrigida dentro de cada classe de maturação tendo em conta o número máximo de ascos formado no interior das pseudotecas em cada ano.

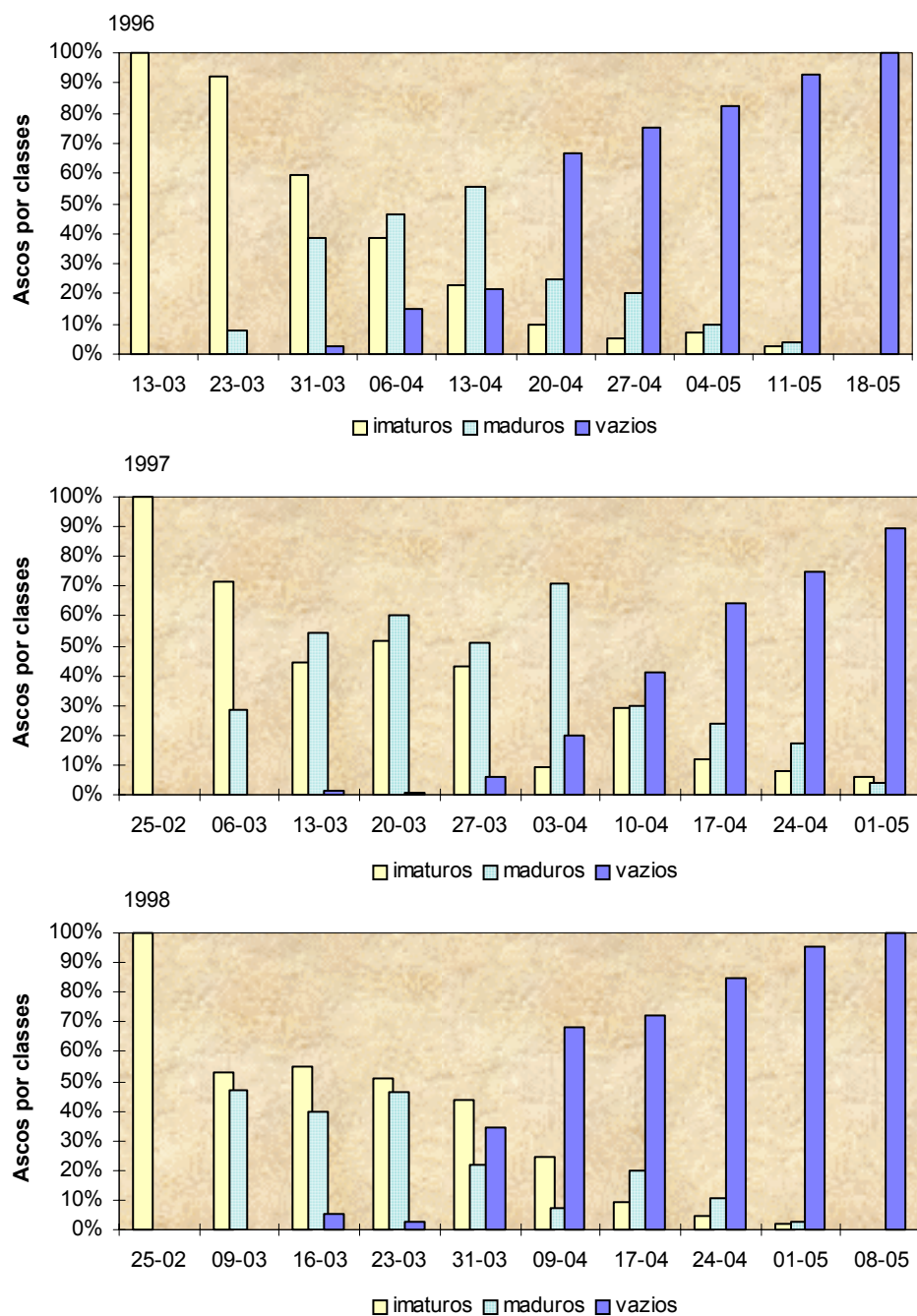


Fig. 50 Evolução da maturação dos ascósporos de *Venturia pirina* no interior de pseudotecas esmagadas, recolhidas semanalmente de 1996 a 1998 da manta morta na parcela de pereiras (cv. Rocha) não pulverizada localizada na Sobrena. Distribuição por classes de maturidade do número médio de ascos corrigido observado no interior de vinte pseudotecas esmagadas.

Verificou-se em 1996 a 1998 que os ascos presentes na amostragem de 20 pseudotecas se encontravam imatuross (com ou sem ascósporos em formação) no dia

13 de Março em 1996 e no dia 25 de Fevereiro em 1997 e 1998. Verificou-se em dois dos três anos em análise a rápida evolução da maturidade dos ascósporos, no início da estação, entre a segunda quinzena de Fevereiro e a primeira de Março em 1997 e 1998. Em 1996 este fenómeno ocorreu preferencialmente da primeira quinzena de Março para a segunda. No início da estação observou-se grande variância na amostragem das pseudotecas contendo os ascósporos maduros factor atenuado no final da estação.

O número máximo de ascos presentes nas pseudotecas foi atingido a 31 de Março, 3 e 13 de Abril em 1998, 1997 e 1996, respectivamente. As pereiras encontravam-se em plena floração (estado F-G) em 1996, frutos em crescimento (estado J) em 1997 e no botão branco (estado E) em 1998.

Os primeiros ascos vazios surgiram no interior das pseudotecas a 31 de Março (2,3% do total) em 1996, 13 de Março (1,1% do total) em 1997 e 16 de Março (5,1% do total) em 1998. Não se registou chuva no período de 18 de Fevereiro a 2 de Abril (43 dias) em 1997 e entre 23 de Fevereiro e 26 de Março em 1998 (32 dias). No entanto, nos referidos períodos registou-se forte orvalho (0,2mm durante a noite) em 10 dias de 1997 e em quatro dias de 1998. O orvalho parece ter estimulado a emissão de ascósporos por alguns dos ascos. O aparecimento nas pseudotecas dos primeiros ascos vazios coincidiu com a observação dos intervalos de 7,5– 38,4%, 28– 54,4% e 39,6– 46,9% de ascos com ascósporos maduros no seu interior em 1996, 1997 e 1998, respectivamente.

Durante o mês de Abril, a precipitação foi de 16mm, 38,2mm e 115,2mm em 1996, 1997 e 1998, respectivamente. Em 1997, no final de Abril e princípio de Maio, existiam alguns ascos imaturos no interior das pseudotecas com a incapacidade aparente de produzir ascósporos.

No fim de Abril ou princípio de Maio finalizou-se a época das infecções primárias. No interior das pseudotecas os ascos exibiam a maior parte dos ascósporos maduros a 27 de Abril (95,0%), 1 de Maio (93,9%) e 24 de Abril (95,3%) em 1996, 1997 e 1998, respectivamente (Fig. 51).

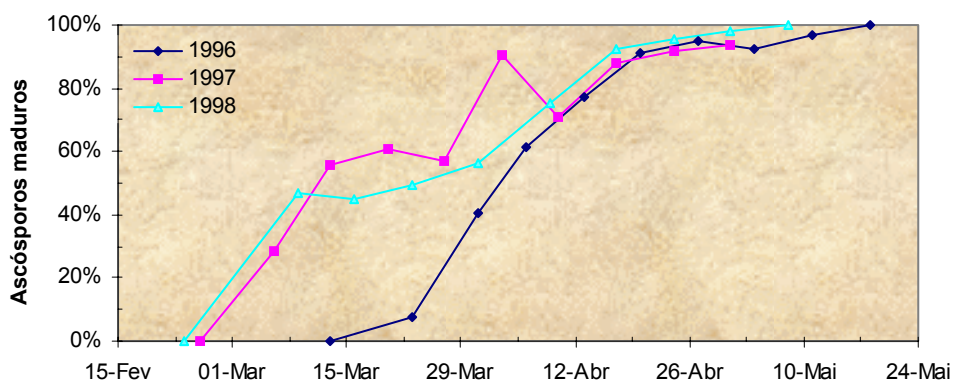


Fig. 51 Avaliação da maturação dos ascósporos de *Venturia pirina* através da percentagem de ascos com ascósporos maduros ou vazios. Conteúdo médio de 20 pseudotecas esmagadas e contadas semanalmente pelo método diferencial de Gadoury e MacHardy (49), recolhidas das folhas na parcela de pereira (cv. Rocha) não pulverizada na Sobrena, de 1996 a 1998.

Modelos da maturação dos ascósporos pelo método do esmagamento de pseudotecas

A percentagem de ascos contendo ascósporos maduros foi relacionada com o integral térmico acumulado acima de 0°C, desde a data de observação dos primeiros ascósporos maduros e o fim da maturação, no princípio de Maio, de 1996 a 1998. Essas relações estão representadas na Fig. 52.

Quando o cálculo dos graus-dia acumulados se baseou na data de observação dos primeiros ascósporos maduros obteve-se a dispersão de dados bastante homogênea (Fig. 52A). A sobreposição aos dados do modelo matemático tendo por base a taxa de maturação de 0,00415/ °C acumulado, proposta por Spotts e Cervantes (169) para o Oregon, conduziu à relação significativa ($p < 0,001$) com coeficiente de correlação de 80,6%. A utilização da data fixa anual (1 de Março) para o início do integral térmico, embora apresente o desfasamento acentuado no ano de 1996, permitiu obter também a relação significativa ($p < 0,001$).

Do ponto de vista das previsões efectuadas, tendo por base os modelos descritos, verifica-se o maior desfasamento nas previsões ao início da época das infecções primárias e a aproximação no final da estação, quando a maioria das pseudotecas já emitiram os seus ascósporos. O modelo prevê 95% e 98% de ascósporos maduros ao fim de 720°C e 940°C, respectivamente.

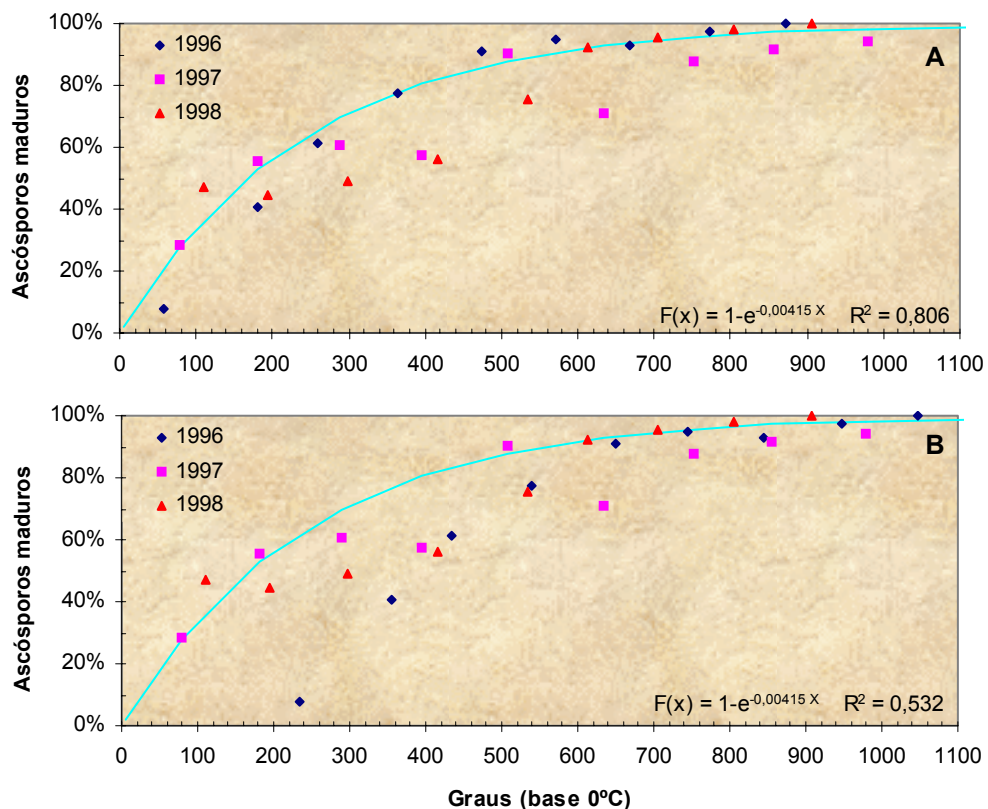


Fig. 52 Modelo para a estimativa da evolução da maturação dos ascósporos de *Venturia pirina*, assumindo a taxa de maturação proposta no modelo de Spotts e Cervantes (169), para os anos de 1996 a 1998 na Sobrena. As observações basearam-se na média do conteúdo de 20 pseudotecas esmagadas e contadas semanalmente pelo método diferencial de Gadoury e MacHardy (49). O início do integral térmico médio acima de 0°C aconteceu após a observação dos primeiros ascósporos maduros ($p < 0,001$) A ou após 1 de Março ($p < 0,001$) B.

No Quadro 2 faz-se o resumo dos pontos mais relevantes da fase sexual do fungo *V. pirina*, em relação ao seu hospedeiro e ao integral térmico, calculado acima de 0°C, após a observação dos primeiros ascósporos maduros no interior das pseudotecas. As pseudotecas apresentavam 95% de ascósporos maduros após 571°C em 1996, 704°C em 1998 e mais de 980°C em 1997. A totalidade dos ascósporos maduros foi atingida, em dois dos anos em estudo, quando o integral térmico observado foi cerca de 900°C ou inferior. Em 1997 a completa maturação dos ascósporos necessitou aparentemente de unidades térmicas adicionais. Contudo, no fim da época foram observados alguns ascos imaturos (6,1%), no interior de pseudotecas, em processo de desintegração, sem a capacidade aparente para completar o processo. Verificou-se que o integral térmico calculado após 1 de Março totalizou 900°C no dia 8 de Maio

de 1996 e 1998-2000. A única exceção foi 1997 onde os 900°C ocorreram no dia 27 de Abril.

Quadro 2 Data do início da maturação dos ascósporos de Venturia pirina (IMA), primeira observação de ascos vazios nas pseudotecas (IAV) e correspondente estado fenológico da pereira (EF). Data da observação de 95% e 100% de ascósporos maduros (M95 e M100) e integral térmico diário (IT), calculado acima de 0°C após o início da maturação dos ascósporos. Data correspondente a 900°C acumulados desde 1 de Março (IT900).

Ano	IMA	EF	IAV	EF	M95	IT(°C)	M100	IT(°C)	IT900
1996	13/3-23/3	A-B	23/3-31/3	B-C	27/4	571	18/5	871	08/5
1997	25/2-06/3	B-C	06/3-13/3	D-E	01/5	>980	>01/5	>980	27/4
1998	25/2-09/3	A	09/3-16/3	A-B	24/4	704	08/5	907	08/5

A– repouso, B– intumescimento dos gomos, C– ponta verde, D– botão verde e E– botão branco

Discussão

Aspectos anteriores à maturação dos ascósporos

A queda da folha da pereira acontece na região do Oeste de Portugal entre Novembro e Dezembro (206). A maioria das pseudotecas de *V. pirina* formou-se no mês seguinte à queda da folha, preferencialmente durante o mês de Janeiro, no período de 1996 a 1998. Segundo Gadoury e MacHardy (48) a maioria das pseudotecas de *V. inaequalis* forma-se nos 28 dias após a queda da folha da macieira.

Para *V. inaequalis* existe a relação negativa entre o número de ascos observado no interior das pseudotecas e a temperatura, desde o início da formação dos ascos até ao pico (52). Para *V. pirina* este período correspondeu aproximadamente aos meses de Fevereiro e Março na região do Oeste de Portugal. Aparentemente, o número de ascos de *V. pirina* foi determinado antes do aparecimento de ascósporos maduros no seu interior, a variação da temperatura após esta fase não pareceu alterar o número de ascos formados em cada pseudoteca. Na região do Oeste o número de ascos dependeu fortemente das condições climáticas prevalecentes durante Fevereiro.

Aspectos posteriores ao início da maturação dos ascósporos

Os ascósporos iniciaram o seu processo de amadurecimento entre a fase final do repouso vegetativo (estado A) e a ponta verde (estado C) dos gomos da pereira, do fim de Fevereiro ao princípio de Março. O pico da maturação dos ascósporos

ocorreu normalmente, durante o período de floração. O processo de maturação completou-se no fim de Abril ou no princípio de Maio. Na região do Oeste muitos ascósporos de *V. pirina* apresentaram-se desintegrados ou enrugados após meados de Abril. Este aspecto foi também observado no Oregon por Spotts e Cervantes (169) no final da estação, onde as pseudotecas com 5% de ascos contendo ascósporos de *V. pirina* maduros não emitiam ascósporos.

Rosa e Gonçalves (133), por observação microscópica das pseudotecas, indicam o início da maturação dos ascósporos de *V. pirina* na região do Dão de 11 a 25 de Março, após ocorrerem de 774°C a 1013°C acumulados desde 1 de Dezembro. O valor médio deste integral térmico foi determinado em 905,8°C na região de Viseu (132).

Cruz *et al.* (38) referem o início do desenvolvimento vegetativo da pereira na região do Oeste de Portugal em Fevereiro ou Março e as pseudotecas geralmente maduras, a emitir os ascósporos, de meados de Fevereiro a princípios de Maio. Caso exista o atraso do início da maturação para Março a emissão dos ascósporos é prolongada até Junho. Em 1996, a maturação dos ascósporos teve início de 13 a 23 de Março, contudo não ocorreu qualquer atraso na progressão da maturação dos ascósporos, que terminou, à semelhança dos restantes anos do estudo, no princípio de Maio.

O número médio de ascos presentes nas pseudotecas, 84 em 1996, 206 em 1997 e 137 em 1998, apresentou uma variação considerável, talvez explicada em virtude do Inverno de 1995- 96 ter sido ameno e pouco chuvoso em contraste com os de 1996- 97 e 1997- 98, frios e chuvosos. A diferença do número de ascos presente nas pseudotecas após os Invernos de 1996- 97 e 1997- 98 talvez seja explicada pela temperatura média observada em Fevereiro de 1997, ao ser inferior à do mesmo mês em 1998, possibilitou a formação de maior número de ascos no interior das pseudotecas.

Na região do Oeste, 142,3 ascos por pseudoteca foi o valor médio de ascos nos anos de 1996 a 1998. De acordo com Spotts e Cervantes (169) o número médio de ascos de *V. pirina* no interior das pseudotecas no Oregon é de 143 ± 7 . Todavia,

recentemente, os mesmos autores têm considerado o valor de 131,5 ascos por pseudoteca no cálculo do PAD (167).

Para *V. inaequalis*, é referido o valor médio de 122 ascos por pseudoteca (51). O número de ascos presentes nas pseudotecas de *V. inaequalis* é principalmente condicionado pela temperatura, sendo as mais baixas as favoráveis ao aparecimento de maior número (52, 99).

A época de infecção primária na região do Oeste durou cerca de dois meses. Spotts e Cervantes (169) observaram no Oregon períodos de maturação e emissão dos ascósporos mais longos (3-4 meses). Este facto deve-se provavelmente ao clima mais frio dessa região, pois o integral térmico acumulado no Oeste, até ao fim da maturação dos ascósporos nos anos de 1996- 98 foi cerca de 900°C, idêntico ao indicado para o Oregon (1000°C) para aproximadamente 98% de ascósporos maduros. Vários modelos para *V. inaequalis* indicam 50% de ascósporos maduros após 500°C ou 600°C (20, 143, 174). Em climas do tipo mediterrânico, os ascósporos amadurecem e podem ser emitidos no período de quatro a 10 semanas (16, 38, 158, 210), sendo a maioria emitida em menor intervalo. Quando se considera a época da plena floração e não o intervalo absoluto como referência, é vulgar a maturação dos ascósporos terminar no intervalo de duas a seis semanas após a plena floração. Em 1994 a plena floração aconteceu no dia 26 de Março e a quantidade de ascósporos maduros foi diminuta um mês após a data (158). Após o vingamento da pereira (estado fenológico I) menos ascósporos maduros foram observados no interior das pseudotecas.

A emissão regular de quantidade substancial de ascósporos foi observada após a percentagem de ascósporos maduros ultrapassar 30% a 40%, dentro das pseudotecas. O intervalo de 10 ou mais dias ocorreu entre o início dos ascósporos maduros e a observação dos primeiros ascos vazios dentro das pseudotecas, indicador da sua emissão. Aparentemente, 85°C a 125°C adicionais, acumulados desde a observação dos primeiros ascósporos maduros, foi necessária aos ascos para a completa maturação.

Embora o exame de pseudotecas esmagadas seja um dos métodos mais utilizados mundialmente para avaliar a evolução da maturação dos ascósporos e assim determinar o início e fim da época das infecções primárias, o método pode conduzir a estimativas enviesadas do padrão de maturação e descarga dos ascósporos de *V. pirina*. Miller e Waggoner (106) observaram 25% de ascósporos maduros no fim da Primavera em pseudotecas esmagadas de *V. inaequalis*. Contudo, utilizando o captasporos, situado no mesmo local onde as folhas eram amostradas foram incapazes de recolher ascósporos em situações meteorológicas favoráveis às emissões. O facto segundo Gadoury e MacHardy (49), deveu-se ao método de contagem dos ascos utilizado por Miller e Waggoner, que subestimou os ascos vazios no fim da estação.

A técnica do esmagamento das pseudotecas é útil para identificar fases importantes da evolução da população hibernante do pedrado: o amadurecimento dos primeiros ascósporos, o pico dos ascósporos maduros e o fim dos ascósporos no ecossistema agrícola, atingido pelas pseudotecas com mais de 95% de ascósporos maduros.

Método de previsão do grau de maturação dos ascos e ascósporos

Resultados

Método das placas de Petri

Na Fig. 53 e Fig. 54 pode-se observar o número médio de ascósporos emitidos por cm² de folha, durante o período de uma hora, ao longo da Primavera de 1996 e 1997.

No ano de 1996 o número máximo de ascósporos emitidos por cm² de folha foi de 1331 ascósporos e aconteceu a 4 de Maio. Nesse ano a data coincidiu com o último dia de emissão de ascósporos. O número máximo de ascósporos emitidos em 1997 ocorreu no dia 19 de Abril (404 ascósporos) na amostra proveniente do pomar pulverizado (T) e a 3 de Maio (3257 ascósporos) na amostra do pomar não pulverizado (NT). Todavia, o número de ascósporos emitidos a 3 de Maio (T– 374 ascósporos) foi um dos mais elevados da estação em ambos os pomares.

Em 1996 e 1997 o número total de ascósporos emitidos durante a época das infecções primárias foi de 4444 ascósporos e 12146 ascósporos por centímetro

quadrado de folha na parcela sem tratamentos fungicidas, respectivamente. No pomar comercial o número total de ascósporos emitidos foi de 1849 ascósporos/cm² de folha em 1997. A estimativa do número de pseudotecas contidas por cm² de tecido vegetal foi de 6,6 em 1996 e 7,4± 1,3 em 1997 na parcela não tratada, e de 1,1± 0,5 em 1997 no pomar comercial.

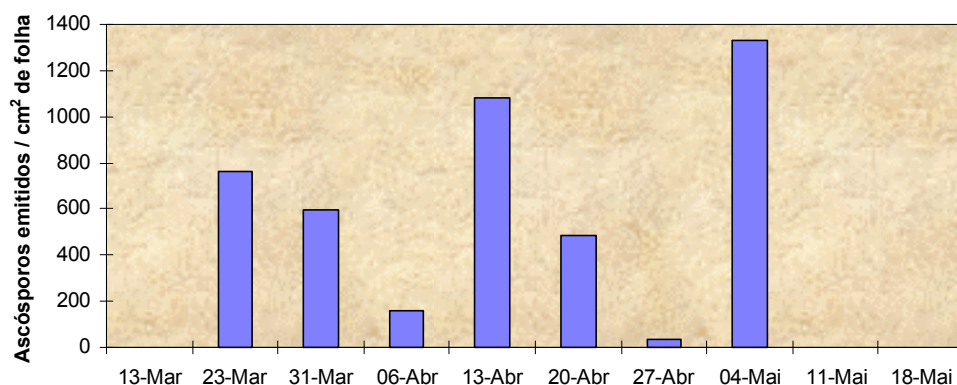


Fig. 53 Número médio de ascósporos de *Venturia pirina* emitidos semanalmente por cm² de folha durante 1996. Amostra da manta morta efectuada no início de Março na parcela sem tratamentos fungicidas localizada na Sobrena.

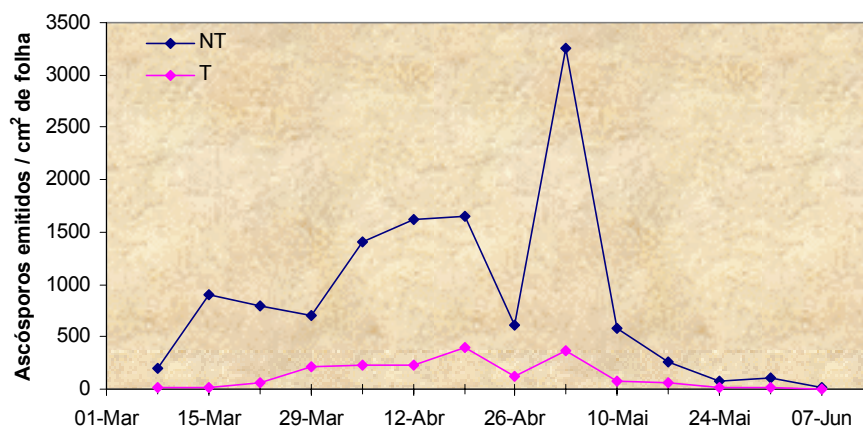


Fig. 54 Número médio de ascósporos de *Venturia pirina* emitidos semanalmente por cm² de folha durante 1997. NT – pomar sem tratamentos fungicidas, T – pomar com tratamentos fungicidas. Amostra da manta morta efectuada no início de Março nos dois pomares localizados na Sobrena.

Em 1996 os primeiros ascósporos reuniram as condições necessárias à emissão durante a terceira semana de Março e em 1997 durante a primeira semana de Março.

Entre 13 e 23 de Março de 1996 amadureceram 17% dos ascos de *V. pirina* possibilitando a emissão de igual fracção de ascósporos. De 18 a 25 de Março as

pereiras (cv. Rocha) evoluíram do estado A (dormência) ao estado B (intumescimento dos gomos). A totalidade dos ascósporos foi emitida até 4 de Maio nesse ano. No último dia de emissão de ascósporos o evento correspondeu a 30% do total observado nesse ano (Fig. 53). Em 1996 a plena floração da pereira ocorreu de 15 a 20 de Abril.

No dia 8 de Março de 1997 emituiu-se 1,6% dos ascósporos de *V. pirina* (Fig. 54). De 3 a 9 de Março de 1997 as pereiras evoluíram do estado fenológico C (ponta verde) para o D (botão verde). A 10 e 17 de Maio, 96,3% e 98,4% dos ascósporos do ensaio foram emitidos, respectivamente. De notar que a plena floração da pereira aconteceu muito cedo em 1997, de 16 a 21 de Março.

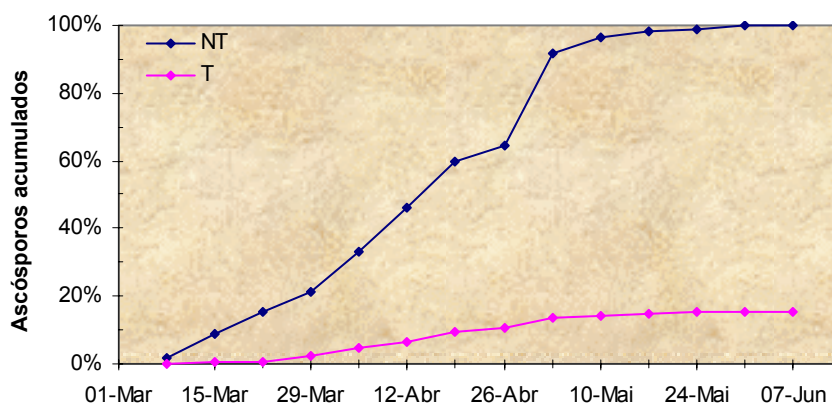


Fig. 55 Evolução da percentagem acumulada de ascósporos de *Venturia pirina* emitidos semanalmente por cm^2 de folha, ao longo da Primavera de 1997. NT– pomar sem tratamentos fungicidas, T– pomar com tratamentos fungicidas. Amostra da manta morta efectuada no início de Março nos dois pomares localizados na Sobrena.

Em relação ao inóculo potencial observado em 1997 nos dois pomares, verificou-se que o número de ascósporos emitido por cm^2 de folha no pomar tratado na estação anterior, representou 15% do valor observado no pomar abandonado (Fig. 55).

Quando se comparou a percentagem de ascósporos emitidos em 1996 e 1997 (Fig. 56) nas folhas provenientes da parcela sem tratamentos fungicidas, verificou-se a grande semelhança no padrão temporal de emissão, constituindo um resultado inesperado, dada a diferença climática observada nos dois anos.

Todavia, verificou-se, comparativamente aos dois anos, que o atraso inicial na emissão dos ascósporos observado em 1996 foi atenuado no final da estação, em

concordância com os resultados dos ensaios anteriores, que mediram a evolução da maturação no interior das pseudotecas.

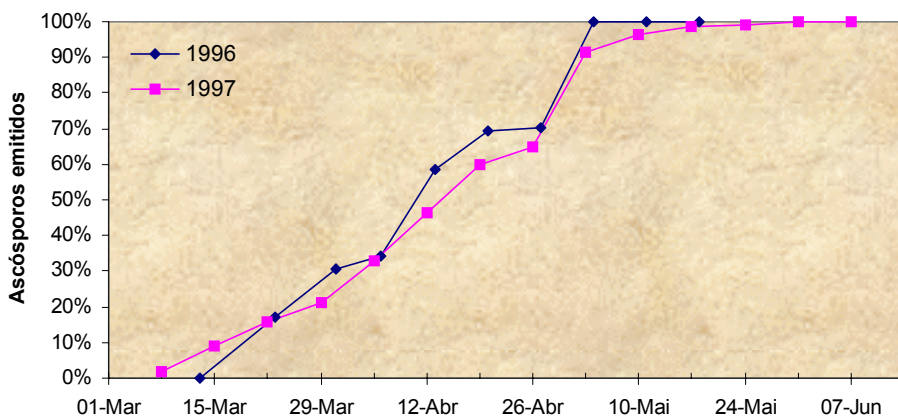


Fig. 56 *Evolução da percentagem acumulada de ascósporos de Venturia pirina emitidos semanalmente ao longo da Primavera de 1996 e 1997 por cm² de folha amostrada. Amostra da manta morta efectuada no início de Março no pomar sem tratamentos fungicidas, localizado na Sobrena.*

A comparação dos dois métodos utilizados para avaliar o grau de maturação dos ascósporos (Fig. 57), no interior das pseudotecas ou através da sua emissão, permitiu constatar que a maturação dos ascósporos foi anterior à maturação dos ascos correspondentes. A observação atenta da Fig. 57 permite verificar que as curvas de maturação dos ascósporos, obtidas em 1996 e 1997, pela observação do interior das pseudotecas, não coincidem com as curvas de ascos vazios dos respectivos anos nem com as curvas de emissão dos ascósporos nas placas de Petri. As curvas de emissão dos ascósporos nas placas de Petri aproximam-se mais das curvas de ascos vazios em relação às curvas de maturação dos ascósporos. A progressão da maturação pelas curvas de ascósporos maduros foi anterior à progressão da maturação dos ascos observada pelas curvas de emissão dos ascósporos. O desfasamento entre as curvas de ascos vazios e as de emissão dos ascósporos, observado no início da estação, pode ter sido resultado da ausência de chuva durante esta fase, que impediu a emissão dos ascósporos em condições naturais e assim o aparecimento de ascos vazios. Em 1996 não se registou precipitação de 9 a 20 de Abril, nada podendo ser referido para o período anterior a 9 de Abril, por ausência de dados climáticos. Em 1997 a chuva foi ausente durante Março até 2 de Abril. A única precipitação observada neste período deveu-se a cinco períodos de orvalho que totalizou 1mm.

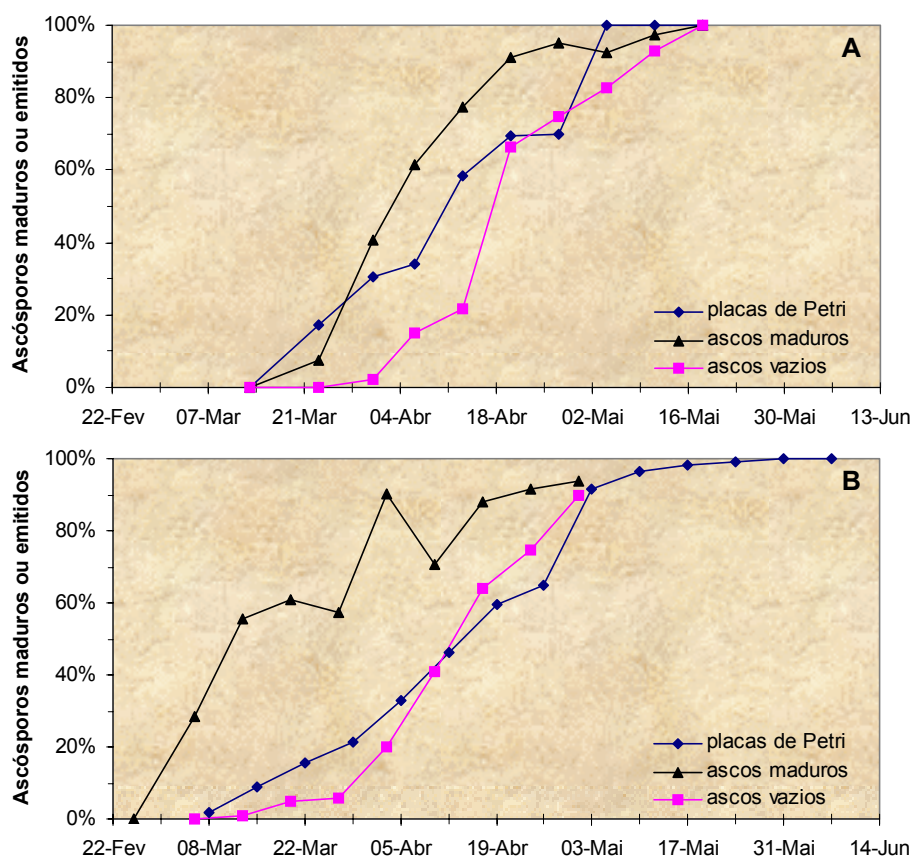


Fig. 57 Evolução da percentagem acumulada de ascósporos de *Venturia pirina* emitidos semanalmente nas placas de Petri por cm² de folha amostrada e a mesma evolução através da observação do conteúdo das pseudotecas (ascos maduros ou vazios) pelo método do esmagamento ao longo da Primavera de 1996 **A** e 1997 **B**. Amostras da manta morta efectuadas na parcela sem tratamentos fungicidas, localizada na Sobrena.

Entre o ponto médio (50%) da curva de maturação dos ascósporos e o correspondente a 50% de emissão de ascósporos, existem 10 a cerca de 30 dias de desfasamento, nos dois anos do estudo (1996 e 1997).

Modelos da maturação dos ascos pelo método das placas de Petri

As relações obtidas entre a emissão dos ascósporos nas placas de Petri e o integral térmico acima de 0°C, calculado após 1 de Março, seguem curvas Normais significantes em 1996 e 1997 (Fig. 58). O desvio padrão variou de 253°C a 317°C em 1996 e 1997, respectivamente.

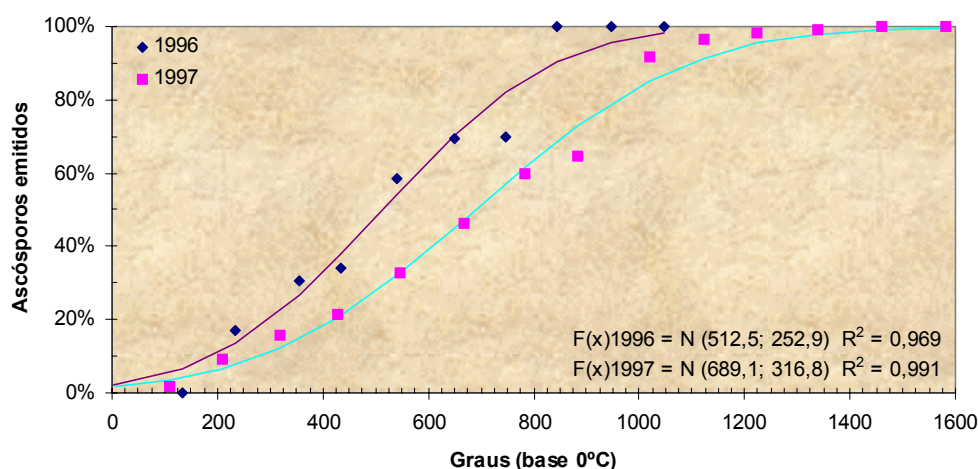


Fig. 58 Modelo de estimativa da emissão de ascósporos de *Venturia pirina*, nos anos de 1996 e 1997 na Sobrena pelo método das placas de Petri. Integral térmico diário acima de 0°C calculado após 1 de Março ($p_{96,97} < 0,001$).

Os dados da emissão dos ascósporos nas placas de Petri correspondentes ao conjunto dos dois anos em estudo relacionam-se com significância pela curva Normal, com a data juliana após o dia 1 de Março (Fig. 59).

A enorme coincidência entre os dados, a existir na realidade, faz supor a acção de outros factores, caso do fotoperíodo, na sincronização da emissão dos ascósporos entre os diferentes anos, que a variação da precipitação e da temperatura confundem.

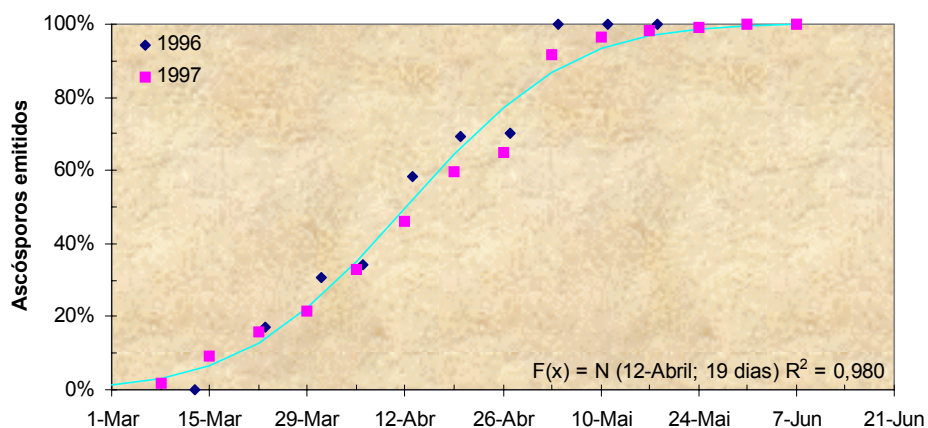


Fig. 59 Modelo de estimativa da emissão conjunta de ascósporos de *Venturia pirina*, nos anos de 1996 e 1997 na Sobrena pelo método das placas de Petri. O modelo iniciou-se a 1 de Março ($p < 0,001$).

Discussão

O número de pseudotecas estimado por cm² de folha na manta morta variou de 6,6 a 7,4 no pomar sem tratamentos fungicidas, para cerca de um sexto no pomar comercial. As folhas da pereira (cv. Rocha) medem em média 18cm² (158). O número de pseudotecas presente nas folhas infectadas variou de cerca de 20 a mais de 130 por folha. No pomar comercial o mais comum foi observar uma lesão discreta de pedrado por folha infectada. O valor sugere a formação de cerca de 20 pseudotecas de *V. pirina* por lesão. O valor estimado de pseudotecas de *V. pirina* formadas por lesão foi de $20,2 \pm 9,3$. Spotts *et al.* (167) referem no Oregon de 15,2 a 24,4 pseudotecas formadas por lesão fértil nas cultivares Anjou e Bartlett.

Verificou-se o padrão semanal de emissão de ascósporos nas placas de Petri próximo da curva de ascos vazios, observados nas pseudotecas recolhidas de folhas mortas. A curva de maturação de ascósporos (ascósporos bem septados de cor verde pálido) não coincidiu com a curva de emissão de ascósporos nas placas de Petri. A maturação dos ascósporos foi anterior à possibilidade de emissão. A diferença entre as duas curvas sugere que a maturação dos ascósporos deverá ser anterior à maturação dos ascos correspondentes. Muitos dos ascósporos aparentemente maduros permaneceram nos ascos, mesmo nas condições climáticas mais favoráveis à emissão. A evidência de disparidade entre a maturação dos ascósporos e a dos ascos correspondentes é conhecida para *V. inaequalis* (55) embora seja um dado novo para *V. pirina*.

A emissão dos ascósporos e a maturação dos ascos de *V. pirina* seguiram a curva Normal em relação ao integral térmico acumulado após 1 de Março. A curiosa relação Normal do conjunto dos dados dos dois anos e o dia juliano, a confirmar-se, sugere que o fungo será capaz de ajustar a maturação dos ascos em função da duração do fotoperíodo e talvez a temperatura e a precipitação ocultem o verdadeiro mecanismo de sincronização biológica. Sabe-se que a ruptura dos ascos de *V. pirina* e *V. inaequalis* ocorre preferencialmente durante o fotoperíodo (32) talvez devido à presença de um composto foto-receptor (97).

Os resultados do método das placas de Petri foram particularmente condicionados pela temperatura e pela humidade contida no interior dos discos de folha morta, factores de maior influência na evolução da maturação dos ascos e ascósporos de *Venturia pirina* (165, 169) e *Venturia inaequalis* (48, 52, 71, 72, 95, 97, 217). As folhas da manta morta são regularmente humedecidas na natureza, quer pelo efeito da chuva, quer pelo do orvalho matinal, muito comum na região do Oeste (158). As folhas do ensaio, embora sujeitas a ciclos de temperatura similares aos da natureza, foram humedecidas semanalmente, contribuindo talvez, para retardar ligeiramente o final da emissão dos ascósporos, determinado pelo método. No início da estação observaram-se ascos vazios dentro das pseudotecas, em percentagem inferior à dos ascósporos emitidos nas placas de Petri, provavelmente devido à falta de chuva durante Abril de 1996 e Março de 1997. No fim da estação, as folhas mortas sob as árvores decompuseram-se e as pseudotecas desintegraram-se mais, em relação às dos discos presentes nas placas de Petri. Isto pode explicar a emissão de ascósporos em data posterior à indicada pelo método de esmagamento das pseudotecas, para o fim dos esporos primários.

O método pode ser facilmente melhorado de modo a evitar a dissecação excessiva dos discos de folha, sendo preferível mantê-los no estado maleável (hidratados), semelhante ao caso de folhas mortas em contacto com o solo. Basta selar as placas de Petri aplicando uma pequena tira de Parafilm, imediatamente após a emissão dos esporos. Talvez desta forma se mantenha a alta humidade dentro das placas de Petri e se simule melhor a situação natural, junto ao solo.

O método pode ser utilizado no cálculo da produtividade de ascósporos em diferentes pomares, nos estudos comparativos de evolução da maturação de ascos e ascósporos e na determinação do início, máximo e fim da sua emissão. A utilização deste método determina com rigor suficiente o início e o fim da possibilidade de infecções primárias do pedrado da pereira e requer a simples utilização de microscópio.

Dinâmica dos ascósporos na atmosfera

Resultados

A evolução dos ascósporos de *V. pirina* na atmosfera do pomar foi estudada durante os anos de 1997 e 1998. A captura de ascósporos foi efectuada pela primeira vez a 9 de Março e a 28 de Março em 1997 e 1998, respectivamente. As capturas de ascósporos na atmosfera terminaram a 5 de Maio em 1997 e a 28 de Abril em 1998.

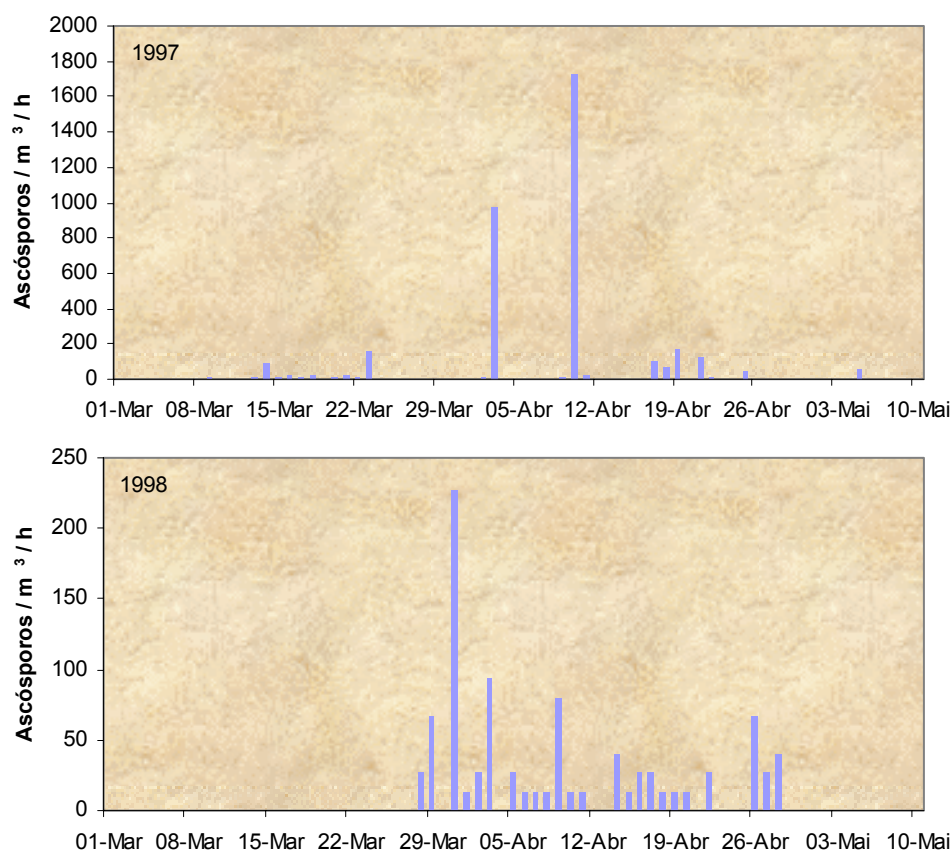


Fig. 60 Evolução do número de ascósporos de *Venturia pirina* capturado na fita do captasporos volumétrico localizado na proximidade dum pomar durante os anos de 1997 e 1998, na Sobrena.

A época das infecções primárias prolongou-se por cerca de dois meses em 1997 e por cerca dum mês em 1998 (Fig. 60). O volume total de ascósporos presentes na atmosfera do pomar foi cerca do triplo em 1997 em relação a 1998 enquanto o número máximo de ascos no interior das pseudotecas foi somente 1,5 vezes maior. O número total de ascósporos capturados (dose de ascósporos) ao longo da

Primavera de 1997 foi de 6027 e na Primavera de 1998 foi de 1987 ascósporos por m^3 .

O número máximo de ascósporos capturados por hora foi de $1733/\text{m}^3$ a 10 de Abril de 1997. Em 1998 o número máximo de ascósporos capturados, $227/\text{m}^3/\text{h}$, foi inferior a 1997 e ocorreu a 31 de Março. Na semana anterior aos picos de máxima captura atmosférica, observou-se a maior frequência de ascósporos maduros no interior das pseudotecas dos anos respectivos (70,6% em 1997 e 46,7% em 1998).

Emissão de ascósporos pela acção da luz

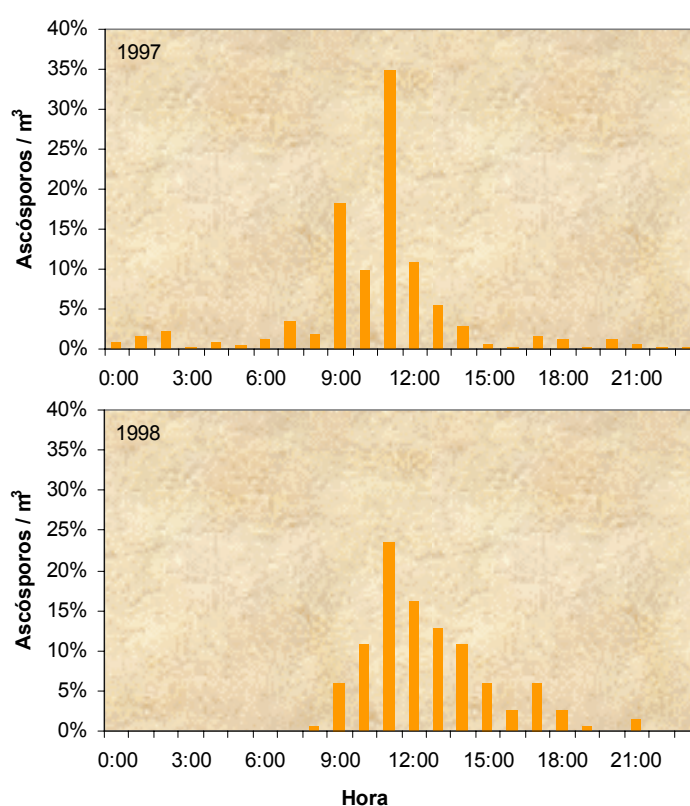


Fig. 61 Distribuição horária do número total de ascósporos de *Venturia pirina* capturado na fita do capta-esporos volumétrico localizado na proximidade dum pomar durante os anos de 1997 e 1998 na Sobrena.

Os ascósporos de *V. pirina* foram capturados fundamentalmente durante o fotoperíodo. Os ascósporos capturados entre as 6:00 e as 18:00 representaram 90,3% e 98,0% do total capturado durante 1997 e 1998, respectivamente (Fig. 61). O pico da emissão dos ascósporos aconteceu às 11:00 nos dois anos em análise.

Emissão de ascósporos pela acção da chuva

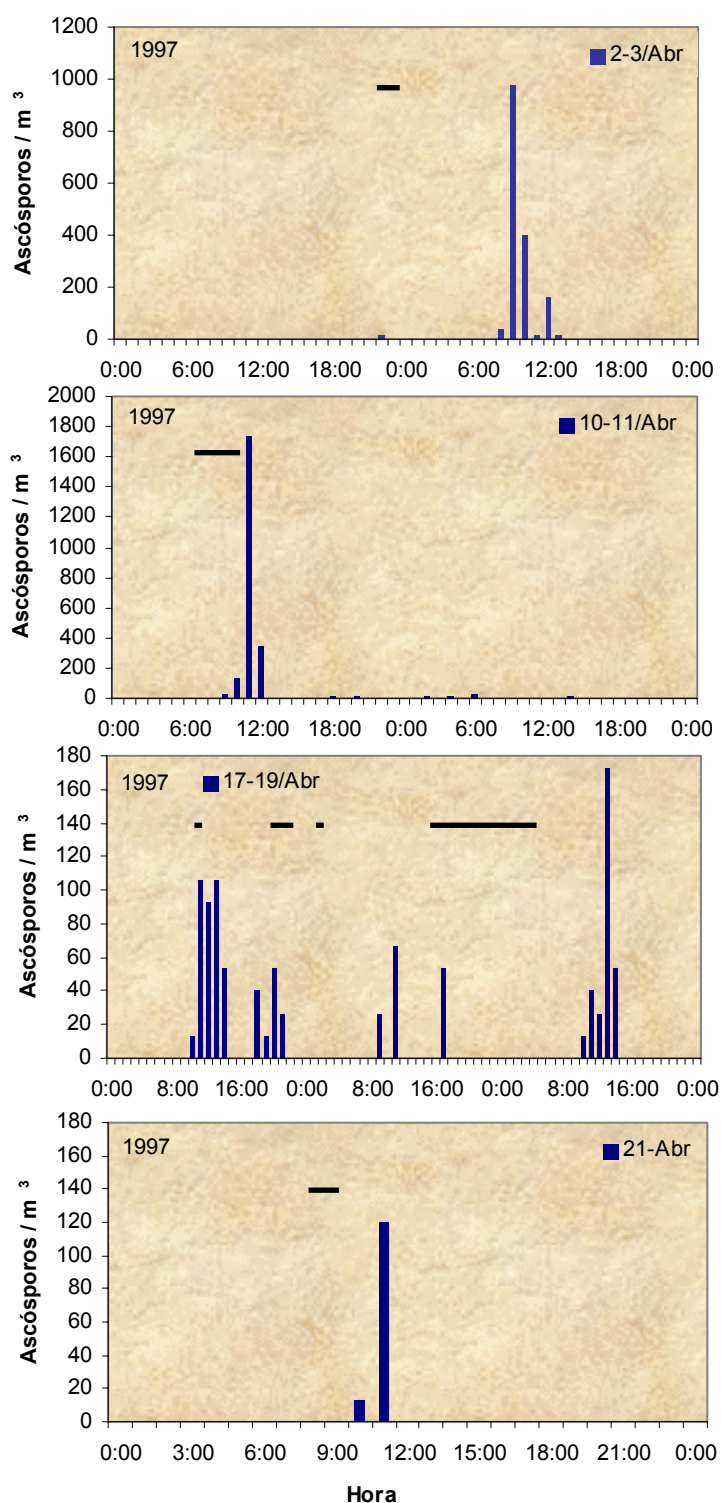


Fig. 62 Eventos com captura significativa (>100 ascósporos/m³/h) de ascósporos de *Venturia pirina* ocorrida principalmente durante o período diurno e com registo de precipitação por chuva, em 1997 na Sobrena. Os traços horizontais indicam os períodos de chuva.

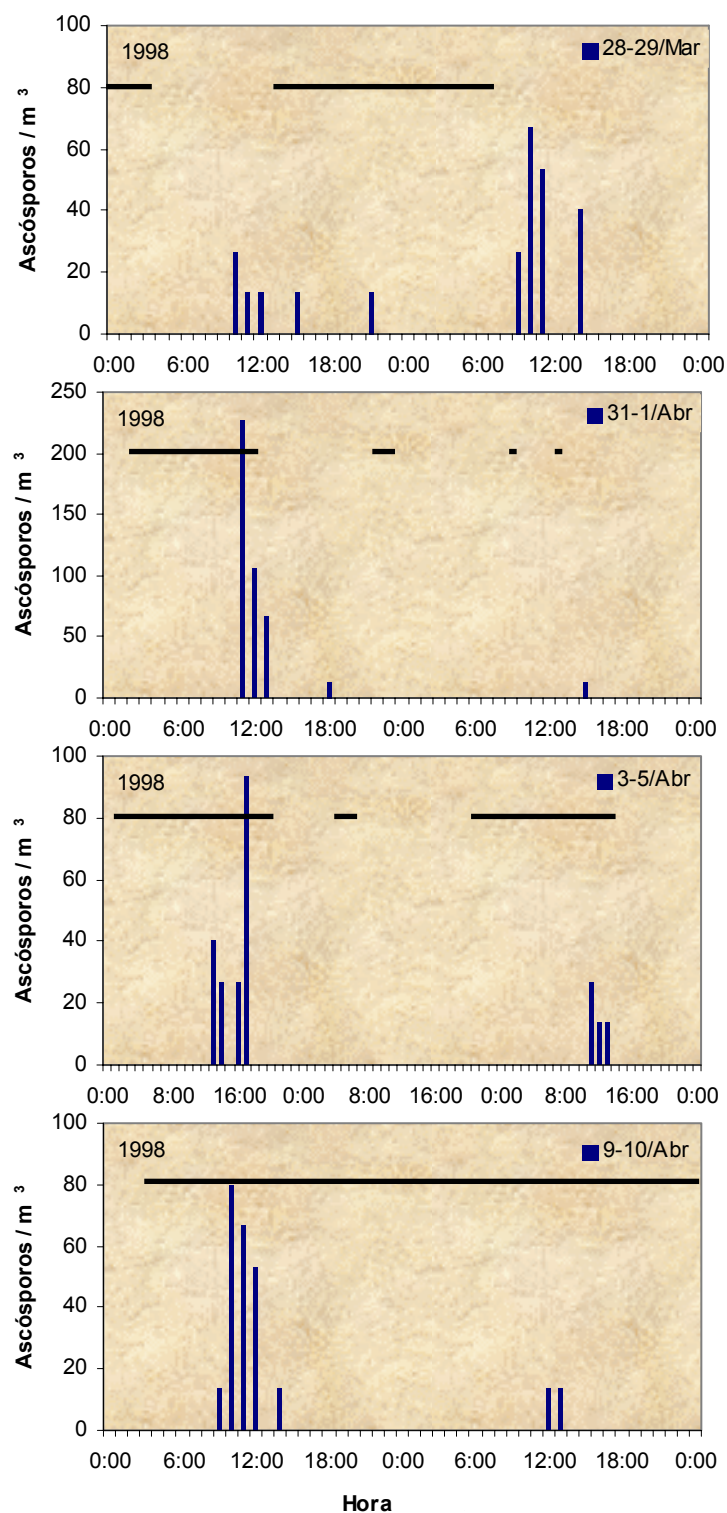


Fig. 63 Eventos com captura significativa (>40 ascósporos/m³/h) de ascósporos de *Venturia pirina* ocorrida principalmente durante o período diurno e com registo de precipitação por chuva, em 1998 na Sobrena. Os traços horizontais indicam os períodos de chuva.

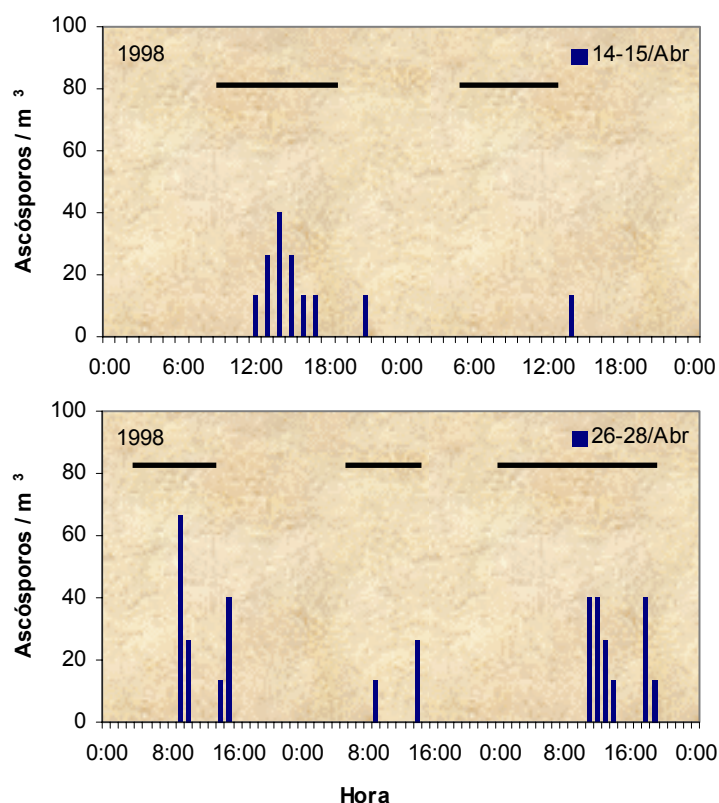


Fig. 64 Eventos com captura significativa (>40 ascósporos/m³/h) de ascósporos de *Venturia pirina* ocorrida principalmente durante o período diurno e com registo de precipitação por chuva, em 1998 na Sobrena. Os traços horizontais indicam os períodos de chuva.

A maioria dos ascósporos foi capturada após a ocorrência de chuva e durante o fotoperíodo. Nas Fig. 62, Fig. 63 e Fig. 64 são mostrados os eventos com captura significativa de ascósporos (acima de 1,5% ou 2% do total do ano).

Normalmente, quando a chuva se iniciou durante a noite a captura observou-se na manhã seguinte, caso do registado nos dias 3, 18 e 19 de Abril em 1997 (Fig. 62) e nos dias 29 e 31 de Março ou nos dias 3, 5, 9, 10, 15 e 26-28 de Abril em 1998 (Fig. 63, Fig. 64). Nestes dias foi observado um intervalo de várias horas do início da chuva ao princípio da captura dos ascósporos da atmosfera. Quando a chuva coincidiu com o fotoperíodo a captura dos ascósporos seguiu de imediato o início da chuva, caso dos dias 18 e 21 de Abril em 1997 (Fig. 62) e dos dias 1 (Fig. 63) e 14 (Fig. 64) de Abril em 1998.

Nas manhãs precedidas de chuva, a captura dos ascósporos iniciou-se das 8:00 às 10:00 da manhã e prolongou-se num intervalo de 4 a 6 horas, na maioria dos casos.

Durante 1997 e 1998, os ascósporos foram capturados em número significativo ao longo da época das infecções primárias, distribuídos por quatro a seis períodos de emissão principal, promovidos pela presença da chuva. Durante 1997 a emissão de ascósporos nos períodos correspondentes aos dias 2–3, 10–11, 17–19 e 21 de Abril representaram 83,6% do total do ano. Em 1998, a emissão ocorrida nos períodos de 28–29 de Março, 31–1, 3–5, 9–10, 14–15 e 26–28 de Abril representaram 85,9% do total da estação.

Emissão de ascósporos pela acção do orvalho

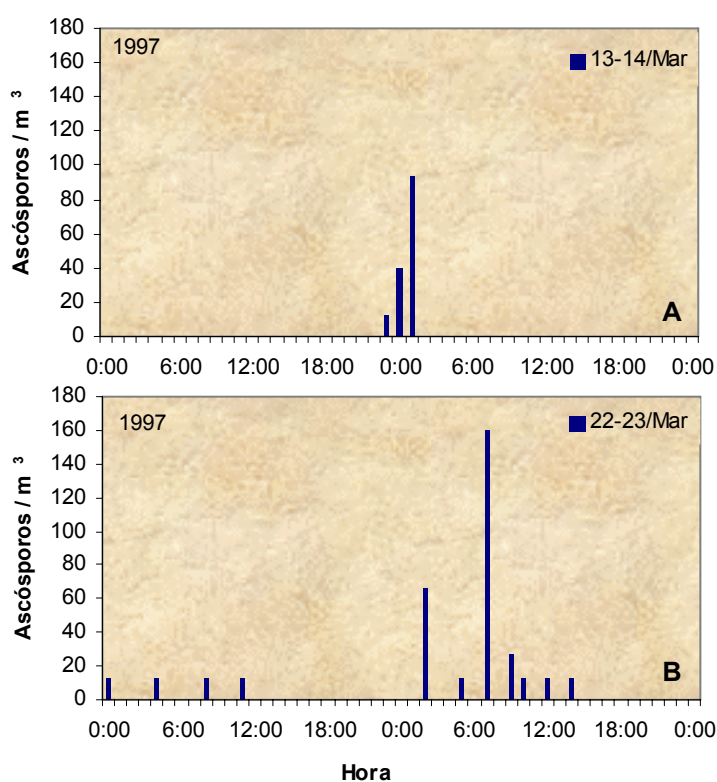


Fig. 65 Eventos com captura significativa (>100 ascósporos/m³/h) de ascósporos de *Venturia pirina* ocorrida durante o período nocturno, em 1997 na Sobrena. Sem registo de precipitação A. Com registo de 0,2mm de precipitação (orvalho forte) na noite de 22 de Março, mas ausência de chuva B.

Nos dois anos em análise (1997 e 1998) foram detectados dois períodos com emissão significativa de ascósporos na ausência da chuva (Fig. 65). Os ascósporos emitidos em 13-14 e a 22-23 de Março em 1997 correspondem a 2,4% e 6,0% do total capturado nesse ano, respectivamente.

Nas noites de 13 e 14 de Março foi observado orvalho sobre as árvores. Nas noites de 12 e 22 de Março foi registado 0,2mm de precipitação no udómetro, devido a orvalho bastante intenso. As emissões de ascósporos ocorreram no período de ausência de chuva, observado em 1997, desde fim de Fevereiro até ao início de Abril onde, no total, se registou 1mm de precipitação.

Dose relativa de ascósporos

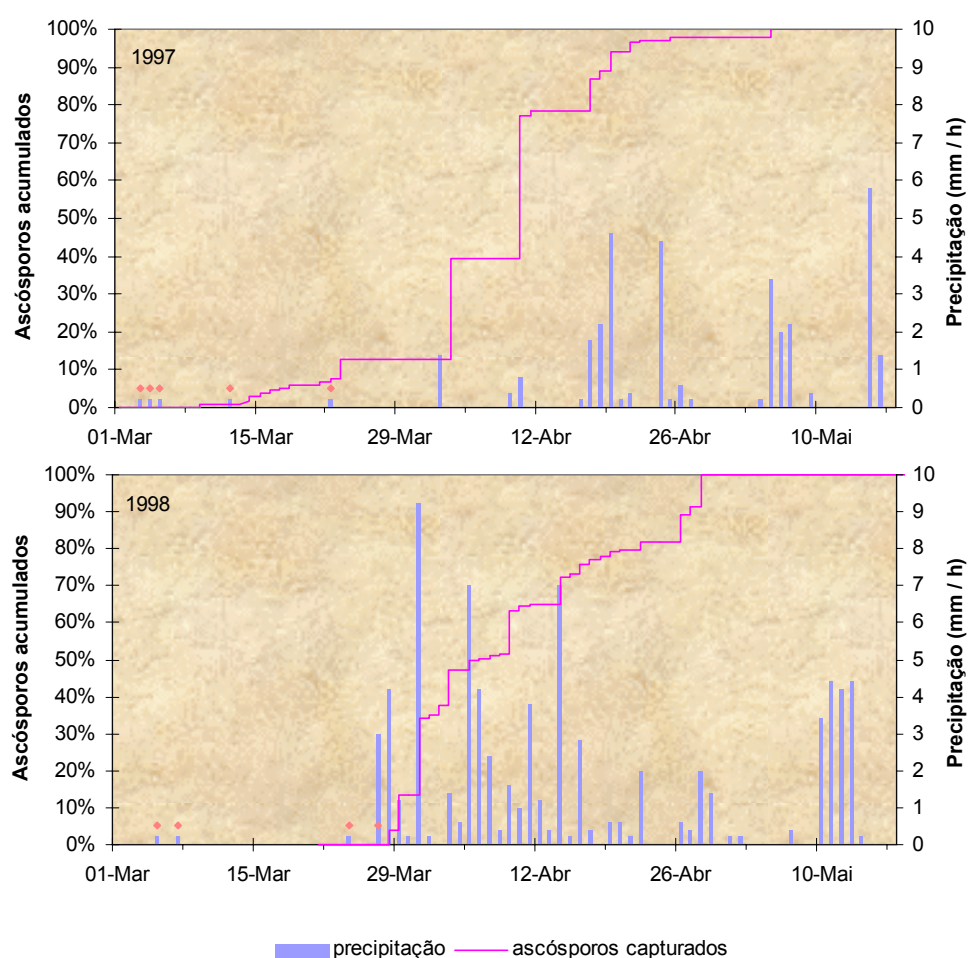


Fig. 66 Evolução da dose relativa de ascósporos de *Venturia pirina* capturados do ar pelo captasporos volumétrico e intensidade máxima de precipitação ocorrida durante as Primaveras de 1997 e 1998. Durante as noites de 3, 4, 5, 12 e 22 de Março em 1997 e 5, 7, 24 e 27 de Março de 1998 registou-se 0,2 mm de precipitação devido a orvalho forte.

Na Fig. 66 mostra-se a evolução da dose relativa de ascósporos ao longo das Primaveras de 1997 e 1998 em conjunto com a intensidade máxima horária da precipitação diária, chuva ou orvalho. Parece não existir qualquer relação entre a

intensidade da precipitação observada em determinado dia e a dose relativa de ascósporos presente na atmosfera. Durante 1997 foi capturado o maior volume de ascósporos durante chuva de intensidade inferior a 2mm/ h, nos dias 2 e 10 de Abril com 1,4mm/ h e 0,8mm/ h, respectivamente. Em 1998, embora a chuva intensa dos dias 31 de Março (9,2mm/ h) e 14 de Abril (7mm/ h) tenha conduzido a volume considerável de ascósporos na atmosfera, a chuva da mesma ordem de grandeza ocorrida no dia 5 de Abril (7mm/ h) conduziu a reduzida captura. Cinco eventos de chuva com intensidade inferior a 2mm/ h (29/3, 3/4, 9/4, 26/4 e 28/4) foram responsáveis pela maior parte dos ascósporos capturados em 1998.

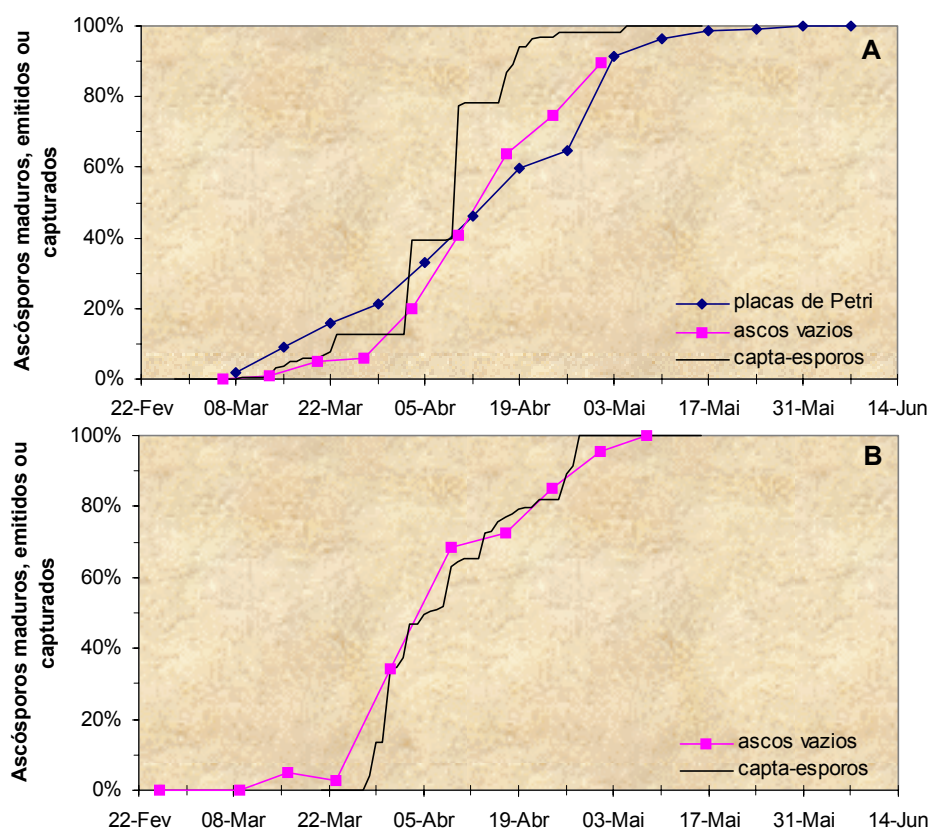


Fig. 67 Comparação entre a dose relativa de ascósporos de *Venturia pirina* capturados no capta-esporos volumétrico e a evolução dos ascósporos emitidos pelo método das placas de Petri (1997) ou dos ascos vazios, observados no interior das pseudotecas após esmagamento, ao longo da Primavera de 1997 **A** e 1998 **B**. Amostra da manta morta efectuada na parcela sem tratamentos fungicidas.

A dose relativa de ascósporos relacionou-se com a evolução dos ascos vazios no interior das pseudotecas e também com a evolução dos ascósporos emitidos pelo método das placas de Petri (Fig. 67).

Em 1997, da fase inicial da estação até ao número máximo de ascos estar presente nas pseudotecas, a dose relativa de ascósporos relacionou-se com a curva de ascos vazios observados no interior das pseudotecas. Após esta fase a progressão dos ascósporos capturados acelerou em relação às curvas de ascos vazios ou de emissão dos ascósporos nas placas de Petri. Em 1998, a dose relativa de ascósporos justapôs-se à curva de ascos vazios durante a maior parte da estação. Contudo, na fase final, as capturas terminaram antes da curva de ascos vazios ter atingido 100%, à semelhança do ocorrido no ano anterior.

Aparentemente, a presença de ascósporos no ar foi condicionada por outros factores observados nos pomares, caso da área da manta morta, que decresce continuamente e da diminuição das pseudotecas verificada no final da estação, por rápida degradação. Estes dois factores são indetectáveis pelos métodos de esmagamento de pseudotecas ou das placas de Petri.

Modelo da captura atmosférica de ascósporos

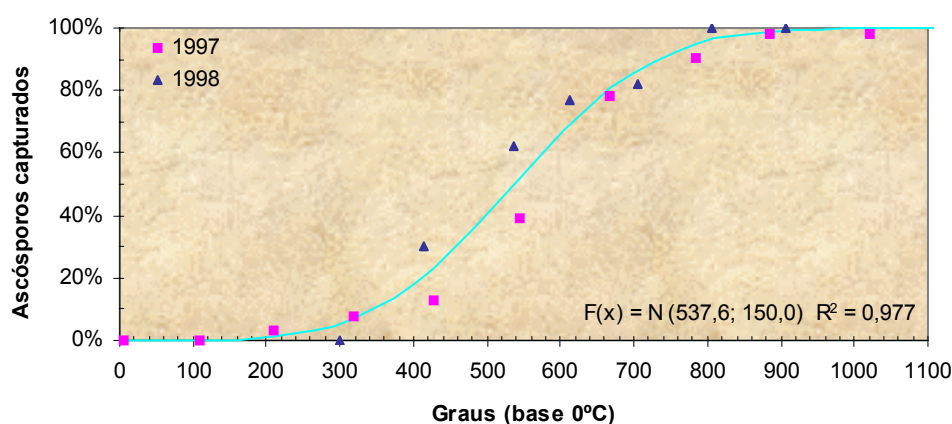


Fig. 68 Modelo de estimativa da emissão dos ascósporos de *Venturia pirina*, baseado no número de ascósporos capturado no capta-esporos volumétrico localizado na proximidade dum pomar na Sobrena nos anos de 1997 e 1998. O modelo iniciou-se a 1 de Março ($p < 0,001$).

Com base nos dados obtidos através da captura atmosférica de ascósporos desenvolveu-se um modelo para o conjunto dos dados referentes a 1997 e 1998 (Fig. 68). A captura de ascósporos presentes na atmosfera segue o padrão Normal ($p < 0,001$), em relação ao integral térmico diário acima de 0°C, calculado após 1 de Março. O desvio padrão observado na curva da dose relativa de ascósporos foi de

150°C. A fase mais intensa da captura atmosférica coincidiu com o período da queda das pétalas (estado H) ao início do crescimento dos frutos (estado J) e da floração (estado F) à queda das pétalas (estado H) em 1997 e 1998, respectivamente.

Os diferentes modelos desenvolvidos para a maturação, emissão ou captura dos ascósporos de *V. pirina* foram comparados na Fig. 69 com modelos explanados para a maturação dos ascósporos de *V. pirina* ou *V. inaequalis* noutras regiões.

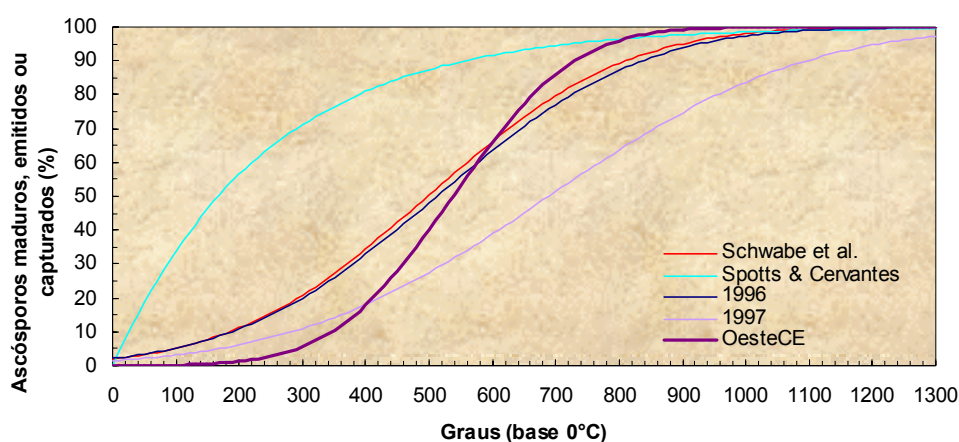


Fig. 69 Comparação entre os diferentes modelos de estimativa da maturação ou emissão dos ascósporos de *Venturia pirina*: Spotts e Cervantes (169), 1996, 1997 (placas de Petri), 1997 e Oeste (capta-esporos) ou *Venturia inaequalis*: Schwabe et al. (143).

O modelo de estimativa da maturação dos ascósporos de *V. pirina*, desenvolvido por Spotts e Cervantes (169) no Oregon e validado na região do Oeste com o mesmo propósito, segue uma tendência distinta dos modelos explicativos da emissão dos ascósporos (1996 e 1997 nas placas de Petri) ou do modelo obtido com base nas capturas do capta-esporos (Oeste capta-esporos). O modelo desenvolvido por Schwabe *et al.* (143) para a evolução da maturação dos ascósporos de *V. inaequalis* na África do Sul quase coincide com o modelo 1996— placas de Petri para a emissão dos ascósporos de *V. pirina*. De todos os modelos, o Oeste— capta-esporos apresenta o menor desvio padrão do conjunto comparado, embora superior ao desvio padrão (100°C) do modelo laboratorial obtido por Gadoury e MacHardy (47, 98) para a maturação dos ascósporos de *V. inaequalis*.

Discussão

Na maior parte dos anos os primeiros ascósporos de *V. pirina* estão maduros e podem ser emitidos do intumescimento (estado B) à ponta verde (estado C) dos gomos da pereira (16, 82, 90, 91, 109, 131, 169, 210).

Em climas do tipo mediterrânico os ascósporos amadurecem e são eventualmente emitidos no período de quatro a 10 semanas (16, 157, 210), porém a maioria é emitida num menor intervalo. Em 1997 e 1998 observaram-se capturas atmosféricas dos ascósporos de *V. pirina* por um período de nove e seis semanas, respectivamente.

A dose de ascósporos não pareceu proporcional ao número máximo de ascos presentes no interior das pseudotecas de cada ano. Em 1997 a dose de ascósporos foi cerca do triplo em relação à de 1998 no entanto, o número máximo de ascos em 1997 foi somente 1,5 vezes superior. O valor máximo das capturas anuais de ascósporos na atmosfera foi antecedido pelas frequências máximas de ascósporos maduros no interior das pseudotecas. Cerca duma semana separou os dois eventos.

A emissão de ascósporos acontece quando as pseudotecas absorvem água e os ascos se distendem através do ostíolo. Nesse momento os ascósporos estão alinhados no interior do asco até à ruptura da extremidade, momento no qual os ascósporos são expelidos em rápida sucessão (30, 154, 157).

No ecossistema agrário do Oeste, mais de 90% dos ascósporos de *V. pirina* foram emitidos durante o fotoperíodo, apresentando comportamento similar ao descrito por Washington (210) na Austrália e Latorre *et al.* (91) ou Montealegre e Auger (109) no Chile. O pico da captura dos ascósporos ocorreu às 11:00, antecedendo ligeiramente o meio-dia solar.

Durante o ano de 1997 verificaram-se duas ocasiões nocturnas com captura significativa de ascósporos. Capturas nocturnas de ascósporos são comuns na Califórnia (16) ou no Oregon (169). As emissões nocturnas de ascósporos na região do Oeste foram associadas à presença de orvalho e ausência de chuva.

A emissão de ascósporos depende da presença de filme de água sobre as folhas contendo as pseudotecas. Durante o fotoperíodo, o início da captura de ascósporos

coincidiu com o início da chuva. Quando a chuva se iniciou durante a noite, a captura só ocorreu durante a manhã seguinte. Precipitação inferior a 0,2mm foi suficiente para iniciar a emissão de ascósporos de *V. pirina* na região do Oeste. A maioria dos ascósporos foi capturada durante períodos de chuva de intensidade inferior a 2mm/h. Borecki (27) refere, nas condições da Polónia que a emissão maciça de ascósporos de *V. pirina* só aconteceu quando a precipitação foi superior a 0,4mm. Também se observou em Inglaterra a emissão de alguns ascósporos de *V. pirina* durante chuvas ligeiras (0,25mm) ou nos períodos de elevada humidade relativa subsequentes, até 24h (216).

Hirst (65) indica 0,2mm como o valor mínimo de precipitação para a emissão substancial de ascósporos de *V. inaequalis*, embora com valores inferiores possa haver emissão de alguns. MacHardy (97) afirma que a precipitação baixa de 0,0025mm é suficiente para desencadear a emissão de ascósporos de *V. inaequalis*. Aylor e Sutton (14) observaram 50% da captura atmosférica de ascósporos de *V. inaequalis* em períodos com intensidade de chuva inferior a 0,25mm/h.

A maioria dos ascósporos de *V. pirina* foi capturada no intervalo de quatro a seis horas após o início da chuva. Nos pomares, 75% dos ascósporos de *V. inaequalis* foram capturados nas três horas seguintes a chuva ligeira (65). Em laboratório, o fungo *V. inaequalis* sujeito a humectação contínua, emite a maioria dos ascósporos em 75 minutos (55) e poucas emissões são observadas 150 minutos após o início destas condições (57).

Geralmente, a presença de orvalho nocturno foi insuficiente à emissão de quantidades significativas de ascósporos na região do Oeste. Contudo, em duas ocasiões em 1997, foram emitidos 2,4% e 6,0% do total anual de ascósporos, durante a noite ou manhã seguintes à ocorrência de orvalho intenso (até 0,2mm). Estes dois eventos aconteceram num período prolongado de chuva ausente (43 dias em 1997). O papel do orvalho na emissão dos ascósporos de *V. pirina* é referido como bastante importante por diferentes autores (146, 148, 169). Stensvand *et al.* (175) observaram a emissão nocturna de ascósporos de *V. inaequalis* em noites de orvalho intenso após a ausência prolongada de períodos de chuva.

Do ponto de vista epidemiológico, os ascósporos emitidos durante os períodos de orvalho parecem contribuir de forma limitada para a progressão da doença. Durante as noites de orvalho, a velocidade do vento e a temperatura são baixas e uma grossa película de água cobre as folhas da manta morta. A maioria dos ascósporos parece ficar retida na película de água ou é depositada nas imediações. Contudo, o aumento da velocidade do vento no final da noite ou durante a manhã pode dispersar os ascósporos na atmosfera e permitir a sua deposição na copa. A emissão significativa de ascósporos durante noite parece só acontecer por ausência prolongada de chuva.

As curvas da dose relativa de ascósporos foram semelhantes às curvas de ascos vazios no interior de pseudotecas, no entanto, no final da estação, a captura de ascósporos terminou antes da totalidade dos ascos serem observados vazios. No final da estação outros factores intrínsecos ao pomar influenciam também a presença de ascósporos na atmosfera, caso da diminuição da manta morta (11) e da aparentemente rápida degradação das pseudotecas, ou da inviabilização dos seus ascósporos. A captura atmosférica dos ascósporos segue igualmente a distribuição Normal contudo, com o desvio padrão inferior ao obtido no método das placas de Petri.

Importância dos ascósporos nas infecções primárias

Resultados

No Quadro 3 apresentam-se as datas de observação das lesões resultantes do primeiro ciclo de infecção primária e as correspondentes à segunda geração de lesões de *V. pirina* (início das lesões secundárias).

As lesões primárias iniciais foram observadas quando o estado fenológico da pereira variou da plena floração (estado F) ao crescimento inicial dos frutos (estado J). Geralmente, as primeiras lesões de pedrado apareceram durante a ântese. O início das lesões foi detectado mais cedo em 1997 e mais tarde em 1994 e 1996. Ao início da epidemia, a incidência da doença nos frutos ou nas folhas variou de 0,4% a 3,5%.

Quadro 3 Data de observação do início das lesões primárias e secundárias. Incidência de Venturia pirina observada ao início das lesões primárias ou secundárias em folhas (Fo) e em frutos (Fru).

Ano	Data de início das lesões primárias	Incidência nos frutos (%)	Data de início das lesões secundárias	Incidência (%)
1994	16 Abril	1,0	16 Maio	20,0 Fru 13,0 Fo
1996	16 Abril	<1,5	18 Maio	6,9 Fru
1997	24 Março	<2,3	17 Abril	7,7 Fru
1998	13 Abril	-	9 Maio	63,4 Fo
1999	11 Abril	3,5	9 Maio	31,0 Fru
2000	7 Abril	0,4	28 Abril	17,1 Fru

As primeiras lesões secundárias foram observadas cerca de três a quatro semanas após a detecção das lesões primárias. Nessa data, a incidência nos órgãos infectados apresentava variação considerável, desde cerca de 7% a mais de 60%.

Diferenças significativas foram observadas no padrão de distribuição das lesões primárias e secundárias. As primeiras manifestaram-se por lesões discretas, isoladas, enquanto as segundas se caracterizaram pelo padrão agregado na fase inicial, observando-se grupos de lesões nos órgãos infectados. Ao longo de cinco anos observou-se ao início da progressão epidémica o padrão aleatório nas lesões resultantes, evidente na maioria dos casos, através de uma lesão por órgão infectado (fruto ou folha) (Fig. 70).

Durante os cinco anos do estudo observou-se, no período do aparecimento das primeiras lesões primárias às secundárias, a curiosa frequência do fungo oscilando entre uma a duas lesões por órgão infectado. Em 1996, 1997 e 2000 o início da epidemia de *V. pirina* caracterizou-se por lesões unitárias nos órgãos infectados. Em 1998 e 1999 a epidemia iniciou-se com valores ligeiramente acima da unidade, 1,3 lesões/folha e 1,1 lesões/fruto, respectivamente. Todavia, em 1998 o valor de 1,3 lesões/folha foi observado a 1 de Maio, cerca de 15 dias após a detecção das primeiras infecções primárias sobre os frutos.

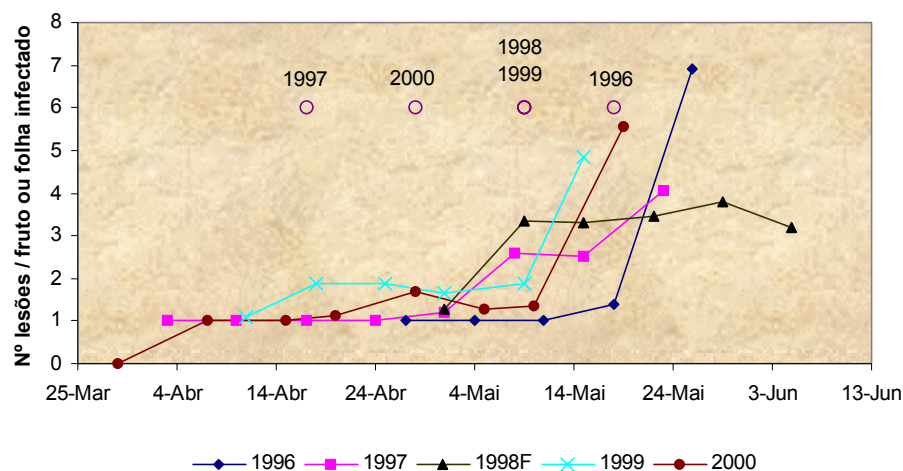


Fig. 70 Padrão de infecção do fungo *Venturia pirina* no ecossistema agrícola do Oeste durante os primeiros ciclos de infecção primária de 1996 a 2000. Os círculos indicam a primeira data onde foi detectada a infecção secundária.

Na data de observação das primeiras lesões secundárias, o número de lesões por órgão infectado variou de 1,0 (1997) a 3,4 (1998). À exceção de 1997, o valor amostrado situou-se sempre acima de 1,4 lesões/ órgão infectado. Após a observação das primeiras lesões secundárias, o número de lesões por órgão infectado atingiu valores de dois a sete.

Discussão

Quando se analisa o exemplo típico do fungo patogénico presente em gomos dormentes infectados, como é o caso do oídio da macieira (*Podosphaera leucotricha* (Ell. E Ev.) Salmon), que inicia as infecções primárias através de micélio, verificam-se infecções primárias generalizadas, onde as áreas necróticas são muito extensas e próximas (2, 62). O padrão nas lesões observadas reflecte certamente a proximidade entre os órgãos susceptíveis e o inóculo, afastados de apenas alguns milímetros. Estromas e conídios presentes nas escamas infectadas de gomos (37, 104, 198, 199, 202, 221) ou conídios formados em lesões sobre os ramos (16, 27, 37, 38, 81, 82, 91, 103, 109, 173, 216) são apontados como a fonte principal ou acessória de inóculo primário de *V. pirina* nas zonas onde tais formas de hibernação existem.

No caso dos pomares de pereira na região do Oeste, as infecções de *V. pirina* manifestaram-se ao início da epidemia por lesões aleatórias sobre os frutos ou sobre

as folhas, em número de aproximadamente uma por órgão infectado e dispersas pela copa das pereiras. Durante os anos em estudo, nunca foi observado qualquer rebento ou corimbo totalmente coberto de lesões de pedrado, à semelhança do citado para o oídio da macieira.

O padrão aleatório das lesões de pedrado nas árvores é explicável se o inóculo, afastado mais de 70cm dos locais susceptíveis, for disperso na atmosfera e depositado aleatoriamente na copa das árvores. Tal seria possível se as pseudotecas presentes nas folhas da manta morta emitissem ascósporos para a atmosfera e menos plausível se lesões presentes nos ramos ou escamas dos gomos produzissem conídios. No primeiro caso, inclui-se também o inóculo com origem em hospedeiros alternativos, talvez o caso da nespereira, assim considerado por Sivanesan *et al.* (151) e existente por vezes na proximidade dos pomares. Esta espécie perenifólia mantém as folhas durante todo o ano, conservando os órgãos infectados. Nos pomares em estudo não existiam nespereiras, pelo menos a menos de 200 metros da sua bordadura.

Em 1896, Aderhold (1) demonstrou serem os ascósporos emitidos pelas pseudotecas presentes em folhas mortas de pereira os causadores de infecção em folhas jovens. Oliveira (118), perante a impossibilidade de detecção em Portugal da forma *Venturia*, propôs em alternativa a sobrevivência do fungo em lesões sobre os ramos ou gomos. Cruz (37) foi o primeiro a detectar a presença de pseudotecas de *V. pirina* em Portugal e afirmou ser possível na região do Oeste o fungo hibernar por duas vias alternativas, na forma de pseudotecas imersas nas folhas constituintes da manta morta, ou na forma de lesões sobre ramos ou gomos infectados. Em 1994, detectaram-se grandes quantidades de pseudotecas de *V. pirina* nas folhas da manta morta e verificou-se o aparecimento aleatório das primeiras lesões primárias sobre os órgãos infectados (158).

Os ascósporos pareceram desempenhar papel muito importante no estabelecimento das infecções primárias de *V. pirina* nos pomares de pereira da região do Oeste, sendo talvez os principais intervenientes no processo. Os ascósporos constituíram a fonte principal, senão a única, de inóculo primário na região do Oeste. Este facto

baseou-se na observação da aleatoriedade do padrão de infecção ao início das epidemias de *V. pirina* e na raridade das infecções sobre escamas de gomos e ramos. De 1994 a 2000, só numa rara excepção foram observadas lesões de *V. pirina* em ramos anuais, e numa parcela sem qualquer protecção fitossanitária. Nos anos em estudo, nunca foram observadas escamas de gomos infectadas pelo fungo. A constatação do inóculo primário ser principalmente ou totalmente constituído por ascósporos, está de acordo com o verificado na Austrália (210), Califórnia (16, 187), Chile (90, 91), Japão (198), Nova Zelândia (41) e Oregon (167).

Aspectos de natureza abiótica e biótica na evolução do patossistema

Evolução fenológica do hospedeiro

Resultados










A evolução dos estados fenológicos da pereira (cv. Rocha) nos diferentes anos, pode ser observada no Quadro 4.

Durante os anos em estudo, o intumescimento dos gomos da pereira (estado B) iniciou-se do final de Fevereiro (1997) à última quinzena de Março (1996). A plena floração aconteceu desde 16 de Março (1997) até 15 de Abril (1996).

A plena floração da pereira ocorreu a 21, 22 e 26 de Março em 1997, 2000 e 1994, respectivamente, e a 3, 9 e 15 de Abril em 1998, 1999 e 1996, respectivamente. Os anos de maior produção corresponderam a anos com mais de 75% de flores abertas na semana da plena floração. De forma geral, quanto maior foi a percentagem simultânea de flores abertas num dado ano, maior foi a produção nesse ano. O ano de 1998 caracterizou-se pela observação de número reduzido de frutos nas árvores, cerca de 10% a 15% da colheita normal.

Na Fig. 71 é evidenciada a evolução dos corimbos em plena floração. Na maioria dos anos, o intervalo de tempo entre a abertura das primeiras flores e das últimas foi cerca de um mês.

Quadro 4 Distribuição da frequência dos estados fenológicos da pereira (cv. Rocha) (escala de Fleckinger) em 1994 e 1996 a 2000, na região do Oeste.

									
	A	B	C-C ₃	D-D ₃	E-E ₂	F-G	H	I	J
1994									
01-Mar	37,3	52,5	10,2						
09-Mar	1,7	30,5	55,4	12,4					
15-Mar		0,6	45,8	41,2	11,9	0,5			
19-Mar		1,1	4,0	50,9	31,6	12,4			
26-Mar					7,4	83,5	9,1		
01-Abr					34,1	42,6	23,3		
09-Abr							26,3	50,3	23,4
16-Abr							2,2	12,0	85,8
1996									
18-Mar	96,4	3,6							
25-Mar	57,3	37,7	4,7	0,3					
01-Abr	27,4	22,3	38,3	12,0					
08-Abr	12,8	13,8	15,2	37,0	21,2				
15-Abr	1,0	3,0	5,9	4,9	17,2	68,0			
20-Abr				0,7	3,6	60,0	26,0	9,7	
27-Abr						2,8	39,2	58,0	
04-Mai							9,1	64,8	26,1
11-Mai								2,4	97,6
1997									
03-Mar	25,8	34,2	38,7	1,3					
09-Mar	4,2	7,1	28,9	49,0	10,5	0,3			
16-Mar			2,3	10,1	35,3	52,1	0,2		
21-Mar					7,3	82,0	10,0	0,7	
27-Mar					0,2	17,0	62,4	20,4	
03-Abr							6,1	30,2	63,7
10-Abr								0,5	99,5
1998									
09-Mar	80,0	15,8	4,2						
16-Mar	35,6	33,1	24,4	6,9					
20-Mar	10,8	16,8	38,9	22,1	11,4				
27-Mar	0,6	0,7	8,0	32,0	38,0	20,0	0,7		
03-Abr					27,5	51,4	18,3	2,8	
09-Abr					4,2	34,3	55,9	5,6	
17-Abr						11,3	69,6	14,8	4,3
24-Abr							65,0	7,5	27,5
01-Mai									100,0
1999									
08-Mar	35,9	55,9	8,2						
12-Mar	28,2	60,4	11,4						
19-Mar	2,2	10,1	28,1	57,2	2,4				
26-Mar	0,2	0,0	3,6	13,2	73,0	10,0			
31-Mar				14,7	0,0	85,3			
09-Abr					0,2	89,4	10,4		
16-Abr							63,1	30,1	6,8
23-Abr								52,6	47,4
2000									
01-Mar	12,6	68,3	16,9	2,2					
08-Mar	1,5	14,0	69,4	15,1					
15-Mar				7,9	59,5	32,6			
22-Mar					0,8	76,2	20,8	2,2	
29-Mar						8,0	58,2	28,7	5,1
07-Abr								60,8	39,2
13-Abr									100

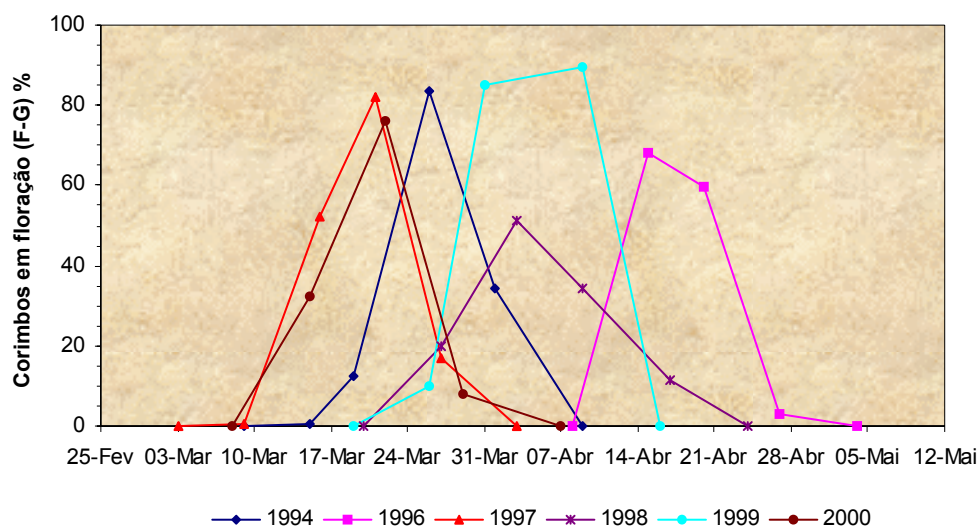


Fig. 71 Evolução do número de corimbos em floração da pereira (cv. Rocha) em 1994, 1996 a 2000.

Quadro 5 Comportamento do patossistema (pereira cv. Rocha– *Venturia pirina*) resultante do padrão climático observado (HF– horas de frio abaixo de 7,2°C de Novembro– Fevereiro; Precipitação média Dezembro– Janeiro), na região do Oeste.

Inverno	Ameno	Frio	Seco	Chuvoso	<i>V. pirina</i>	Patossistema	
Tipo	<300HF	>400HF	<100mm	>100mm		Cedo	Tarde
1	+		+		< nº pseudotecas < nº ascos/ pseudoteca		pereira <i>V. pirina</i>
2	+			+	número médio de pseudotecas e ascos	<i>V. pirina</i>	pereira
3		+	+		< nº pseudotecas < nº ascos/ pseudoteca	pereira	<i>V. pirina</i>
4		+		+	> nº pseudotecas > nº ascos/ pseudoteca	pereira <i>V. pirina</i>	

Discussão

Em relação à evolução fenológica do hospedeiro e possível relação com o fungo *V. pirina*, verificaram-se vários pontos comuns de comportamento. Antes do intumescimento dos gomos, os ascósporos de *V. pirina* podiam estar maduros. Contudo, antes desta fase do hospedeiro, os ascos não emitiram os seus ascósporos maduros ou os ostíolos não se formaram nas pseudotecas. Na maioria dos anos, o pico de emissão dos ascósporos coincidiu com o período da floração da pereira, do estado fenológico E (botão branco) ao estado I (vingamento).

Em traços gerais, a influência climática no patossistema segue na região do Oeste o padrão geral, que consta do Quadro 5. A concentração da floração teve o efeito no aumento da produção.

Perante o Inverno frio e chuvoso o patossistema avançou, em oposição ao observado nos Invernos amenos e mais secos. A presença de chuva nos anos amenos acelerou a evolução do fungo *V. pirina* e atrasou a do seu hospedeiro. A presença do frio nos anos pouco chuvosos acelerou a entrada em actividade do hospedeiro e atrasou a evolução do fungo. A chuva pareceu o factor mais determinante na evolução do fungo e a baixa temperatura na evolução do hospedeiro.

Estudo laboratorial da infecção por conídios

Resultados

Plântulas de pereira

Na Fig. 72 são mostrados os resultados da inoculação efectuada com a solução de 5×10^5 conídios/mL de *V. pirina* em jovens plântulas de pereira obtidas por via seminal. O número de conídios depositado na superfície de lâminas de vidro variou de 955 conídios/ cm² (ensaio 1 - 10h) a 1568 conídios/ cm² (ensaio 1 - 24h). Em média foram depositados 1262 conídios/ cm². A taxa de germinação dos conídios variou de 67% (ensaio 2) a 74% (ensaio 1). Os primeiros sintomas apareceram dez dias após a inoculação em ambos os ensaios.

Nos dois ensaios efectuados à temperatura de 20°C observou-se que períodos de humectação até 6h foram insuficientes para a infecção. Ao fim de 8h de humectação observaram-se as primeiras lesões de *V. pirina*, cuja incidência nas folhas foi inferior a 5%. A incidência máxima ocorreu para períodos de humectação de 24h ou 36h, atingindo de 27,6% a 29,7% das folhas. O aumento do período de humectação de 24h para 36h não pareceu significativo no nível de incidência de pedrado nas folhas das jovens plântulas. O modelo que melhor descreveu o aumento de incidência de pedrado nas folhas, relacionado com o aumento do período de humectação, foi a Lognormal cujo ajustamento resultou significativo ($P < 0,001$) (Fig. 72).

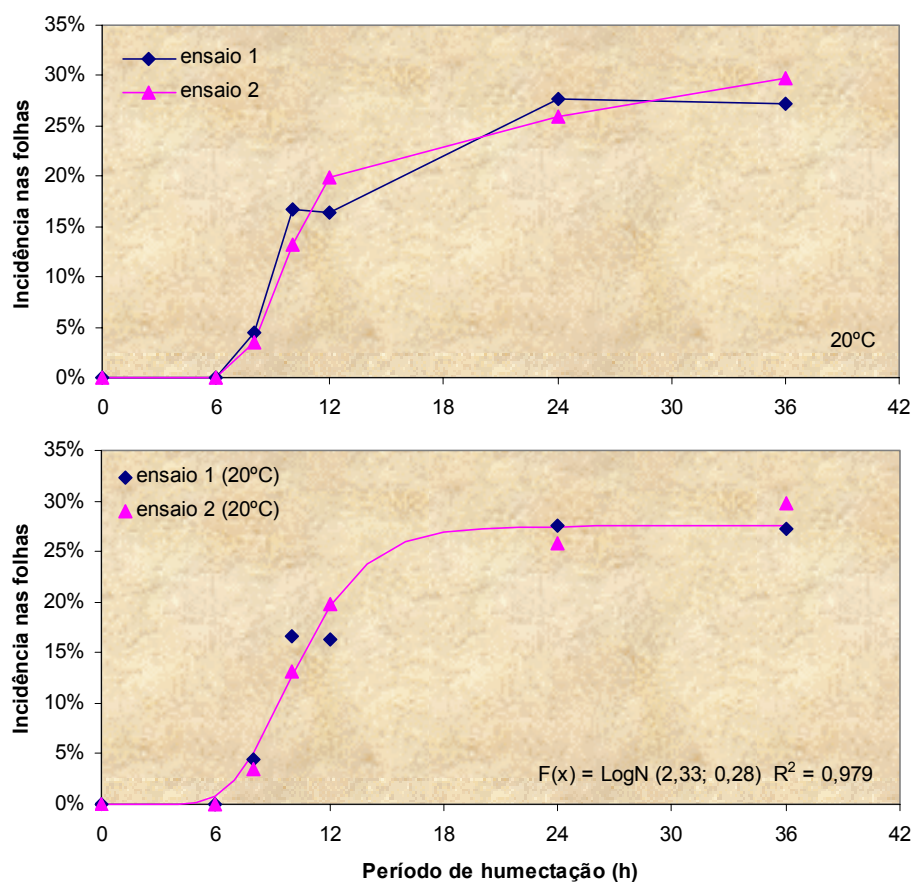


Fig. 72 Evolução do número de folhas infectadas por pedrado em jovens plântulas de pereira submetidas a inoculação por conídios de *Venturia pirina* e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C ($p < 0,001$).

Pereiras envasadas de um ano de idade

Quando foram inoculadas jovens plantas de pereira (cv. Rocha) com um ano de idade, confirmou-se a impossibilidade de causar a infecção de *V. pirina* para períodos de humectação inferiores ou iguais a 6h (Fig. 73). A concentração de inóculo utilizada variou de 4×10^4 (ensaio 2) a 9×10^4 (ensaio 1) conídios/ mL correspondendo a 1380 e 1340 conídios/ cm^2 de superfície, respectivamente. A taxa de germinação foi de 54% (ensaio 2) e 64% (ensaio 1). Os primeiros sintomas surgiram nove dias (ensaio 2) ou 11 dias (ensaio 1) após a inoculação. Os sintomas foram menos frequentes nas folhas mais velhas da base dos lançamentos.

Após 8h de humectação, à semelhança dos ensaios anteriores, observou-se o aumento substancial da infecção, que atingiu 38% de incidência nas folhas. Para

períodos de humectação superiores, a incidência foi sempre crescente, até ao período máximo de humectação testado (24h), embora com tendência a estabilizar. Ao fim de 24h de período de humectação, observou-se mais de 85% de incidência de pedrado nas folhas das jovens pereiras.

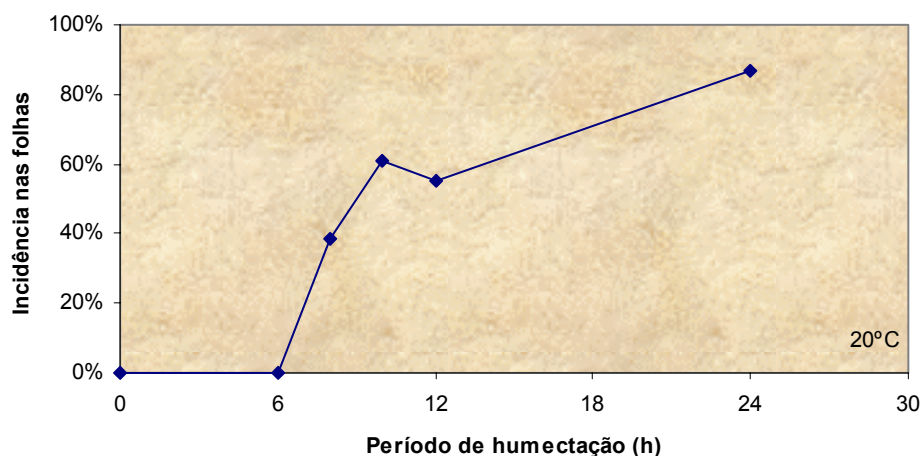


Fig. 73 Evolução do número de folhas infectadas por pedrado em jovens pereiras (cv. Rocha) envasadas, submetidas a inoculação por conídios de *Venturia pirina* e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C. Resultados combinados de duas repetições.

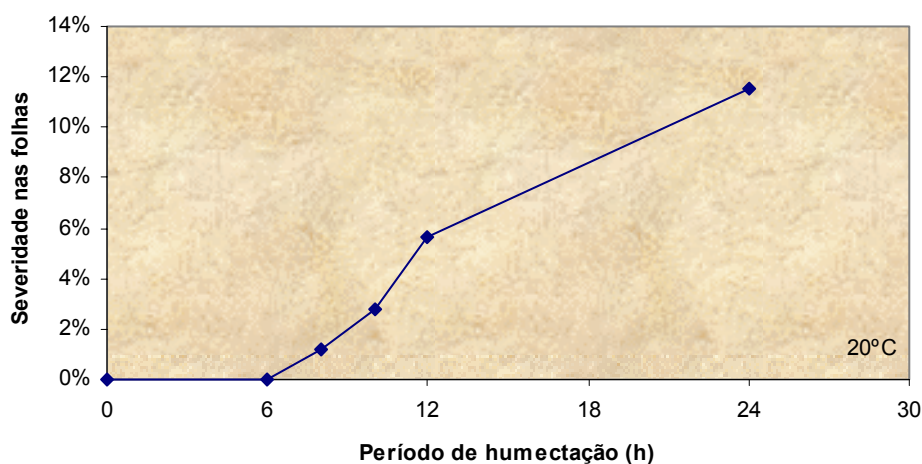


Fig. 74 Evolução da percentagem média da folha infectada por pedrado em jovens pereiras (cv. Rocha) envasadas, submetidas a inoculação por conídios de *Venturia pirina* e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C. Os resultados foram obtidos através do ImageTool após digitalização. Resultados combinados de duas repetições.

A incidência de pedrado nas folhas das plântulas obtidas por via seminal, quando comparada com a incidência nas jovens pereiras, foi bastante mais baixa e pode revelar o diferente grau de susceptibilidade do material vegetal inoculado.

A área média das folhas das pereiras envasadas foi de 18,5 cm² observada nas folhas não infectadas e 19,5 cm² nas infectadas. Não existiram diferenças significativas ($p>0,05$) na área média das folhas infectadas e não infectadas.

No que diz respeito à severidade média, medida através da percentagem infectada exibida pelas folhas com lesões, verificou-se que variou de menos de 2%, após 8h de humectação, para atingir quase 12%, após 24h de humectação, o período máximo de humectação testado. Aparentemente, a severidade apresentava tendência crescente para períodos de humectação acima do máximo testado (Fig. 74).

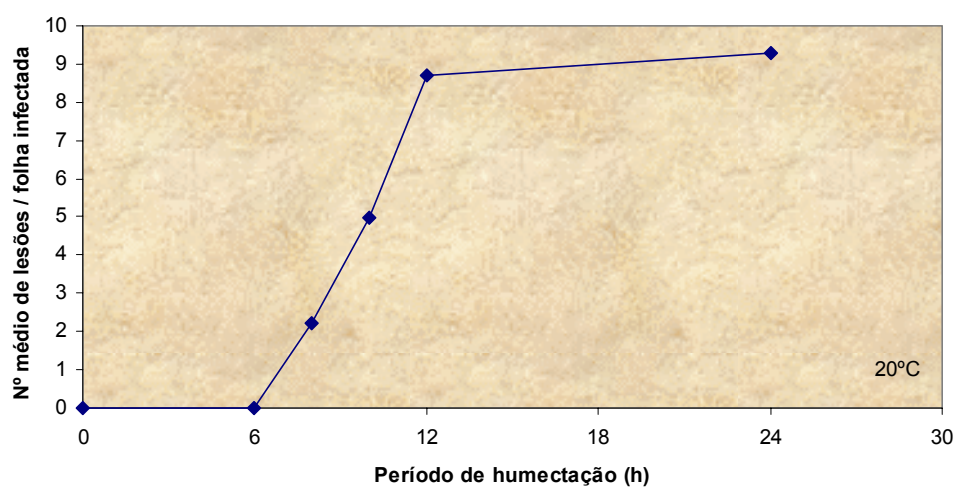


Fig. 75 *Evolução do número médio de lesões de pedrado por folha infectada em jovens pereiras (cv. Rocha) envasadas, submetidas a inoculação por conídios de Venturia pirina e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C. Resultados combinados de duas repetições.*

O número médio de lesões por folha infectada foi crescente até períodos de humectação de 12h. De 12h a 24h o número de lesões observadas por folha infectada estabilizou em cerca de nove (Fig. 75). Contudo, quanto maior foi o número de lesões por folha infectada, maior foi a probabilidade das mesmas coalescerem, e assim, o seu número para períodos de humectação de 24h pode estar ligeiramente subestimado.

A área média por lesão foi sempre crescente com o aumento do período de humectação (Fig. 76). Para períodos de humectação de 24h a área das lesões pode estar ligeiramente sobrestimada devido à possibilidade de justaposição das mesmas.

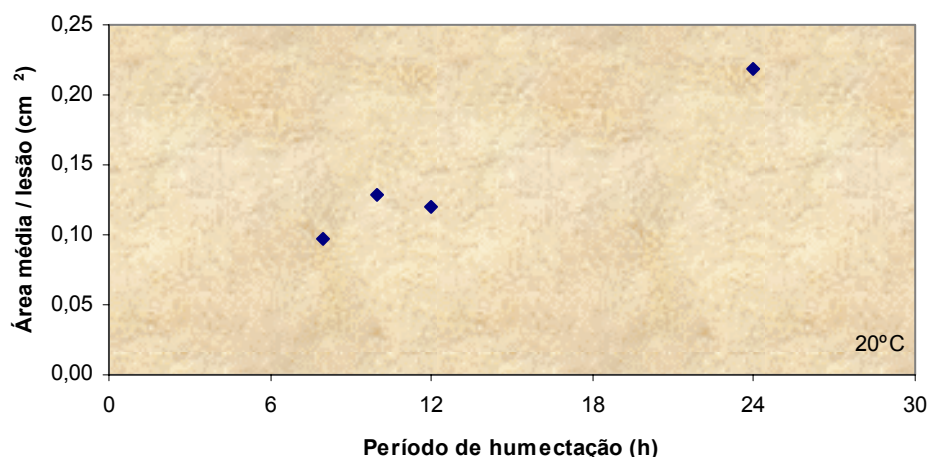


Fig. 76 Evolução da área média por lesão de pedrado em jovens pereiras (cv. Rocha) envasadas, submetidas a inoculação por conídios de *Venturia pirina* e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C. Os resultados foram obtidos através do ImageTool após digitalização. Resultados combinados de duas repetições.

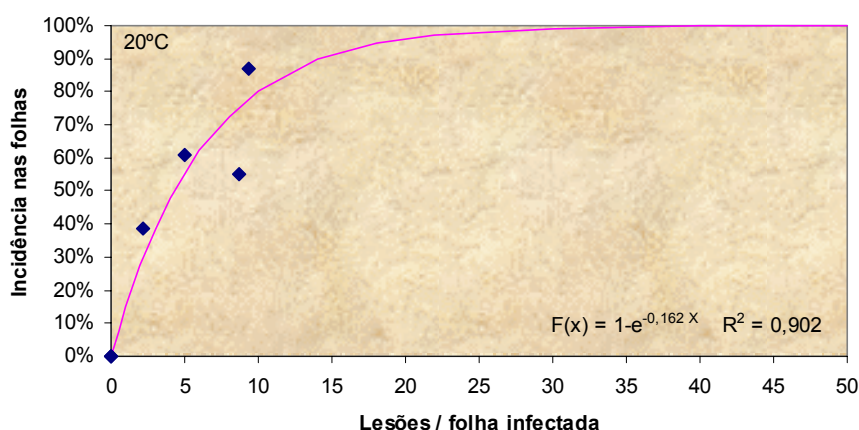


Fig. 77 Evolução da relação incidência– severidade de pedrado nas folhas em jovens pereiras (cv. Rocha) envasadas, submetidas a inoculação por conídios de *Venturia pirina* e sujeitas a diferentes períodos de humectação à temperatura constante de 20°C ($p < 0,05$). Resultados combinados de duas repetições.

O aumento da área das lesões indicou possivelmente a maior capacidade de colonização dos tecidos vegetais pelo fungo nos períodos de humectação mais longos. A área média de cada lesão variou entre 0,10cm² (8h) e 0,22cm² (24h).

A eficiência de infecção (nº lesões/ nº conídios viáveis) estimada para a infecção da pereira (cv. Rocha) por conídios de *V. pirina* variou de 0,015% a 0,064%, após 8h e 24h de período de humectação, respectivamente.

Foi possível obter uma relação significativa entre o número de lesões observado nas folhas e a incidência de *V. pirina* no mesmo órgão. A relação indicou que a totalidade

das folhas se apresentaria infectada caso o número de lesões por folha infectada atingisse 25 lesões, mais do dobro do valor observado no ensaio (Fig. 77).

Germinação e viabilidade dos conídios de *V. pirina*

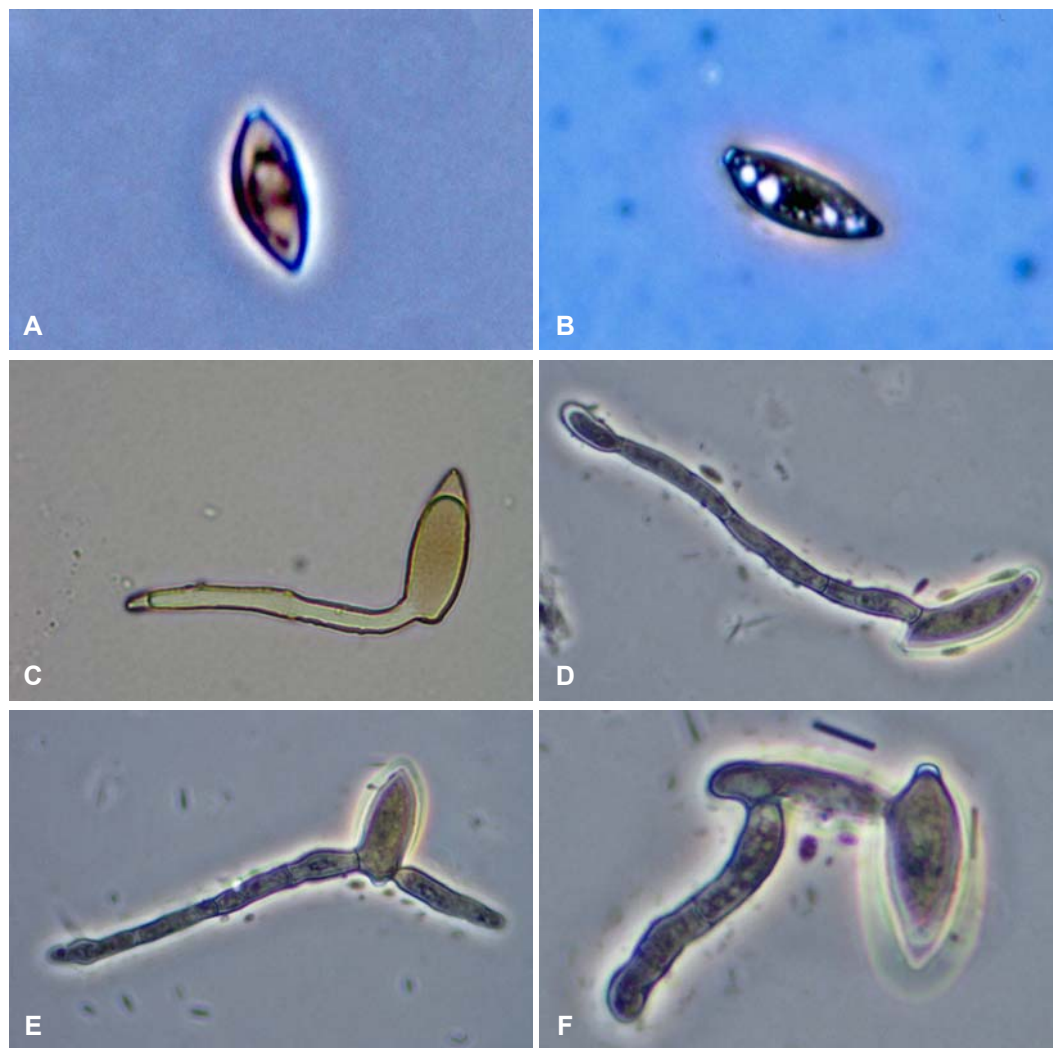


Fig. 78 Conídios de *Venturia pirina*. Conídio não germinado **A**, formação de vacúolos **B** (1000 \times). Conídio exibindo o tubo germinativo sem apressorium **C** e com apressorium **D**, ao fim de 24h de humectação (1000 \times). Conídios após dois períodos de humectação de 24h, separados por um período seco de 30 minutos **E**, **F**. Formação do novo tubo germinativo originado na parede do conídio **E** ou na célula adjacente à célula terminal **F** (1000 \times).

A maioria dos conídios de *V. pirina* sobreviveu ao primeiro período seco e germinou de forma a emitir um novo tubo germinativo no período de humectação seguinte.

Aparentemente, cada conídio só emitiu um tubo germinativo por período de humectação. Muitas das células apicais foram danificadas pela interrupção do processo de germinação. Aparentemente, algumas perderam a capacidade de crescimento, mesmo em circunstâncias de humectação contínua. Novos tubos germinativos formaram-se em caso de dano ou aparente incapacidade para o crescimento. Os novos tubos germinativos originaram-se na parte adjacente ao ápice do tubo germinativo antigo ou então formaram-se directamente da parede do conídio. Os conídios conseguiram formar tubos germinativos no fim de três períodos de humectação de 24 horas, interrompidos por dois períodos secos de 30 minutos cada, após os quais a maioria aparentava manter a viabilidade. Ao fim de quatro períodos de humectação e três períodos secos de 30 minutos o potencial germinativo dos conídios foi, aparentemente, seriamente limitado.

Discussão

A concentração de inóculo utilizada de 4×10^4 a 5×10^5 conídios/mL, foi semelhante às utilizadas por Villalta *et al.* (205) e Umemoto (201) (1×10^5 conídios/mL) ou por Spotts e Cervantes (168) (5×10^4 conídios/mL) para inoculações de *V. pirina* em pereira. Numa experiência, Spotts e Cervantes (168) verificaram que a utilização de inóculo a 1×10^5 comparado com a de 5×10^4 não era significativa na infecção. Para estes últimos autores a relação entre o nível de inóculo e a incidência ou severidade observada nas folhas ou lançamentos da pereira, exprime-se melhor através da relação linear. A taxa de germinação dos conídios variou entre 54% a 64% nos ensaios sobre as pereiras enxertadas e entre 67% a 74% nos ensaios sobre as plântulas. Nos ensaios de Spotts e Cervantes (168) a taxa de germinação (67%) dos conídios foi similar e inferior à dos conídios utilizados nas inoculações efectuadas por Umemoto (201) e Villalta *et al.* (205), acima de 80%.

A infecção por conídios após 8h de período de humectação a 20°C foi significativa e corresponde ao período mínimo absoluto de humectação verificado para *V. pirina*. O período mínimo de humectação em plântulas de pereira foi semelhante ao obtido em jovens pereiras enxertadas com um ano de idade e confirma comparações idênticas

de Spotts e Cervantes (168), em relação a plântulas e árvores adultas, e de Villalta *et al.* (205), entre plântulas e pereiras com um ano de idade.

A temperatura óptima para a infecção de *V. pirina* é cerca de 20°C ou 21°C (148, 157, 158, 168, 205). No intervalo de temperatura entre 15°C a 25°C a infecção é máxima. A temperatura óptima para o estabelecimento de infecção pelos ascósporos e conídios de *V. pirina* em pereira e *V. inaequalis* em macieira é muito semelhante (25, 78, 79, 97, 100, 107, 140, 148, 157, 168, 201, 205).

O período mínimo de humectação à temperatura óptima varia entre 9h (205) e 10h (148, 168). O período mínimo para a infecção por ascósporos e conídios de *V. pirina* ou *V. nashicola* (201) parece ser coincidente, especialmente para a temperatura superior a 12°C (157, 205). Os esporos de *V. inaequalis* necessitam, dentro da gama óptima de temperatura, de um mínimo de 6 horas contínuas de humectação para a infecção da macieira (78, 79, 97, 111, 140, 176, 181). Após 24h a 36h de humectação contínua à temperatura óptima o nível de infecção, medido pelo número de lesões causadas, atinge o seu valor máximo (97, 201, 205).

No estudo, a incidência máxima da doença observada nas folhas das plântulas de pereira (29,7%) foi inferior à observada nas folhas das pereiras enxertadas (87,0%). No estudo de Villalta *et al.* (205) a incidência máxima de *V. pirina* em folhas de plântulas situou-se entre 12% e 14%, cerca de metade do observado. A severidade média estimada sobre as pereiras com um ano de idade atingiu o máximo de 11,5% ao fim de 24h de humectação. Noutro ensaio de Villalta *et al.* (205), mais de 50% da área das folhas nas plântulas de pereira apresentava lesões após o período de humectação de 24h. Contudo, o método utilizado para avaliar a severidade foi diferente, pelo que a comparação directa é impossível.

No estudo 5,0 ou 8,7 lesões de pedrado foram observadas após 10 ou 12 horas de período de humectação a 20°C, respectivamente, e 9,3 após 24h. Spotts e Cervantes (168) observaram o valor máximo de 4,3 lesões por folha em plântulas de pereira após o período de humectação de 14h a 21°C. Este facto talvez indique a maior susceptibilidade do material vegetal utilizado. O período latente necessário ao

aparecimento dos primeiros sintomas, 9– 11 dias, foi semelhante ao observado por outros autores (168).

O aumento do período de humectação conduziu proporcionalmente ao aumento do número médio de lesões e da área média de cada lesão. Contudo, o número de lesões pode estar ligeiramente subestimado nos períodos de humectação mais longos, assim como a área média de cada lesão poderá estar sobrestimada, por aglutinação de algumas lesões, apesar da particular atenção durante o processo de contagem. Aparentemente, a resistência ontogénica foi menos efectiva quando o período de humectação teve maior duração. A eficiência dos conídios de *V. pirina* a causar lesões foi bastante reduzida e inferior a 0,07%. Tendo em conta a quantidade elevada de conídios utilizada nas inoculações artificiais, em circunstâncias naturais, o valor será certamente superior ao indicado.

Em *V. inaequalis* a eficiência de infecção dos ascósporos variou de 5% a 14% de lesões após 24h de período de humectação, à temperatura de 18– 19°C (5). Noutro estudo, Sanogo e Aylor (136) observaram que a eficiência de infecção era decrescente do botão verde (estado D) ao início da floração (estado F), de 6- 16% para 0,4- 0,6%, após 24h de humectação a 20°C. Contudo, o cálculo baseado em dados de Moore (111) nas mesmas condições indica a eficiência de infecção muito mais baixa, cerca de 0,03%, utilizando os ascósporos do mesmo fungo. O valor situou-se dentro da gama observada nos conídios de *V. pirina*.

Finalmente, o método de estimativa da severidade utilizado para *V. pirina* sobre a pereira (cv. Rocha) permitiu obter um diagrama de incidência- severidade que permite obter estimativas de rigor médio por comparação, a utilizar em estimativas futuras (Anexo 5).

Os conídios de *V. pirina* evidenciaram grande capacidade de germinação e sobrevivência sobre lâminas de vidro colocadas a 20°C em laboratório. A interrupção da humectação parou o processo germinativo nos tubos germinativos entretanto formados. Aparentemente, a maioria dos conídios não perdeu a viabilidade e pôde reiniciar o processo de germinação pela formação de novos tubos germinativos, com origem no tubo germinativo anterior ou na parede celular.

Aparentemente, a maioria dos conídios só emitiu um único tubo germinativo por período de humectação. A viabilidade dos conídios só diminuiu após três períodos de humectação interrompidos por dois períodos secos de 30 minutos.

Para a generalidade dos conídios de *V. inaequalis* observa-se a morte da célula apical do tubo germinativo após a breve interrupção da humectação. A restante parte do tubo germinativo ou do conídio mantém-se viável e é capaz de reiniciar a germinação (18). Este aspecto parece ter paralelismo no caso de *V. pirina*.

Becker e Burr (18) sugerem que os danos na célula apical desencadeiam a rápida obturação do poro septal, que estabelece a comunicação à célula adjacente, através de corpos de Woronin. Os danos na célula apical observam-se após o breve período seco de 15 a 120 minutos. No caso de *V. inaequalis*, a mortalidade de conídios ocorreu imediatamente após o fim do período de humectação.

A presença dos corpos de Woronin é uma característica *Ascomycota* (3), estando também presentes no fungo *V. pirina*. Aparentemente, existe o mecanismo capaz de preservar a viabilidade dos conídios, em condições adversas para os tubos germinativos de *V. pirina*, e corpos de Woronin ou outros mecanismos podem estar envolvidos.

Validação do modelo de infecção do pedrado (MIP)

Resultados

O modelo de infecção do pedrado (MIP) foi validado, para *V. pirina* entre 1996 e 2000, em condições de campo. Os parâmetros do modelo foram calculados com base no conjunto de dados obtidos por vários autores para a pereira, que constam da Fig. 79, ou através dos dados obtidos por inoculação de plântulas de pereira ou em pereiras enxertadas com um ano de idade. O valor médio do inóculo observado ao início das epidemias na região do Oeste foi também considerado.

Avaliou-se o coeficiente de compensação térmica (k) entre 0,22/°C e 0,23/°C e a temperatura óptima do fungo *V. pirina* de 20°C a 22°C. No modelo, 0,23/°C e 21°C foram os valores utilizados na simulação das epidemias de *V. pirina*. O período

mediano de humectação registado à temperatura óptima (\tilde{w}_{T_o}) foi calculado em 15h. A intensidade inicial da doença foi estabelecida em 1% de frutos infectados, de acordo com o valor mais comum obtido ao início das epidemias na região do Oeste.

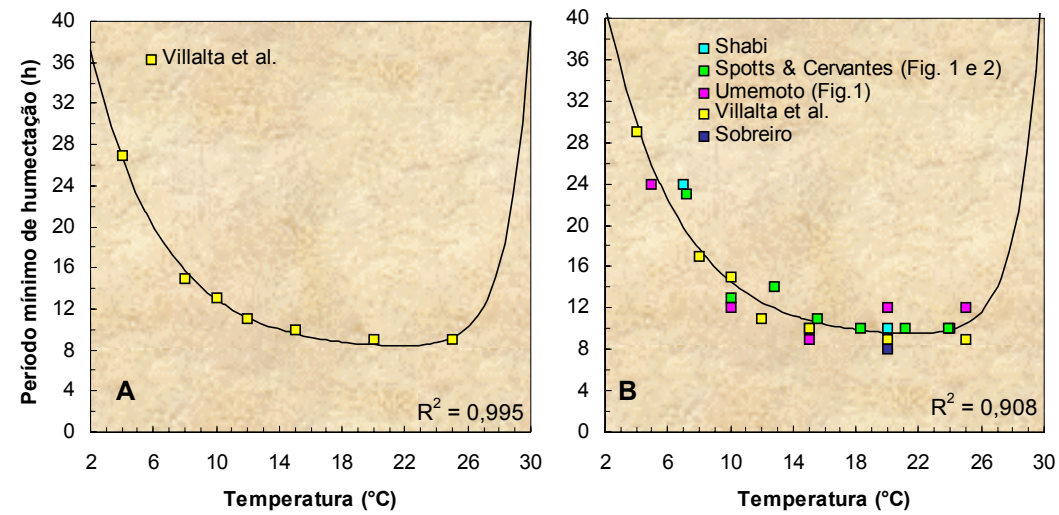


Fig. 79 Ajustamento do modelo bidimensional de infecção de Venturia pirina (Função 4) aos dados, relacionando o período mínimo de humectação com a temperatura para a expressão da doença após a inoculação laboratorial por ascósporos **A** e conídios **B** ($p_{A,B} < 0,001$). Parâmetros da relação obtida: Ascósporos, $w_{T_o} = 8,4h$, $k = 0,219/^\circ C$, $T_o = 21,8^\circ C$ **A**. Conídios, $w_{T_o} = 9,5h$, $k = 0,219/^\circ C$, $T_o = 21,7^\circ C$ **B**. (150, 168, 201, 205).

Quadro 6 Períodos de infecção de Venturia pirina observados de 1996 a 2000 na região do Oeste e sua distribuição por classes de incidência potencial nos frutos (%).

Ano	Classes de incidência potencial nos frutos					Total
	I >1 a 2%	II >2 a 4%	III >4 a 8%	IV >8 a 16%	V >16%	
1996	4	3	1	-	-	8
1997	6	6	6	2	-	20
1998	9	5	4	3	-	21
1999	5	5	3	3	-	16
2000	11	3	5	1	1	21
Total	35	22	19	9	1	86

A variação do valor do coeficiente de compensação térmica (k) não foi determinante no padrão das epidemias simuladas, nem no número de períodos de infecção calculados pelo modelo, considerando a mesma temperatura óptima. Pelo contrário, o período mediano de humectação (\tilde{w}_{T_o}) e a temperatura óptima (T_o) exerceram

efeito marcado nos resultados calculados pelo modelo. A intensidade inicial da doença (I_0) influenciou as epidemias, atrasando ou adiantando o início da curva epidémica.

De 1996 a 2000, o número de períodos de infecção detectados pelo modelo variou de 8 (em 1996) a 21 (em 1998 e 2000) (Quadro 6 e Anexo 4).

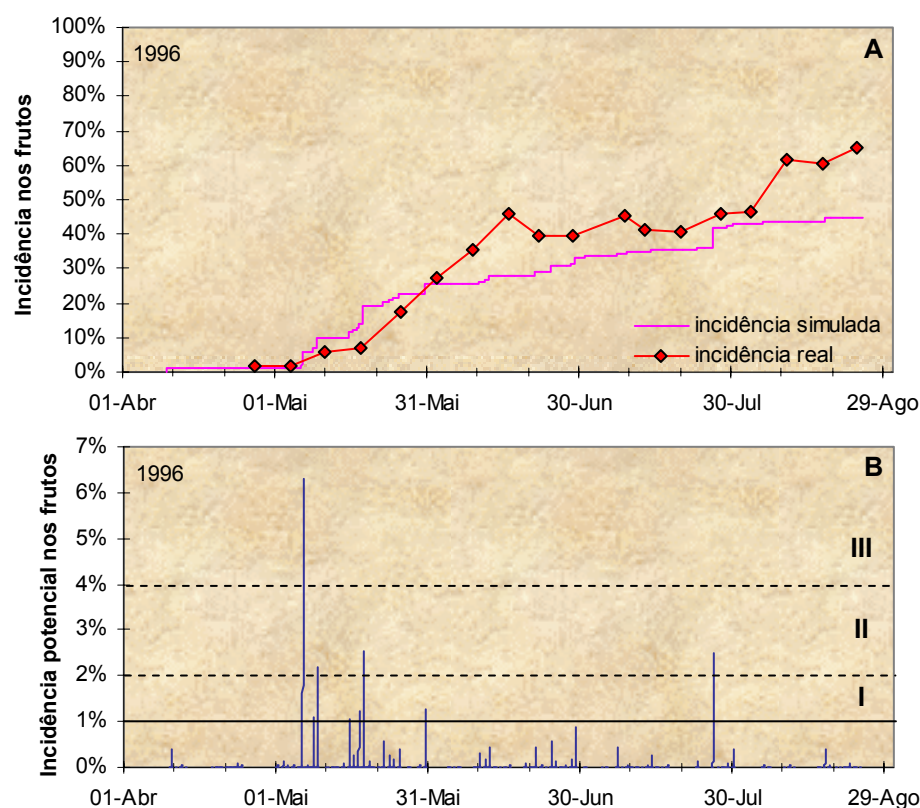


Fig. 80 Incidência real e simulada pelo modelo de infecção de *Venturia pirina* (MIP) nos frutos durante o ano de 1996 **A**. Períodos de infecção determinados pelo MIP (8 períodos ($p > 0,01$) em 1996 **B**.

Em 1996, o início da epidemia do pedrado foi o mais tardio dos anos em observação (Fig. 80). As infecções primárias iniciais só foram detectadas a 16 de Abril, a data mais tardia dos anos em estudo. Talvez por esse facto, e pelo número reduzido de períodos de infecção (oito), a epidemia atingiu 65,1% dos frutos à colheita. Existiu uma diferença de cerca de 20% entre o valor absoluto da incidência, obtido para a epidemia simulada, e o valor real observado na parcela não pulverizada. A diferença temporal entre a curva simulada e a real resultou do período latente, observado no campo, cujo valor médio se cifrou em cerca de 15 dias.

Durante 1996 foi detectados oito períodos de infecção, cuja incidência potencial nos frutos variou entre 1,0% e 6,3%. Antes de 8 de Abril de 1996 foi impossível obter dados meteorológicos e nesta altura as pereiras encontravam-se no estado fenológico de botão verde (estado D).

Deste modo, parte da diferença entre o valor simulado da incidência e o real pode explicar-se pela eventual presença de lesões latentes nos frutos das árvores, não detectadas pelo modelo, talvez ocorridas no início de Abril. Assim, o número de períodos de infecção detectados em 1996 pode ter sido superior ao indicado, em um ou dois.

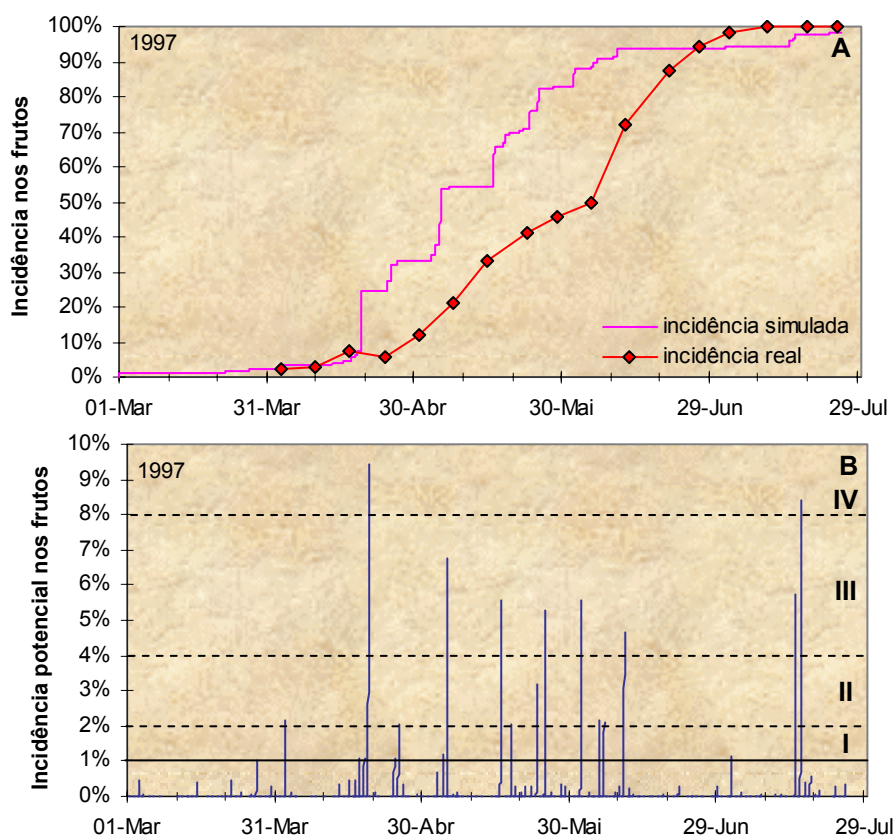


Fig. 81 Incidência real e simulada pelo modelo de infecção de *Venturia pirina* (MIP) nos frutos durante 1997 A. Períodos de infecção determinados pelo MIP (20 períodos, $p > 0,01$) em 1997 B.

Em 1996 foram detectados quatro períodos de infecção da classe I, três da classe II e um da classe III (Quadro 6).

Em 1997 o início da epidemia aconteceu a 24 de Março, a data mais precoce dos anos em análise (Fig. 81). No final da estação, à colheita, foi observado 100% dos frutos infectados. A curva da incidência simulada previu valores da mesma ordem de grandeza (98,1%). Em relação ao número de períodos de infecção previstos pelo modelo, cujo valor de incidência variou entre 1,0% e 9,4%, detectou-se 20 períodos de infecção. Dos períodos de infecção determinados em 1997, seis pertenceram à classe I,II e III, respectivamente, e dois à classe IV.

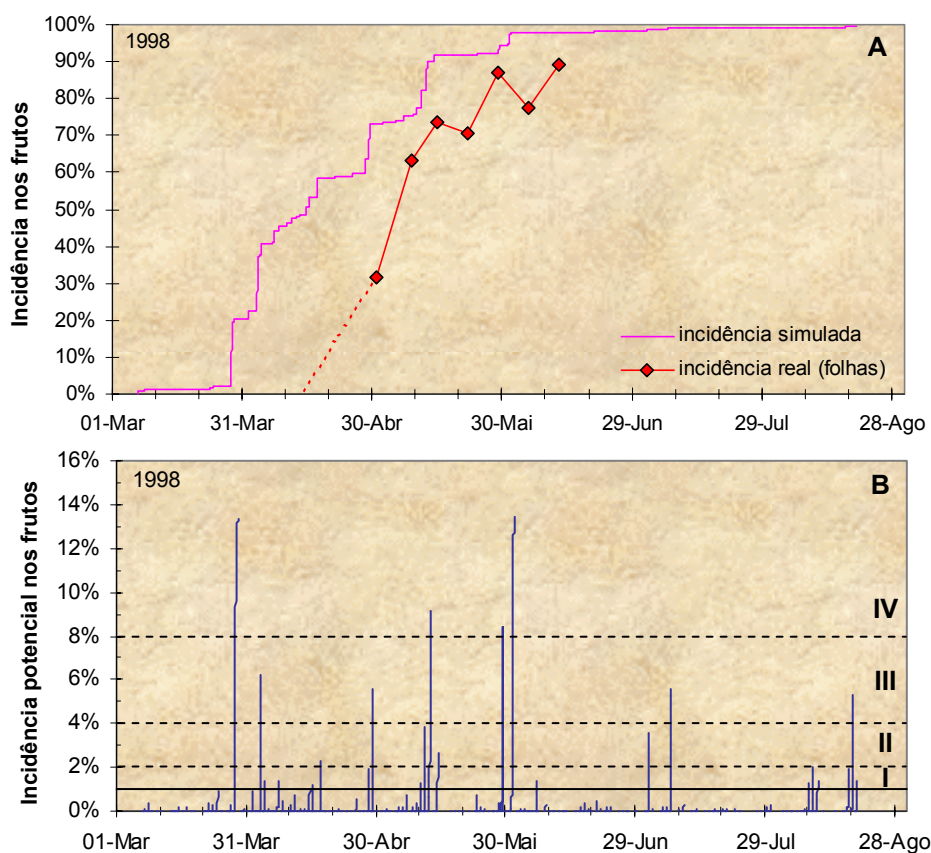


Fig. 82 Incidência real nas folhas e simulada pelo modelo de infecção de *Venturia pirina* (MIP) nos frutos durante 1998 A. Períodos de infecção determinados pelo MIP (21 períodos, $p > 0,01$) em 1998 (B). A linha tracejada une a data da primeira observação de infecções primárias nas folhas (13 de Abril) à data da primeira estimativa nas folhas (1 de Maio). O valor da incidência a 13 de Abril não foi registado.

Durante 1998, foi impossível seguir a evolução epidémica nos frutos. Tal facto deveu-se à reduzida percentagem de vingamento ocorrida. Deste modo, a progressão epidémica foi analisada nas folhas (Fig. 82). As primeiras infecções primárias foram detectadas a 13 de Abril, nas folhas e frutos. Nessa data, a incidência nas folhas não

foi registada, mas estima-se o valor situado entre 1% e 2%, à semelhança do acontecido na maioria dos anos ao início da epidemia.

Em 1998 a epidemia atingiu cerca de 90% das folhas da pereira e representou um valor bastante elevado. A epidemia simulada e real, medida pela incidência nas folhas, apresentou a mesma tendência.

Em 1998 foi detectado 21 períodos de infecção através do modelo, dos quais nove corresponderam à classe I, cinco à classe II, quatro à classe III e três à classe IV. A incidência potencial nos frutos prevista pelo modelo variou de 1,0% a 13,4%.

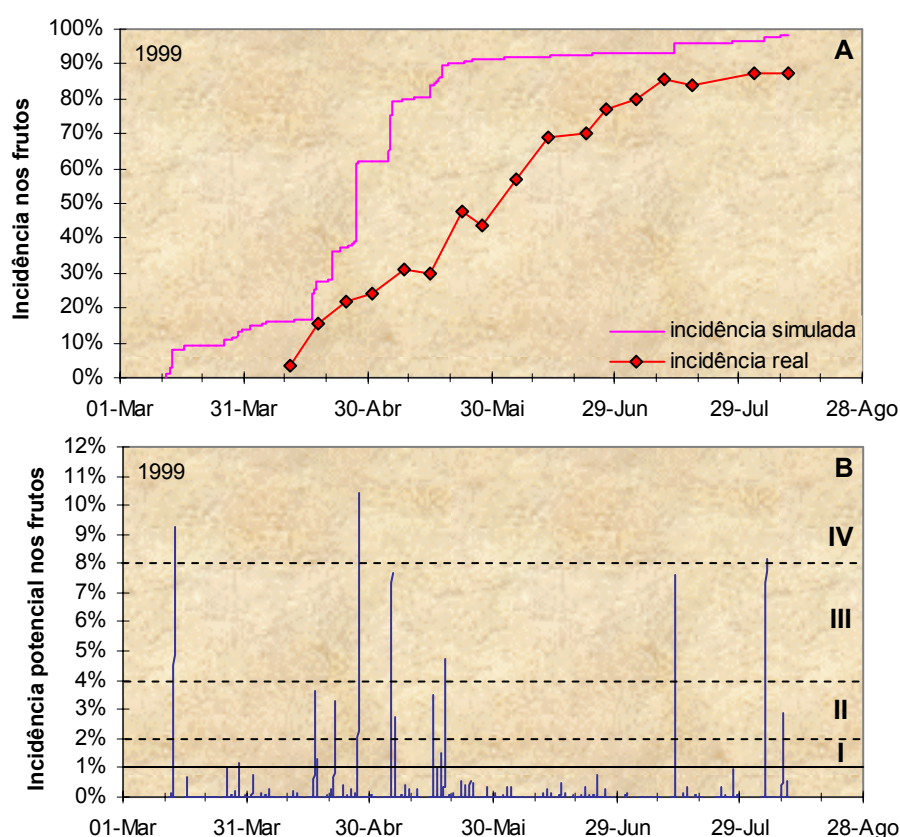


Fig. 83 Incidência real e simulada pelo modelo de infecção de *Venturia pirina* (MIP) nos frutos durante 1999 A. Períodos de infecção determinados pelo MIP (16 períodos, $p > 0,01$) em 1999 B.

Em 1999, a primeira infecção primária foi detectada a 11 de Abril sobre os frutos da parcela não pulverizada. Nesse ano a epidemia atingiu 87,4% dos frutos da pereira (Fig. 83). O valor da incidência simulado afastou-se do valor real em cerca de 10% à

colheita. Durante 1999 foi detectado 16 períodos de infecção, cinco repartidos na classe I e II e três repartidos na classe III e IV, respectivamente.

Em 2000, a primeira infecção primária foi detectada a 7 de Abril. Observaram-se nesse ano 97,6% de frutos infectados no dia 27 de Julho, na semana anterior à colheita (Fig. 84). Na data de colheita, a estimativa foi de 94,9%, ligeiramente inferior ao valor observado na semana anterior.

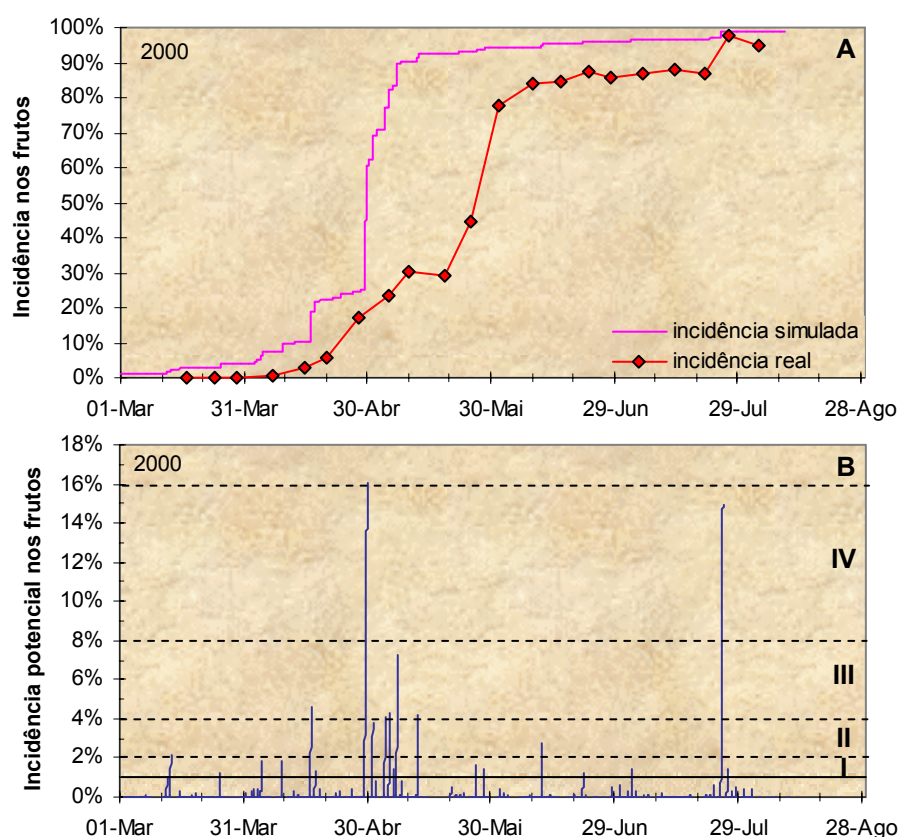


Fig. 84 Incidência real e simulada pelo modelo de infecção de *Venturia pirina* (MIP) nos frutos durante 2000 **A**. Períodos de infecção determinados pelo MIP (21 períodos, $p > 0,01$) em 2000 **B**.

As curvas epidémicas simulada e real foram consistentes entre si e a diferença observada foi certamente devida ao período latente do fungo. Em 2000 foi detectado 21 períodos de infecção, 11 pertencentes à classe I, três observados na classe II, cinco na classe III e um na classe IV e V, respectivamente. Do conjunto dos anos em análise, foi o único ano onde se observou um período de infecção correspondente à classe V.

Discussão

A incidência de *V. pirina* nos frutos variou de mais de 60% a 100%, ao longo dos cinco anos do estudo. Sobreiro (154, 156, 157, 158, 159, 163, 164) indica valores de incidência de *V. pirina* nos frutos dentro deste intervalo, em pomares não pulverizados na região do Oeste de Portugal. Villalta *et al.* (205) afirmam que a incidência de *V. pirina* nos frutos, na região australiana de Victoria, é de 70% a 100% em anos muito chuvosos, por vezes associada a perdas de produção importantes.

O modelo desenvolvido adaptou-se bem à simulação dos períodos de infecção de *V. pirina* na pereira, na região do Oeste de Portugal. Dos cinco anos em estudo, o modelo previu correctamente o desenvolvimento da epidemia em três anos; nos restantes dois anos, verificaram-se pequenos desvios nos valores absolutos simulados e reais. Em 1996 o desvio explicou-se pela inexistência de dados climáticos anteriores a 8 de Abril, com resultado na impossibilidade de prever o comportamento da doença num intervalo de cerca de oito a 10 dias, onde pode ter ocorrido um ou dois períodos de infecção. Comparando o valor da incidência nas folhas observada em 1998 a 12 de Junho (89%) com o valor observado em 1994 a 12 de Julho (65%) (158) verificou-se que o primeiro valor referido foi muito superior. No conjunto das observações, o maior desvio verificou-se no ano de 1999. Os últimos melhoramentos introduzidos no modelo, nomeadamente a possibilidade das simulações terem em conta o inóculo existente, foi um grande avanço em relação a versões anteriores (154, 159, 163), onde as simulações ultrapassavam por vezes o valor de 100% na previsão da incidência nos frutos.

Evolução das epidemias de *V. pirina* no ecossistema agrário do Oeste

Resultados

Nas Fig. 85 e Fig. 86 apresentam-se a evolução conjunta da incidência e da severidade do fungo *V. pirina* de 1996 a 2000. A incidência atingiu 65,1%, 100%, 87,4% e 94,9% dos frutos em 1996, 1997, 1999 e 2000, respectivamente, e 89,2% das folhas em 1998.

A severidade máxima variou de 15,0 a 44,6 lesões por fruto nos anos de 1996 a 2000 (Fig. 85) e foi de 5,8 lesões por folha em 1998 (Fig. 86). Após o aparecimento das lesões nos frutos e folhas, observou-se por vezes a sua coalescência nos dias seguintes ao seu aparecimento. Este fenómeno verificou-se no final da estação em 1996, 1997, 1998 e 2000. Em 1999 descontinuaram-se as contagens após 28 de Maio. Quando a coalescência das lesões ocorreu, aparentemente, o número de lesões observado decresceu, pois tornou-se impossível a distinção das lesões sobrepostas nos frutos.

Nas Fig. 85 e Fig. 86 indicam-se também os períodos de infecção detectados nos diferentes anos, em conjunto com os períodos óptimos de protecção química utilizando os actuais fungicidas curativos, os quais permitem a protecção do período de infecção até cinco dias após o seu início.

Tendo por base o período de acção dos fungicidas e os períodos de infecção determinados pelo MIP, caso se optasse pela estratégia curativa, a protecção química podia ter sido realizada por intermédio de quatro intervenções em 1996, 11 em 1997, nove em 1998, oito em 1999 e 13 em 2000, sem envolver outros critérios de estimativa. Caso se optasse pela estratégia mista, o número de intervenções seria ainda menor.

A severidade de *V. pirina* nas folhas, medida pela fracção infectada da folha, variou em 1998 de 1,4% a 1 de Maio até 2,7% a 12 de Junho, enquanto que a incidência variou de 31,4% a 89,2% no mesmo período (Fig. 87).

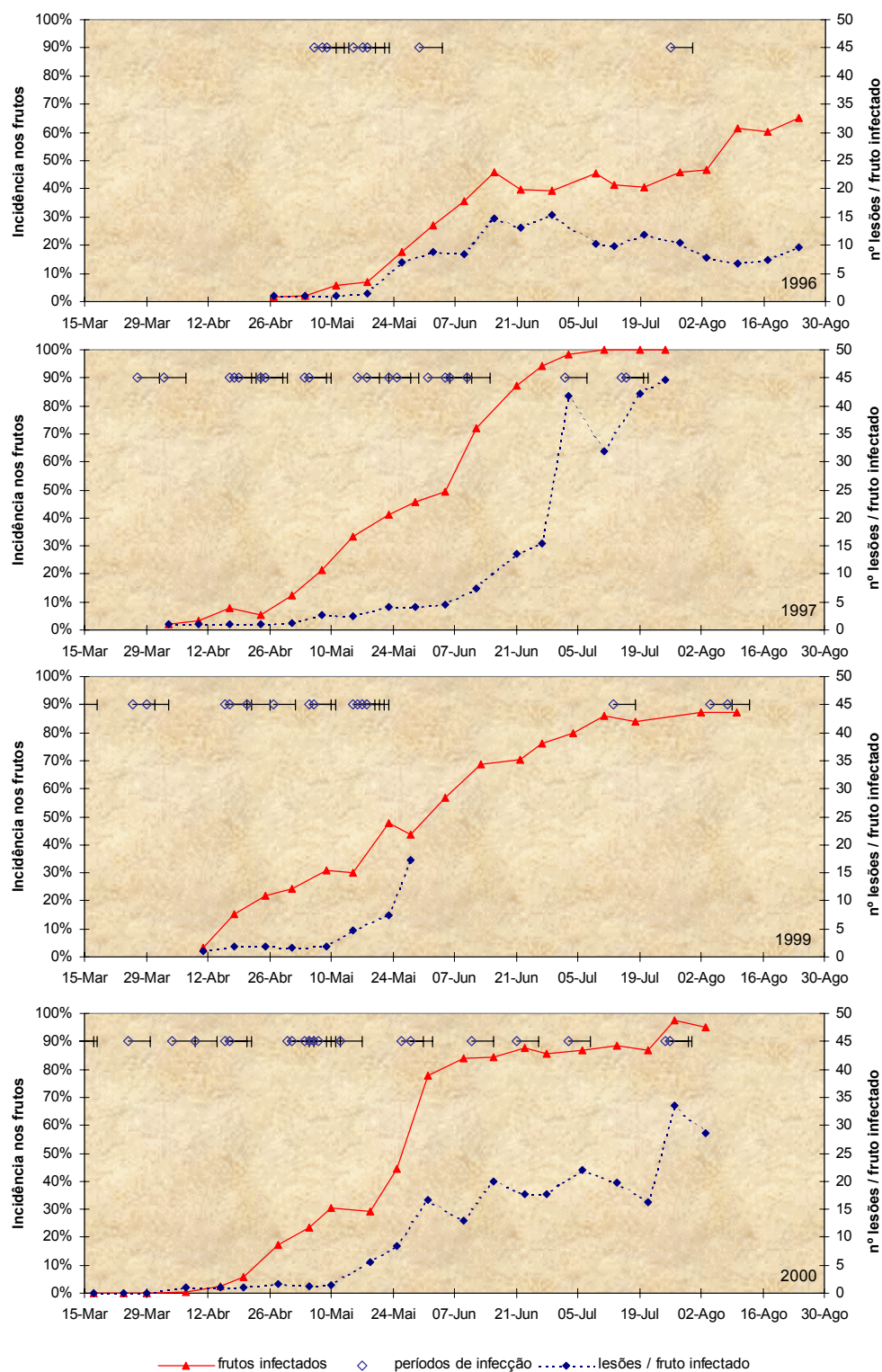


Fig. 85 Incidência e severidade de *Venturia pirina* nos frutos de pereira (cv. Rocha) em 1996, 1997, 1999 e 2000. Períodos de infecção ocorridos durante 1996, 1997, 1999 e 2000 e intervalos de possibilidade de protecção eficaz com fungicidas curativos.

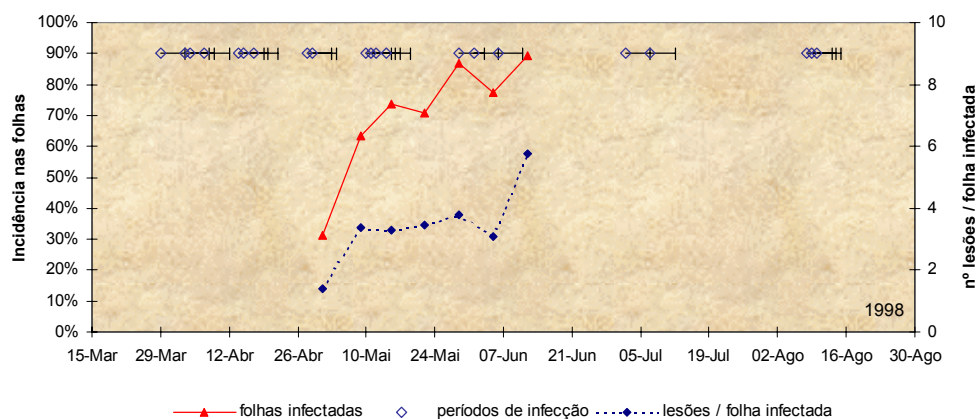


Fig. 86 Incidência e severidade de *Venturia pirina* nas folhas de pereira (cv. Rocha) em 1998. Períodos de infecção ocorridos durante 1998 e intervalos de possibilidade de protecção eficaz com fungicidas curativos.

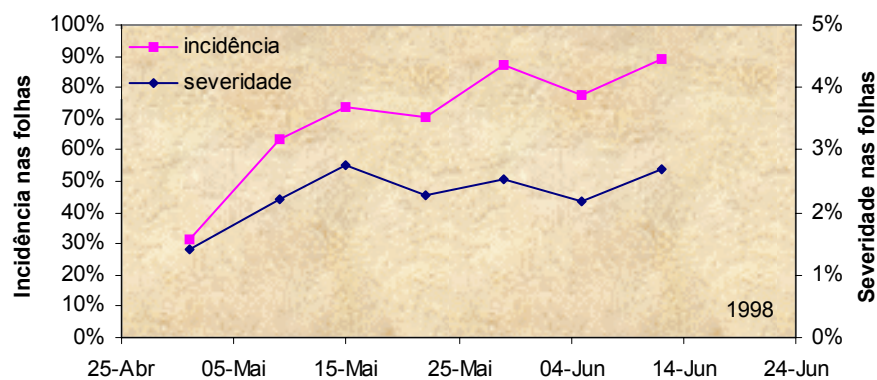


Fig. 87 Evolução da incidência e da severidade (expressa pela relação entre a área infectada e não infectada da folha, medida pelo ImageTool por digitalização) de *Venturia pirina* nas folhas ao longo da Primavera de 1998, por amostragem aleatória semanal de 100 folhas.

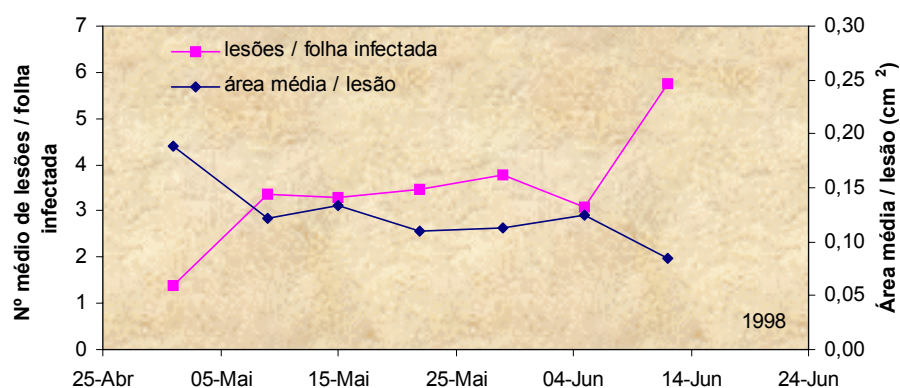


Fig. 88 Evolução do número médio de lesões por folha infectada e da área média das lesões de *Venturia pirina* medidas pelo ImageTool digitalizando a folha, ao longo da Primavera de 1998, por amostragem aleatória semanal de 100 folhas.

Ao longo do tempo, correspondendo a um maior número de lesões por folha infectada, observou-se a diminuição consistente da área média de cada lesão (Fig. 88). A 15 de Maio e 5 de Junho observou-se a coalescência de algumas lesões, denotada pela diminuição do número de lesões amostradas e o correspondente aumento da área média por lesão. Contudo, o fenómeno pareceu menos importante do que suposto inicialmente.

A área média por lesão foi diminuindo ao longo da estação, desde valores de 0,19cm² no princípio de Maio, até valores de 0,08cm² em Junho. Após o início de Junho o estudo terminou por impossibilidade de separar fisicamente as lesões de *V. pirina* das de outros patogénios.

Relações incidência– severidade

Exploraram-se várias relações incidência-severidade com base nos dados obtidos de 1996 a 2000, verificando-se ainda a possibilidade de relacionar a incidência de *V. pirina* nos corimbos da pereira com o número de lesões por flor ou fruto infectado.

A presença média de 20 a 35 lesões de *V. pirina* por fruto infectado correspondeu à presença da doença na totalidade dos corimbos (Fig. 89). Nessa situação também se observou a infecção da quase totalidade dos frutos (Fig. 90). À excepção de 1999, foi possível obter uma relação significativa ($p < 0,001$) entre o número de lesões observado por fruto infectado e a incidência da doença nos frutos, para os anos de estudo. A equação obtida depende de um parâmetro cujo valor variou de 0,046/lesão em 1996 até 0,140/lesão em 1997, precisamente os anos onde foi observada a menor e a maior incidência, respectivamente.

Na Fig. 91 observa-se a relação da severidade de *V. pirina* nas folhas, medida através da fracção infectada da folha, e a respectiva incidência nas folhas. Dado o baixo nível de severidade observado, de 1,4% a 2,7%, foi impossível obter uma relação entre estes dois indicadores. Contudo, até cerca de 3% de severidade, observou-se o aumento linear da incidência nas folhas, com o aumento da severidade.

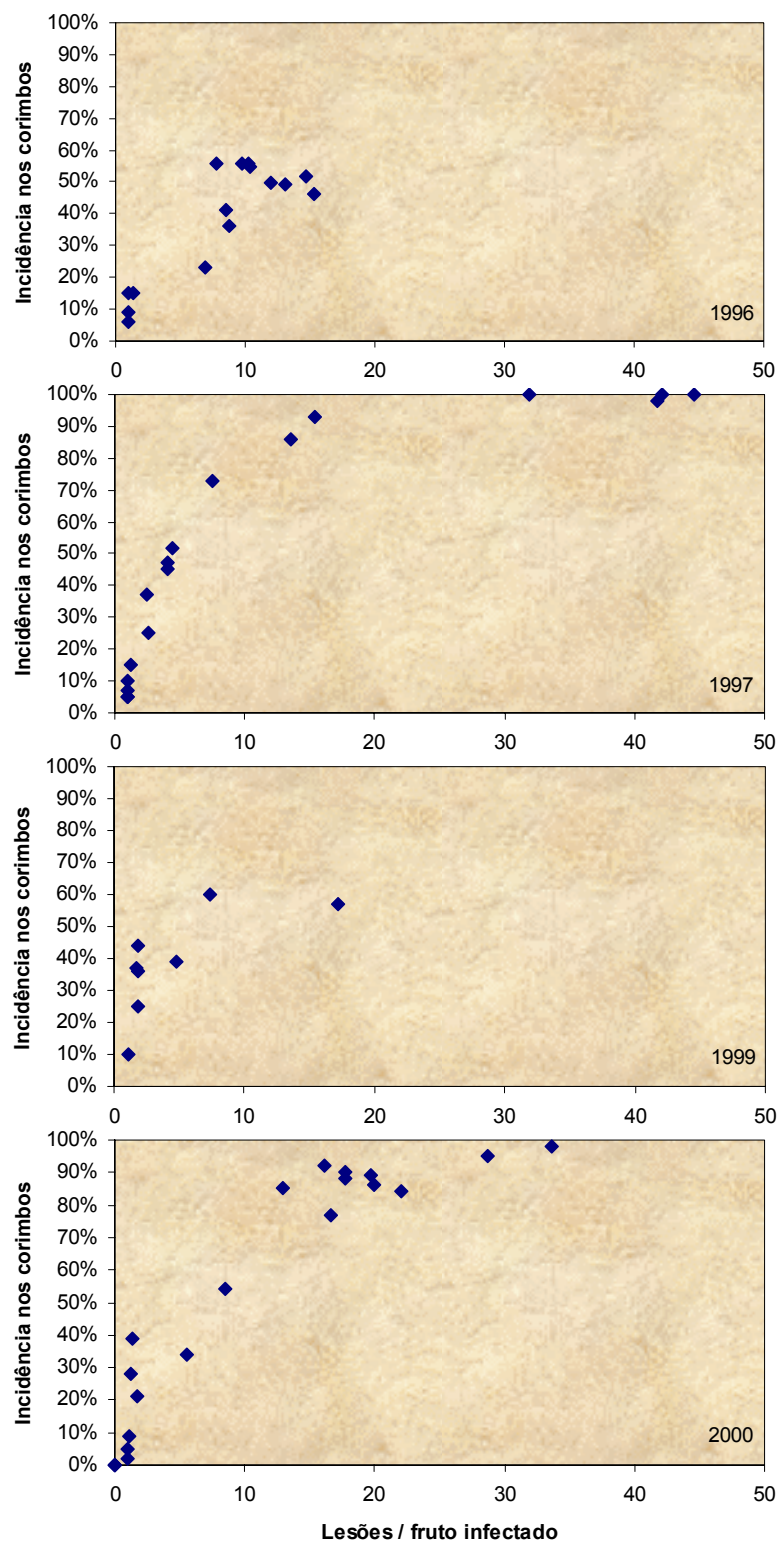


Fig. 89 Relações entre a incidência de *Venturia pirina* nos corimbos da pereira (cv. Rocha) e a severidade da doença expressa pelo número de lesões observadas em cada flor ou fruto durante 1996, 1997, 1999 e 2000.

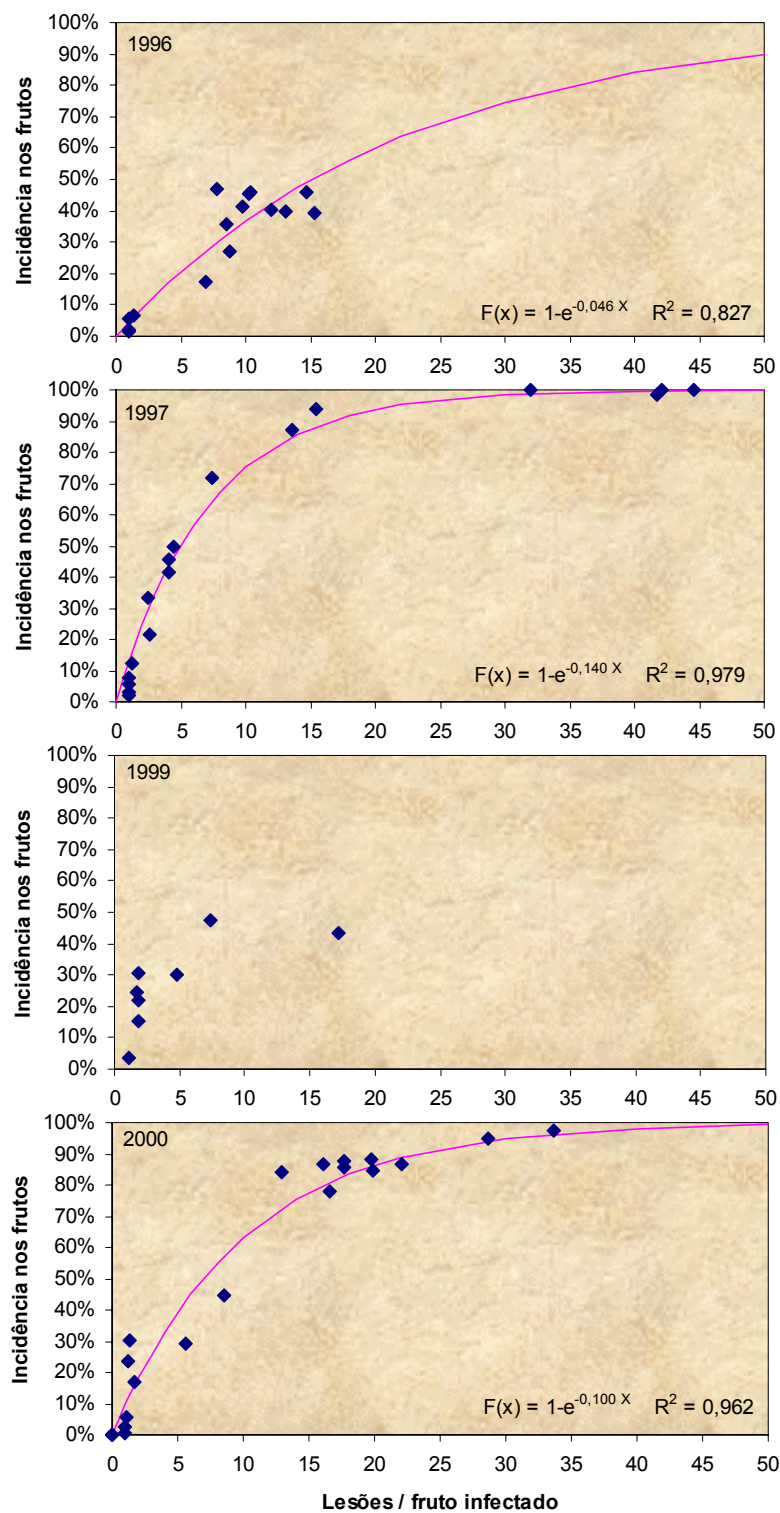


Fig. 90 Relações entre a incidência de *Venturia pirina* nos frutos da pereira (cv. Rocha) e a severidade da doença expressa pelo número de lesões observadas em cada flor ou fruto durante 1996, 1997 e 2000 ($p < 0,001$) Em 1999 a relação obtida não foi significativa.

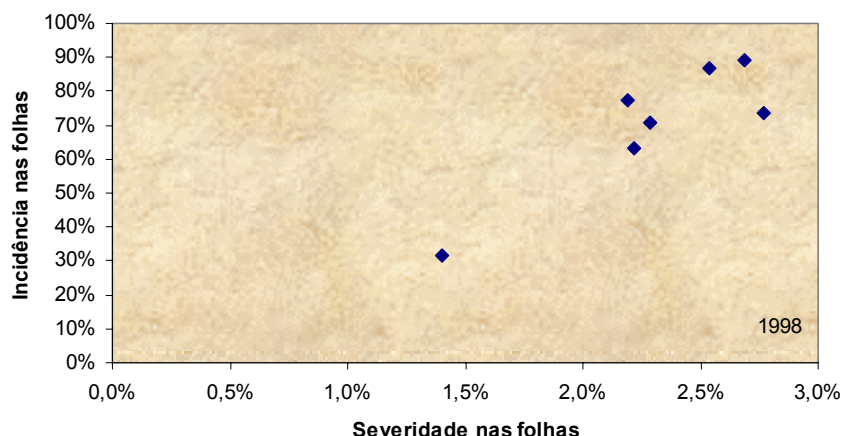


Fig. 91 Relação entre a incidência e a severidade (expressa pela relação entre a área infectada e não infectada da folha, medida pelo ImageTool por digitalização) de *Venturia pirina* nas folhas ao longo da Primavera de 1998, através de amostragem aleatória semanal de 100 folhas.

Com base no número de lesões observado por folha infectada, foi possível obter uma relação significativa ($p < 0,001$) entre a incidência e o número de lesões nas folhas, semelhante às anteriormente descritas para o caso dos frutos (Fig. 92). A relação parece indicar que a observação de 15 lesões por folha infectada poderá corresponder à observação da doença na totalidade das folhas.

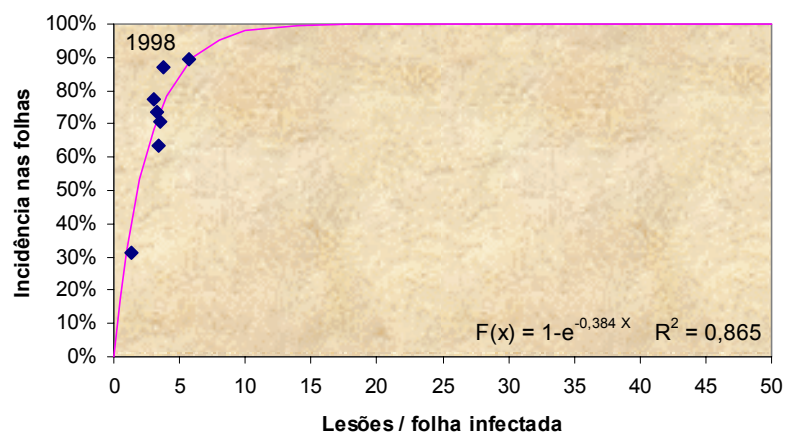


Fig. 92 Relação entre a incidência de *Venturia pirina* nas folhas da pereira (cv. Rocha) e a severidade da doença expressa pelo número de lesões observadas nas folhas infectadas durante o ano de 1998, ($p < 0,05$).

Verificou-se consistente a relação entre a incidência nos frutos e corimbos, como era de esperar da interpretação dos dados anteriores (Fig. 93).

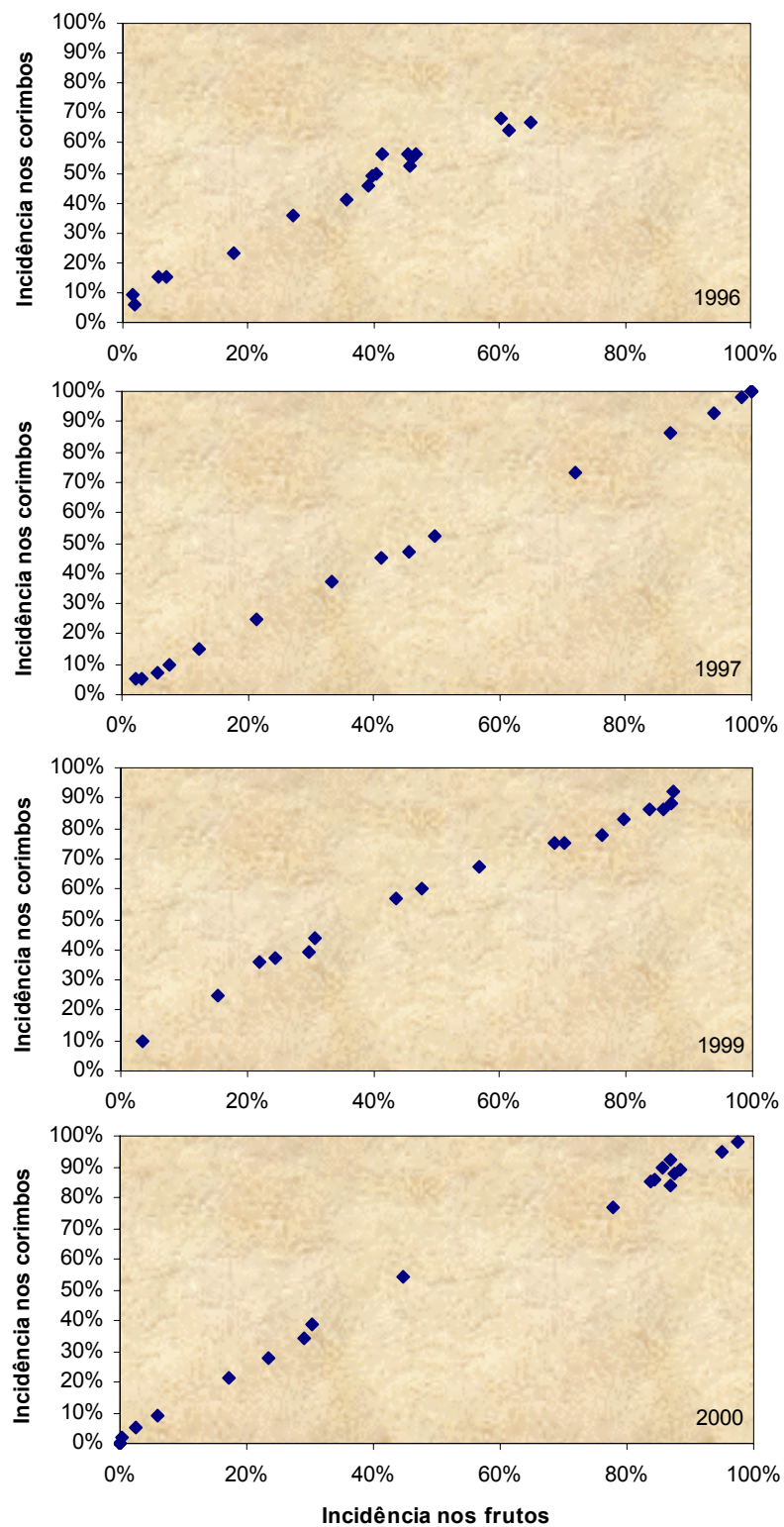


Fig. 93 Relações entre a incidência de *Venturia pirina* nos corimbos da pereira (cv. Rocha) e a incidência da doença nas flores ou frutos durante 1996, 1997, 1999 e 2000.

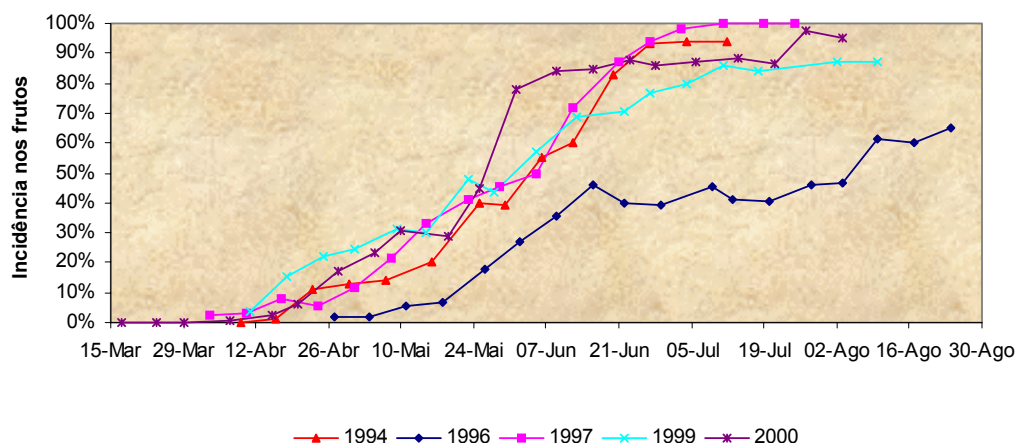


Fig. 94 Evolução comparativa das epidemias de *Venturia pirina* ocorridas nos frutos da pereira (cv. Rocha) em 1994, 1996, 1997, 1999 e 2000.

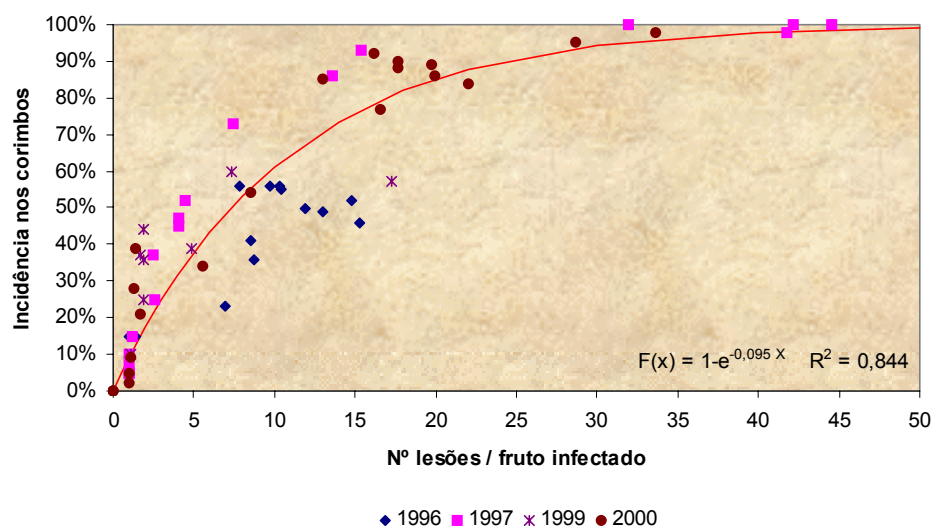


Fig. 95 Modelo para a relação entre a incidência de *Venturia pirina* nos corimbos da pereira (cv. Rocha) e a severidade da doença expressa pelo número de lesões observadas em cada flor ou fruto durante 1996, 1997, 1999 e 2000 ($p < 0,001$).

Na Fig. 94 resume-se o comportamento do fungo *V. pirina* no ecossistema agrícola do Oeste de Portugal. Em 1996 a epidemia iniciou-se bastante tarde e não evoluiu até ao ponto máximo por escassez de períodos de infecção durante a estação, mais marcadamente em Junho e Julho. Em 1997 o desenvolvimento epidémico teve um acréscimo acentuado devido ao elevado número de períodos de infecção ocorridos em Abril e Maio. Em 1999 a epidemia atingiu um valor inicial elevado, o maior dos anos em estudo, devido a períodos de infecção ocorridos em Março e Abril. A ausência de infecção durante Junho desacelerou a epidemia e os períodos de infecção

registados em Julho tiveram pouco impacto na epidemia. Em 2000, as chuvas muito concentradas do final de Abril e princípio de Maio, condicionaram a epidemia de *V. pirina* que sofreu um forte acréscimo nesse mês. Foram as infecções potenciais da classe III a V que condicionaram o padrão da curva das epidemias observadas no ecossistema agrário do Oeste de Portugal.

Quando se agrupou as observações da incidência de *V. pirina* nos corimbos e se relacionou com o número de lesões por fruto infectado, obteve-se uma relação significativa ($p < 0,001$) para o conjunto dos quatro anos. Deste modo, tornou-se possível calcular o número médio de lesões com base na observação da incidência de *V. pirina* nos corimbos e vice-versa (Fig. 95).

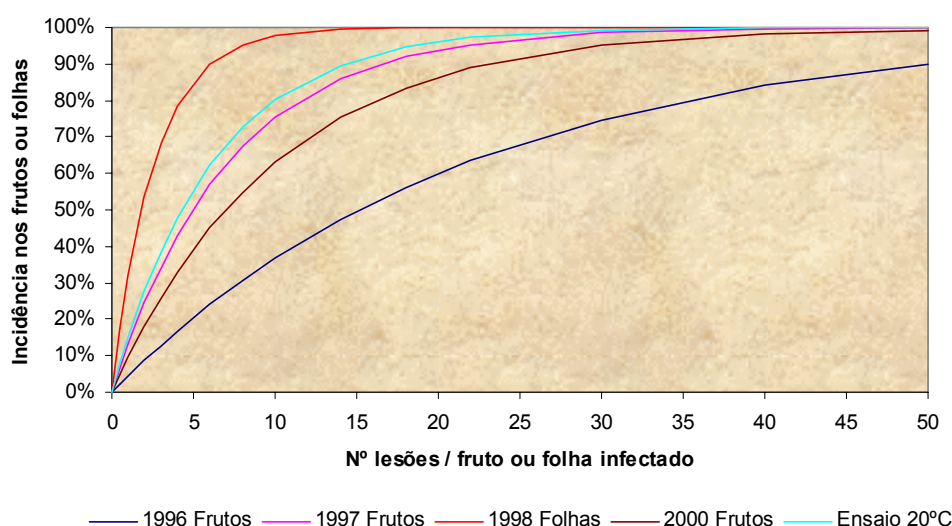


Fig. 96 Comparação das diferentes relações obtidas entre a incidência e a severidade de *Venturia pirina* em folhas ou frutos da pereira (cv. Rocha).

Também se procurou comparar o conjunto das relações, obtidas em diferentes ensaios, entre a incidência observada nos frutos ou folhas e o número de lesões por fruto ou folha (Fig. 96). Para o conjunto destas relações, o parâmetro do modelo variou de 0,046/ lesão até 0,384/ lesão. Nos frutos esta constante variou de 0,046/ lesão a 0,140/ lesão. Nas folhas, o parâmetro variou de 0,162/ lesão, obtido por inoculação artificial sobre jovens pereiras envasadas, a 0,384/ lesão em 1998, no pomar sem tratamentos fungicidas.

Na Fig. 97 observa-se a relação global entre a incidência nos corimbos e a incidência nas flores ou frutos, para o conjunto dos anos. A relação foi quase linear.

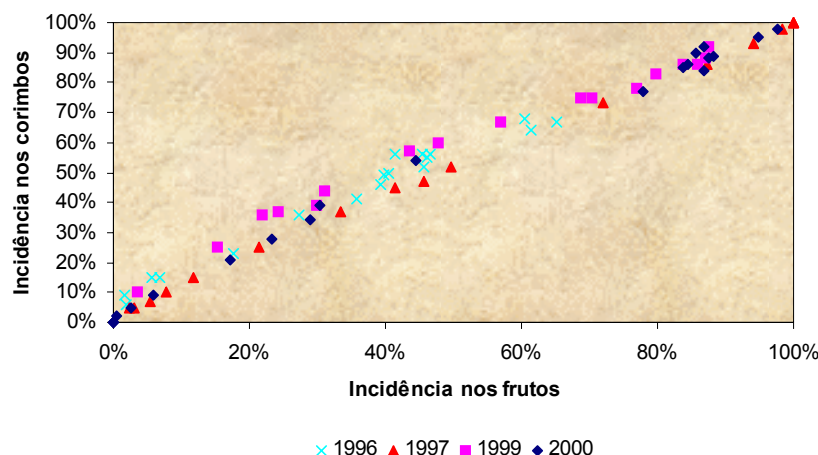


Fig. 97 Relação entre a incidência de *Venturia pirina* nos corimbos e a incidência da doença nas flores ou frutos da pereira (cv. Rocha) para o conjunto dos anos (1996, 1997, 1999 e 2000).

Estudo das lesões e do crescimento difuso do fungo no final da estação

As lesões de *V. pirina* no Outono apresentaram um aspecto incaracterístico e por isso facilmente confundíveis com lesões de origem diversa. No Outono, outros fungos provocaram necroses de aspecto macroscópico semelhante a *Venturia pirina*.

Lesões de pequena dimensão apareceram na página superior ou inferior da folha no Outono antes da queda da folha. As lesões parecem ter resultado de infecções ocorridas no fim da Primavera, início do Verão ou talvez no Outono. As novas lesões, indistintas à vista, apresentavam o aspecto de pequenos pontos circulares cobertos de micélio cinzento ou castanho-escuro. As lesões apareceram na página superior da folha na forma de pequenos pontos avermelhados de margens indefinidas com conidióforos e conídios presentes nas imediações das lesões.

Folhas sem sintomas macroscópicos aparentes apresentaram crescimentos difusos do fungo com conidióforos e conídios característicos. Em observação microscópica detectou-se o crescimento micelial radial do fungo no ponto de infecção (Fig. 98). Aparentemente, não se observaram tecidos necróticos na área destas infecções (Fig. 98B). Por vezes o fungo cresceu ao longo das nervuras principais ou secundárias da folha sem afectar o seu limbo. As nervuras infectadas eram da cor castanha-avermelhada (Fig. 98A). Os conidióforos e os conídios de *V. pirina* cresceram em pequenos tufo, por vezes ligados a outros por hifas do fungo (Fig. 98C,D).

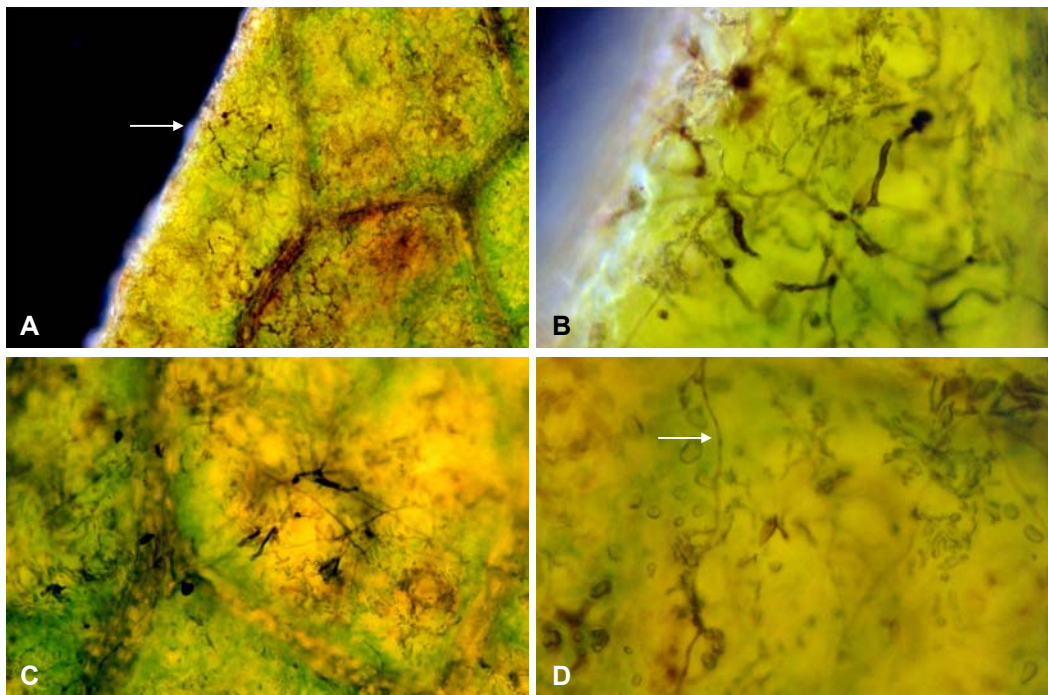


Fig. 98 Sintomas da infecção de *Venturia pirina* em folhas da pereira (*Pyrus communis*) ao início da queda das folhas. Conidióforos na página inferior da folha, exibindo as nervuras infectadas a cor castanha– avermelhada (100×) **A**. Conidióforos adjacentes a micélio no mesófilo da folha (400×) **B**. Tufos de conidióforos e conídios do fungo estabelecendo ligação a outros grupos sem manifestação de necroses (200×) **C**. Conídio de *V. pirina* responsável pela infecção e hifas do fungo na sua imediação (local assinalado) (400×) **D**.

Discussão

Mills e Laplante (107) estabeleceram o sistema de Mills dividido em períodos de infecção ligeira, moderada ou elevada, após a percepção geral que os períodos de humectação mais longos correspondem a um nível de infecção superior, nas mesmas circunstâncias. Existem poucos estudos da relação entre o período de humectação, a temperatura e a incidência nos frutos ou nas folhas, talvez devido à dificuldade em estimar o nível de inóculo, que confunde os dados. Sobreiro (158) e Duthie (45) estabeleceram a linha teórica que permite abordar o problema. Todavia, nestes estudos, só é tido em conta o efeito conjunto da temperatura e do período de humectação sobre a incidência ou a severidade duma doença. Hau (59) e Teng (186) fizeram a revisão cuidada dos diferentes modelos explicativos do desenvolvimento epidémico e dos factores intervenientes, onde explicam a abordagem ao problema de

forma por vezes distinta, considerando ou não as epidemias como entidades globais. Contudo, pela primeira via, a avaliação de diferentes componentes da epidemia surge na forma de constantes, que na realidade representam funções, remetendo o problema à percepção dos sub-processos constituintes.

O desenvolvimento epidémico anual de *V. pirina* no ecossistema agrário do Oeste de Portugal foi fortemente condicionado pela existência de períodos de infecção. Sobretudo os períodos de infecção das classes III a V, modificaram a forma da curva epidémica nos períodos onde estes ocorreram. Outro aspecto importante foi a evolução do patossistema. Quando o patossistema evoluiu mais cedo na estação, o período de crescimento do hospedeiro foi mais longo e foi também maior a probabilidade da epidemia atingir um valor elevado de doença. O oposto aconteceu nos anos onde o patossistema atrasou a entrada em actividade. A incidência foi o indicador robusto do desenvolvimento epidémico de *V. pirina* sendo de forma geral, mais fácil de estimar que a severidade.

Importantes relações puderam ser estabelecidas entre as duas formas de estimativa (incidência e severidade) as quais podem indicar novos métodos de avaliação e de melhoria das previsões comportamentais do patossistema. A estimativa da incidência de *V. pirina* nas folhas da pereira teve dificuldades acrescidas pelo facto da formação constante de novas folhas, sujeitas a distintas condições climáticas e bióticas ao longo da estação (158).

O nível de incidência atingido nas folhas da pereira em 1998, cerca de 90%, foi elevado; contudo o nível de severidade atingido neste órgão, inferior a 3%, foi muito baixo. Nos ensaios com inoculação artificial por conídios de *V. pirina* atingiu-se cerca de 12% de severidade nas folhas, após 24h de período de humectação. Outros autores (205) apontam valores de severidade em jovens plântulas de pereira na ordem dos 80% após 24h de período de humectação. Nos ensaios efectuados em pereira (cv. Rocha) foi impossível atingir tal valor, obtendo-se uma severidade nas folhas mais infectadas inferior a 40%. A digitalização das folhas foi um método muito preciso para avaliar a severidade, bastante mais rigoroso e real que outros métodos

utilizados e pode ter explicado parte da diferença nos resultados obtidos por outros autores.

O número máximo de 5,8 lesões atingido por folha em condições naturais foi inferior às 9,3 obtidas nas inoculações artificiais por conídios em pereiras jovens envasadas. No Outono, Spotts *et al.* (167) observaram de 1,8 a 2,2 lesões de *V. pirina* por folha infectada através da utilização de lupa binocular. A área média por lesão nas jovens pereiras envasadas sujeitas a inoculação ($0,097\text{--}0,219\text{cm}^2$) e a área média observada naturalmente em pereiras adultas ($0,085\text{--}0,189\text{cm}^2$), foram bastante semelhantes. Como em condições naturais as lesões do início da estação ocorreram nas folhas infectadas com frequência próxima da unitária, a área média por lesão ($0,189\text{cm}^2$) foi estimada com grande rigor, devido à baixa probabilidade de coalescência. Geralmente, a coalescência entre lesões aconteceu no final da estação, impedindo a determinação rigorosa da área por lesão ($0,085\text{cm}^2$). Nos ensaios de inoculação, a baixa frequência de lesões (2,2/ folha infectada) observada no período de humectação de 8h, permitiu a determinação da área média por lesão ($0,097\text{cm}^2$) de forma rigorosa, pois observou-se reduzida fusão entre lesões, ao contrário do verificado nos períodos de humectação de 24h ($0,219\text{cm}^2$). Comparando a área média das lesões nos extremos dos intervalos obtidos pelos diferentes ensaios ($0,189\text{cm}^2$ *versus* $0,219\text{cm}^2$ e $0,097\text{cm}^2$ *versus* $0,085\text{cm}^2$) verificou-se que o desfaseamento entre ambos foi pouco significativo, dando consistência aos resultados obtidos.

A diminuição da área média das lesões de *V. pirina* ao longo da Primavera pareceu indicar a presença de mecanismos de resistência ontogénica nas folhas da pereira, cada vez mais efectivos com o avanço da idade das folhas, pelo menos até ao fim da Primavera.

As relações incidência– severidade obtidas foram bastante importantes pois permitiram relacionar vários aspectos do patossistema (145). As relações incidência– severidade são relações chave na avaliação dos estragos e prejuízos, basilares para a definição de níveis de doença acima dos quais é necessário tomar uma decisão (224).

Por exemplo, na relação entre a incidência e o número de lesões observado nos frutos, o menor parâmetro da relação correspondeu ao atraso na evolução do

patossistema ou ao menor número de períodos de infecção observado, facto ocorrido em 1996. O oposto aconteceu em 1997, quando o patossistema evoluiu mais cedo e foram observados mais períodos de infecção. A relação entre a incidência de *V. pirina* nos corimbos e o número de lesões nos frutos pode ser utilizada na estimativa do número de lesões presentes em cada fruto infectado, tendo por base a amostragem de corimbos infectados; e torna-se assim numa relação interessante para o futuro.

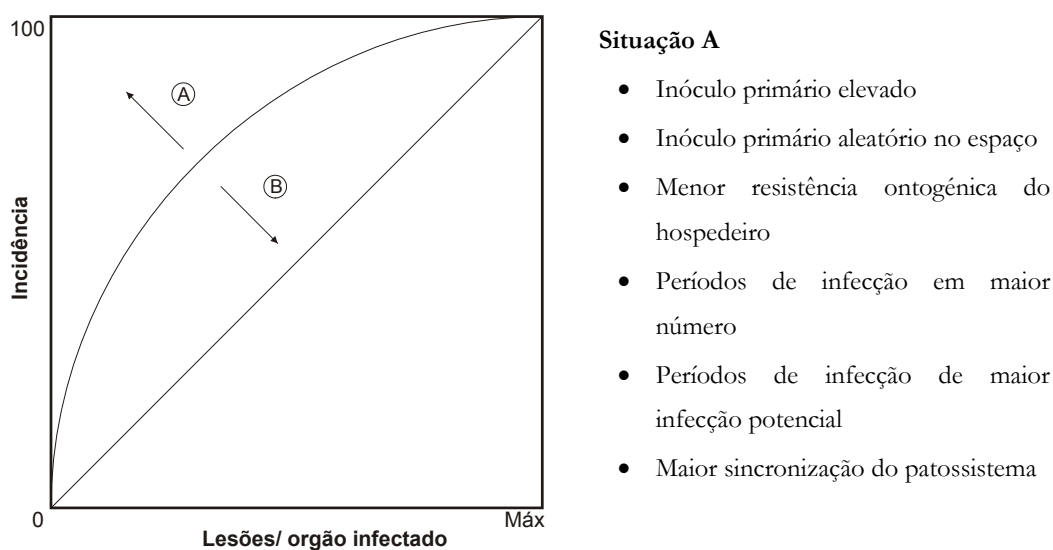


Fig. 99 Características principais da relação incidência– severidade do fungo *Venturia pirina* no ecossistema. A situação A possui os atributos opostos à situação B.

O resumo das principais características da relação incidência/ severidade está presente na Fig. 99.

Existe expressão outonal de infecções de pedrado, causadas pelo fungo *V. inaequalis* no final da Primavera ou durante o Verão (97). Os sintomas observados para *V. pirina* foram semelhantes aos descritos para *V. inaequalis*.

No Outono as infecções de *V. pirina* apresentaram-se como pequenos pontos em ambas as páginas da folha. As infecções originaram por vezes uma pequena necrose. Neste caso o sintoma foi semelhante ao causado por outros fungos do qual dificilmente se distinguiu à vista desarmada. Através da microscopia, observaram-se os conidióforos e conídios característicos do *V. pirina*.

Algumas infecções não conduziram a necroses e por vezes observaram-se pequenas alterações na cor ou no aspecto visual dos tecidos através do microscópio. Ao longo das nervuras foram evidentes as estruturas do fungo e o aspecto avermelhado dos tecidos. No limbo não se observou qualquer dano ou alteração da cor, mas pequenos tufo de conidióforos irromperam através dos tecidos vegetais e formaram conídios. Vários destes tufo estavam ligados entre si pelas hifas do fungo. Normalmente, no interior do mesófilo da folha, podia-se observar as hifas do fungo *V. pirina*.

As lesões observadas no Outono parecem ter resultado de infecções ocorridas no final da Primavera, início do Verão, ou talvez no Outono, antes da queda da folha.

Aspectos de protecção de *V. pirina*

Resultados

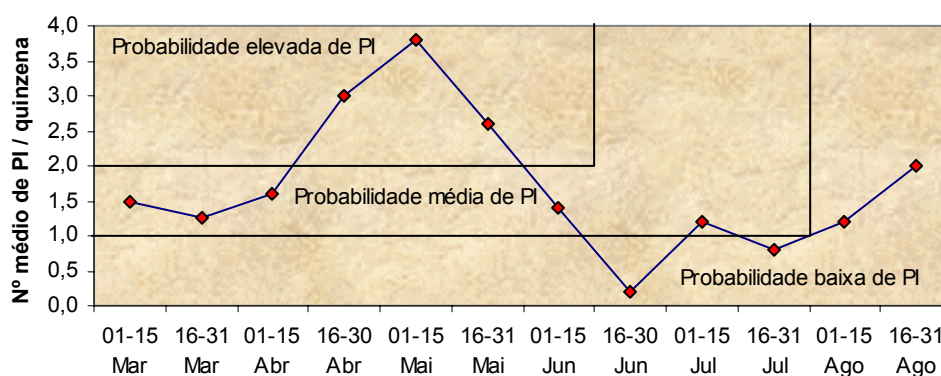


Fig. 100 Número médio de períodos de infecção (PI) de *Venturia pirina* ocorridos por quinzena na Sobrena (Cadaval) durante o período de 1996 a 2000. Os períodos de infecção foram determinados de acordo com o modelo de infecção do pedrado (MIP). Probabilidade baixa (< 5%), média (5-10%) e elevada (>10%) dos períodos de infecção totais da estação de 1 de Março a 31 de Agosto.

Com base na determinação dos períodos de infecção detectados pelo MIP (Anexo 4), calculou-se por quinzena e para o conjunto dos anos em observação, a probabilidade de ocorrência dos períodos de infecção (PI) (Fig. 100). A probabilidade de ocorrência foi dividida em classes de risco baseadas no seguinte critério: probabilidade baixa (<5%, até 1 PI/ semana), média (5-10%, 1 a 2 PI/ semana) e elevada (>10%, mais de 2 PI/ semana), relativamente ao total de períodos de infecção detectados de 1 de Março a 31 de Agosto. Observou-se a probabilidade elevada de ocorrência de

períodos de infecção para *V. pirina* nos meses de Abril e Maio, probabilidade média em Março e Julho e probabilidade baixa em Junho e Agosto.

Sequências de protecção química

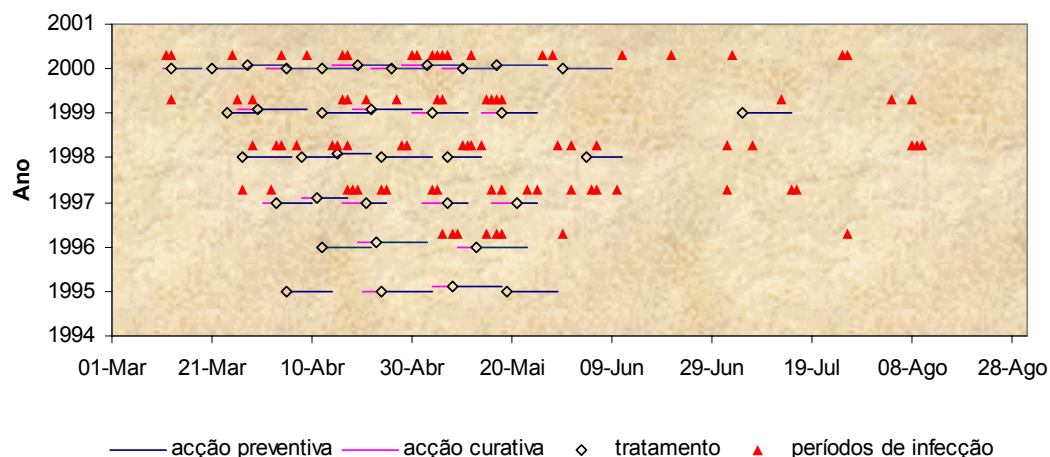


Fig. 101 Estratégias de protecção ao pedrado da pereira efectuadas com fungicidas de acção preventiva e curativa numa parcela de 1,5 ha situada na Sobrena (Cadaval) baseadas na estimativa do risco efectuada pelo modelo de infecção do pedrado (MIP) (à excepção de 1995), na determinação do fim dos esporos primários e da incidência das infecções primárias nos frutos, nos anos de 1995 a 2000.

Na Fig. 101 estão presentes as diferentes estratégias (preventiva, curativa e mista) de protecção ao pedrado da pereira, efectuadas de 1995 a 2000. Em 1995 foi impossível efectuar a estratégia de protecção baseada no modelo MIP por os registos climáticos estarem indisponíveis.

De 1995 a 2000 o número de tratamentos para o pedrado variou de três em 1996 a 11 em 2000, com o número médio de 6,0 tratamentos anuais. Como resultado dessas estratégias, a incidência de pedrado nos frutos variou de 0,2% em 2000 a 5,1% em 1997. À excepção de 1997, a incidência de pedrado nos frutos situou-se abaixo de 1,5%. Os tratamentos realizados incluíram fungicidas preventivos, curativos e sua mistura (Quadro 7). No início da estação, os tratamentos começaram geralmente com substâncias activas preventivas, sendo realizado, em média, um tratamento no fim de Março. Em 1997 foi impossível a realização do tratamento preventivo, tendo-se efectuado na primeira quinzena de Abril um tratamento curativo. Em 1995, 1996, 1999 e 2000 privilegiou-se a estratégia mista e os resultados foram 0,8%, 1,1%, 0,4% e 0,2% de pedrado nos frutos, à colheita, respectivamente. Em 1997 a preferência foi

a estratégia essencialmente curativa, contudo o nível de infecção atingiu 5,1% de incidência sobre as peras à colheita. Num bloco sujeito à aplicação (nas mesmas datas) de tratamentos preventivos (captana), contíguo ao bloco sujeito aos tratamentos curativos, o pedrado atingiu 13% dos frutos à colheita. Em 1998 a estratégia seguida foi a preventiva e o resultado foi 1,2% de incidência nos frutos à colheita. Nesse ano optou-se por fazer a cobertura total das infecções primárias com fungicida. No conjunto dos anos, finalizaram-se as aplicações na segunda quinzena de Maio, após o fim das infecções primárias. De 1998 a 2000 o último tratamento preventivo efectuado teve como alvo a estenfiliose da pereira (*Pleospora allii* (Rabenh.) Ces.) e não o pedrado.

Quadro 7 Datas de aplicação e substâncias activas fungicidas utilizadas nas estratégias de protecção ao pedrado da pereira Venturia pirina, numa parcela de 1,5 ha situada na Sobrena (Cadaval) baseadas na estimativa do risco efectuada pelo modelo de infecção do pedrado (MIP) de 1995 a 2000 (Fig. 101).

Tratamento	Protecção química					
	1995	1996	1997	1998	1999	2000
1	5 Abril propinebe	12 Abril captana	3 Abril captana + bitertanol	27 Março captana	24 Março captana	13 Março ciprodinil
2	25 Abril mancozebe + miclobutanil	23 Abril captana + penconazol	11 Abril captana + bitertanol	8 Abril captana	29 Março fluquinconazol + pirimetanil	21 Março captana
3	8 Maio mancozebe + hexaconazol	13 Maio captana + penconazol	21 Abril flusilazol	15 Abril ditianão	12 Abril captana	28 Março captana
4	19 Maio captana		7 Maio flusilazol	24 Abril captana	22 Abril fluquinconazol + pirimetanil	5 Abril fluquinconazol + pirimetanil
5			21 Maio flusilazol	7 Maio ditianão	4 Maio fluquinconazol + pirimetanil	12 Abril captana
6				4 Junho ditianão	18 Maio fluquinconazol + pirimetanil	19 Abril captana + flusilazol
7					5 Julho captana	26 Abril captana + penconazol
8						3 Maio captana + flusilazol
9						10 Maio captana + penconazol
10						17 Maio captana
11						30 Maio tirame

Discussão

Ficou provado que o sucesso da protecção a *V. pirina* dependeu da identificação correcta dos períodos de infecção. Dessincronização entre as aplicações fungicidas e a ocorrência dos períodos de infecção pode permitir o aumento da incidência nos pomares acima de 1%, o máximo de estrago aceitável pelos agricultores (155, 157). Em 1997 a ausência de fungicida durante o período de infecção de 27 de Março, após a plena floração da pereira e no pico da emissão dos ascósporos, permitiu o aparecimento de cerca de 1% de infecção nos frutos. Após essa data, quatro períodos de infecção sem realização de tratamento, em Junho, aumentaram a incidência da doença para valores de 5,1% à colheita, fazendo falhar a estratégia. Contudo, na parcela contígua sujeita a tratamentos preventivos (captana) nas mesmas datas, ocorreu mais do dobro da incidência de pedrado à colheita (13% dos frutos).

Aparentemente, a estratégia mista utilizada em 1995, 1996, 1999 e 2000, funcionou bastante bem e permitiu a redução do número de tratamentos (66,7% em 1995, 75% em 1996, 41,7% em 1999 e 8,3% em 2000) relativamente à estratégia tradicional (média de 12 tratamentos). Observou-se um padrão agregado para os períodos de infecção, sendo o mais vulgar seguirem-se-lhes novos períodos de infecção. Dos 86 períodos de infecção determinados pelo MIP (Quadro 6), somente 24,4% ocorreram de forma isolada (sem ocorrência de novos períodos de infecção nos 10 dias seguintes). Este aspecto foi importante e condicionou os resultados das estratégias de protecção, o risco de infecção e também a propensão para o aparecimento de resistência. A agregação dos períodos de infecção do pedrado favorece a utilização da estratégia mista, a qual recorre à mistura de substâncias activas de diferentes tipos de acção, permitindo manter a pressão de selecção no fungo a níveis reduzidos. Assegurou também a protecção eficaz às infecções durante um período de 10 a 12 dias, o que permitiu reduzir em média o número de aplicações fungicidas, sem aumentar o risco de infecção.

Capítulo 5 Conclusões

Análise climática

A utilização dos diferentes modelos baseou-se na recolha de dados em alta-frequência. Concluiu-se que a obtenção de quatro pontos horários foi suficiente para o conjunto de cálculos envolvidos na utilização do modelo de infecção (MIP) e dos outros módulos constituintes do sistema pericial. Menor número de dados resultaria no inferior rigor da informação disponibilizada; maior número aumentaria a precisão à custa da diminuição da velocidade de comunicação e da autonomia das estações meteorológicas, sem o correspondente rigor traduzido proporcionalmente na previsão.

Verificou-se que o período de humectação foi uma variável muito importante na previsão de doenças. Contudo, a falta de padronização nos valores medidos pelos sensores, situação diferente da observada para a temperatura, obsta à comparação directa dos diferentes resultados obtidos na investigação mundial.

Aspectos de epidemiologia do teleomorfo de *V. pirina*

A forma de hibernação privilegiada do fungo *V. pirina* no ecossistema agrário do Oeste de Portugal parece ser em pseudotecas imersas no interior de folhas, presentes na manta morta (Fig. 46). Suportou esta ideia a observação aleatória das lesões decorrentes dos primeiros ciclos de infecção, cujo número de lesões por órgão infectado se situou próximo da unidade (p. 140, Fig. 70). A rara frequência de observação de lesões nos ramos no período de 1995 a 2000, restrita a 1998 nos ramos anuais do interior da copa de árvores não pulverizadas, e a aparente ausência de gomos com escamas infectadas, nunca observada no período em estudo, também suportam esta hipótese (p. 142).

Se o inóculo hibernasse em lesões nos ramos ou em gomos, a proximidade entre a fonte de inóculo (alguns centímetros) e os tecidos susceptíveis proporcionaria o padrão agregado às lesões observadas no início da epidemia (Fig. 102).

Tal acontece, por exemplo, para o oídio da macieira (*P. leucotricha*) onde as lesões cobrem grande parte do tecido vegetal emergente de gomos infectados. Tal não foi verificado para o pedrado da pereira. Por vezes, o inóculo está afastado vários metros dos tecidos vegetais susceptíveis permitindo a dispersão na atmosfera e a infecção aleatória dos tecidos vegetais. Neste caso, o inóculo pode ter também origem em hospedeiros alternativos, talvez o caso de nespereiras (*E. japonica*), existentes muitas vezes na proximidade dos pomares. Na proximidade dos pomares em estudo não existiam nespereiras, pelo menos a 200 metros das suas bordaduras (p. 142).

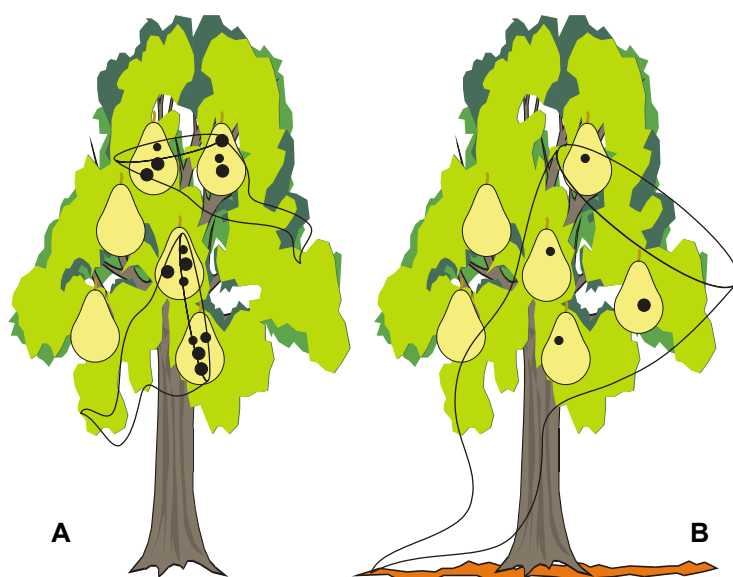


Fig. 102 Representação esquemática das duas hipóteses possíveis de hibernação do fungo *Venturia pirina* no ecossistema agrícola do Oeste. O fungo ultrapassa o período dormente do hospedeiro em lesões nos gomos ou nos ramos, na forma de micélio que evolui durante a Primavera produzindo conídios que constituem parte ou a totalidade do inóculo primário **A**. O fungo hiberna nas folhas que constituem a manta morta dos pomares durante o Inverno, ou em hospedeiros alternativos **B**. Durante o primeiro ciclo de infecção o padrão das lesões será agregado **A** ou aleatório **B**.

Ao longo dos anos do estudo a frequência das pseudotecas observada nas folhas mortas foi bastante elevada, assim como o número de ascósporos presentes na atmosfera do pomar, medido pelo capta-esporos. Nas fitas do capta-esporos só raramente foram detectados conídios de *V. pirina* e os que raramente se detectaram, foram observados fundamentalmente no fim da estação, originados provavelmente em lesões existentes em folhas ou frutos. A dispersão da doença no ecossistema agrícola do Oeste seguiu o padrão definido esquematicamente pela Fig. 103.

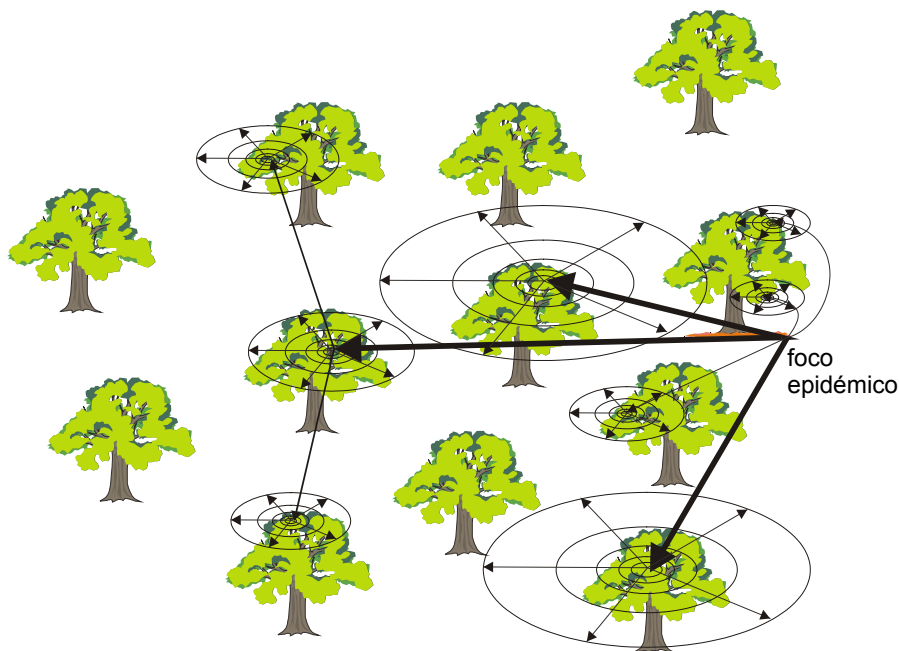


Fig. 103 Representação esquemática da hipótese mais plausível de dispersão do pedrado da pereira no interior dum pomar onde existe um foco epidêmico constituído por inóculo primário presente em folhas da manta morta. Na primeira fase o inóculo primário dispersa-se do foco epidêmico infectando algumas árvores na proximidade (linhas grossas), na segunda fase as árvores infectadas apresentam unidades infecciosas (lesões) constituídas por unidades de dispersão (conídios), responsáveis pelo aparecimento de novas unidades infecciosas no interior das árvores infectadas ou na sua vizinhança.

As pseudotecas formaram-se durante o mês seguinte à queda das folhas (p. 108) da pereira, em Dezembro e Janeiro. Elevada precipitação (média destes dois meses acima dos 100mm) e baixa temperatura (superior a 400h abaixo de 7,2°C) aumentaram o número de pseudotecas formadas no interior das folhas (Quadro 5). Num pomar sem tratamentos fungicidas, o número de pseudotecas estimado por cm² de folha na manta morta foi de 6,6 e 7,4 em 1996 e 1997, respectivamente. Num pomar comercial estimou-se a presença de 1,1 pseudotecas/ cm² de folha em 1997 (p. 120). Avaliou-se o número de pseudotecas formado por lesão fértil em 20,2± 9,3, no ano de 1997 (p. 125). Em Janeiro e Fevereiro a baixa temperatura pareceu condicionar o maior número de ascas formados no interior das pseudotecas, que variou de 84 a 206 nos anos em estudo (p.108). O número médio de ascas no interior das pseudotecas foi calculado em 142,3, baseado em três anos de estudo (p. 109).

A evolução da maturação dos ascósporos pode ser prevista pelo modelo baseado no integral térmico (acima de 0°C) observado após o aparecimento dos primeiros ascósporos maduros (p. 115).

Função 10 Ascósporos maduros $= 1 - e^{-0,00415x}$

Este modelo (Função 10) baseou-se na taxa de maturação (0,00415/ °C) utilizada por Spotts e Cervantes no Oregon (169). Cerca de 900°C foram necessários na região do Oeste para o fim da maturação dos ascósporos (p. 115). Existiu maturidade diferencial entre os ascósporos maduros (verdes pálidos e bem septados) e os ascos que os contêm (p. 123). Os dois fenómenos estiveram separados por vários dias, geralmente mais de 10 (p. 118). A maioria dos ascósporos de *V. pirina* amadureceu do princípio de Março ao fim de Abril (p. 113). Após meados de Abril foi vulgar o aparecimento de ascos com ascósporos degenerados no interior das pseudotecas (p. 117).

Normalmente, foi necessária a observação média de 20% a 30% de ascósporos maduros no interior das pseudotecas para se observar o início da emissão regular de ascósporos (p. 113, p. 118). Cada pseudoteca madura só emitiu os seus ascósporos após mais de 50% dos seus ascósporos se observarem maduros (dados da Fig. 50).

A frequência dos ascósporos emitidos pelas pseudotecas seguiu em estreita relação a frequência dos ascos vazios observados no seu interior, quando as condições climáticas foram favoráveis à emissão (p. 122). Dos dados obtidos em 1996 e 1997 para a emissão de ascósporos em placas de Petri, foi possível conceber dois modelos baseados na distribuição Normal (Função 11 e Função 12) (p. 124):

Função 11 Ascósporos emitidos 96 $= N(512,5; 252,9)$

ou

Função 12 Ascósporos emitidos 97 $= N(689,1; 316,8)$

Estes modelos dependeram do integral térmico calculado após 1 de Março (data frequente da observação dos primeiros ascósporos maduros).

Um modelo de utilização simples e prática foi obtido fazendo depender os ascósporos emitidos do número de dias observado após o início de Março (Função 13) (p. 124):

Função 13 Ascósporos emitidos = N(12Abril; 19 dias)

Na região do Oeste de Portugal observou-se a captura de ascósporos de *V. pirina* durante o fotoperíodo (90,3% a 98,0% entre as 6:00 e as 18:00), após os períodos de chuva (p. 128). No caso de longos períodos sem chuva (cerca de um mês) e na presença de forte orvalho noturno, alguns ascósporos (2,4% a 6,0% do total anual) foram capturados durante a noite ou na manhã seguinte (p. 132). As emissões noturnas de ascósporos na região do Oeste foram associadas à presença de orvalho e ausência de chuva (Fig. 65).

Os ascósporos foram capturados da atmosfera dos pomares por períodos de seis a oito semanas (p. 127). Dos registos obtidos através do capta-esporos, verificou-se ser possível obter uma relação semelhante às anteriores, baseadas no integral térmico após 1 de Março (Função 14) (p. 135):

Função 14 Ascósporos capturados = N(537,6; 150,0)

Do conjunto dos estudos concluiu-se que a maturação dos ascos e a emissão dos ascósporos de *V. pirina* seguiu, em relação ao integral térmico calculado após o aparecimento dos primeiros ascósporos maduros, a distribuição Normal, na região do Oeste de Portugal (p. 124 e p. 135).

Aspectos de natureza abiótica e biótica na evolução do patossistema

Na região do Oeste os factores climáticos influenciaram o patossistema: Invernos frios e chuvosos (Tipo 1) aceleraram a sua entrada em actividade; Invernos amenos e secos (Tipo 4) retardaram o início da sua actividade. Quando foram observados Invernos amenos e chuvosos (Tipo 2), o fungo *V. pirina* iniciou a sua actividade antes do hospedeiro; nos Invernos frios e secos (Tipo 3), o hospedeiro adiantou-se em relação ao fungo (Quadro 5). Este desfasamento pode atingir cerca de 15 dias.

A temperatura óptima para a infecção de *V. pirina* é de 20°C a 21°C (p. 153). O mínimo de oito horas foi necessário à infecção, a 20°C de temperatura (p. 152). Ascósporos e conídios infectam a pereira em condições sensivelmente semelhantes (Fig. 79). Através de dois ensaios de infecção por conídios, foi possível obter a relação entre a incidência do fungo nas folhas e o período de humectação (Função 15) (Fig. 72):

$$\text{Função 15 } \text{Incidência folhas} = \text{LogN}(2,33; 0,28)$$

Após 24 horas de humectação, a incidência nas folhas atingiu o seu máximo (Fig. 72 e Fig. 73). Aparentemente, um período de humectação superior foi necessário à expressão da máxima severidade (Fig. 74). A área média de cada lesão de pedrado variou entre 0,10cm² e 0,22cm² (p. 150). Curiosamente, o menor período de humectação correspondeu à menor área por lesão o que poderá indicar a resistência ontogénica mais efectiva, nos períodos de humectação mais curtos (Fig. 76).

Em caso de dano ou aparente incapacidade para o crescimento da extremidade do tubo germinativo, os conídios de *V. pirina* formaram novos tubos com origem no tubo germinativo antigo ou na parede do conídio (Fig. 78). Os conídios conseguiram formar tubos germinativos após três períodos de humectação de 24 horas, interrompidos por dois períodos secos de 30 minutos cada, ao fim dos quais a maioria aparentava manter a viabilidade (p. 152). Aparentemente, existe um mecanismo capaz de preservar a viabilidade dos conídios de *V. pirina* sujeitos a condições adversas para os tubos germinativos, corpos de Woronin ou outros mecanismos podem estar envolvidos neste processo (p. 155).

Foi possível obter um modelo de infecção do pedrado da pereira (MIP) baseado na temperatura, período de humectação e intensidade inicial da doença. As constantes do modelo dependem da temperatura óptima ($T_o=21^\circ\text{C}$), do período mediano de humectação ($\tilde{m}_{T_o}=15\text{h}$ a 20°C), do coeficiente de compensação térmica ($k=0,23/^\circ\text{C}$) e da intensidade inicial da doença ($I_0=1\%$ de frutos infectados) (Fig. 79). Baseado na estimativa deste modelo, foi possível simular as epidemias de pedrado, de 1996 a 2000, determinando o número de períodos de infecção ocorridos em cada ano. O número de períodos de infecção determinado pelo MIP variou de oito em 1996 a 21

em 1998 e 2000 (Quadro 6 e Anexo 4). O MIP simulou a curva das epidemias naturais de *V. pirina* com bastante realismo. No ecossistema, as curvas das epidemias de *V. pirina* foram condicionadas pela presença de períodos de infecção. A observação de períodos com elevada infecção potencial modificou localmente a forma das curvas epidêmicas (p. 172).

As epidemias de *V. pirina* atingiram 65,1% a 100% dos frutos, ao longo dos cinco anos do estudo (p. 163). O número de lesões por fruto infectado variou entre 15,0 a 44,6 no final da estação. Nesta altura, as lesões eventualmente coalesceram, diminuindo o seu número aparente (p. 163).

A incidência de *V. pirina* nas folhas da pereira atingiu o máximo de 29,7% em plântulas de pereira (Fig. 72), 87,0% em pereiras envasadas (Fig. 73) e 89,2% numa parcela em condições naturais em 1998 (Fig. 86). A severidade máxima medida através da fracção infectada observada nas folhas, foi de 11,5% nas folhas das jovens pereiras envasadas sujeitas a períodos de 24h de humectação (Fig. 74) e 2,7% no fim da Primavera nas folhas expostas a infecções naturais (Fig. 87). O número máximo de lesões de pedrado por folha infectada foi de 9,3 e 5,8 nos ensaios de inoculação por conídios e em condições naturais, respectivamente (Fig. 75 e Fig. 88).

Várias relações incidência– severidade foram obtidas. A incidência de pedrado nos frutos ou folhas relacionou-se com o número de lesões por órgão infectado através da expressão (Função 16) (Fig. 96):

Função 16 $\text{Incidência} = 1 - e^{-ax}$, a = parâmetro; x = número de lesões por órgão infectado

O parâmetro a variou, nos frutos, de 0,046 /lesão em 1996 a 0,140 /lesão em 1997 (p. 166). Nas folhas, a incidência relacionou-se pela mesma expressão com o número de lesões por folha, todavia, o valor do parâmetro a encontrado foi mais elevado, variando de 0,162 /lesão nas inoculações artificiais em jovens pereiras, a 0,384 /lesão em condições naturais (p. 172).

Existe estreita relação entre a incidência de *V. pirina* nos frutos e a incidência nos corimbos de origem. Agrupando os dados de quatro anos, foi possível obter a relação

conjunta, útil para a aplicação prática na estimativa da incidência ou da severidade do pedrado da pereira (Função 17) (Fig. 95):

Função 17 $\text{Incidência corimbo} = 1 - e^{-0,095x}$, $x = \text{número de lesões por fruto infectado}$

A expressão obtida pode ser utilizada na estimativa do número de lesões nos frutos, com base no conhecimento da incidência de pedrado nos corimbo e vice-versa.

No final da estação foram observados conidióforos e conídios de *V. pirina*, reunidos em pequenos tufo, presentes em folhas sem sintomas macroscópicos de pedrado. Neste tipo de infecção difusa o fungo cresceu no limbo ou nas nervuras das folhas sem provocar a necrose dos tecidos vegetais. Este tipo de infecção distingue-se das infecções discretas de *V. pirina*, que ocorre normalmente durante a Primavera, onde existe a necrose associada às lesões esporulantes (Fig. 98).

Aspectos de protecção de *V. pirina*

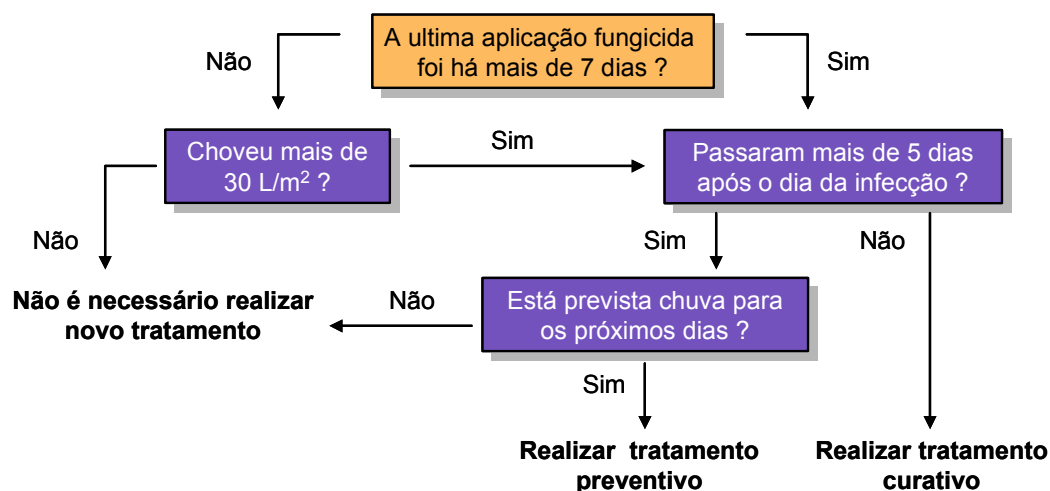


Fig. 104 Diagrama de tomada de decisão na protecção do pedrado da pereira baseado em factores de natureza abiótica, pressupondo a existência de hospedeiros susceptíveis e a presença no ecossistema agrário dos esporos de *Venturia pirina*.

Com base na determinação dos períodos de infecção pelo MIP, definiram-se as quinzenas com maior probabilidade de ocorrência de infecção. Abril e Maio foram os meses com elevada probabilidade de infecção, Março e Julho apresentaram média probabilidade e Junho e Agosto baixa probabilidade (Fig. 100).

Na Fig. 104 pode-se observar uma chave de tomada de decisão, baseada na protecção química, face aos condicionalismos climáticos a observar.

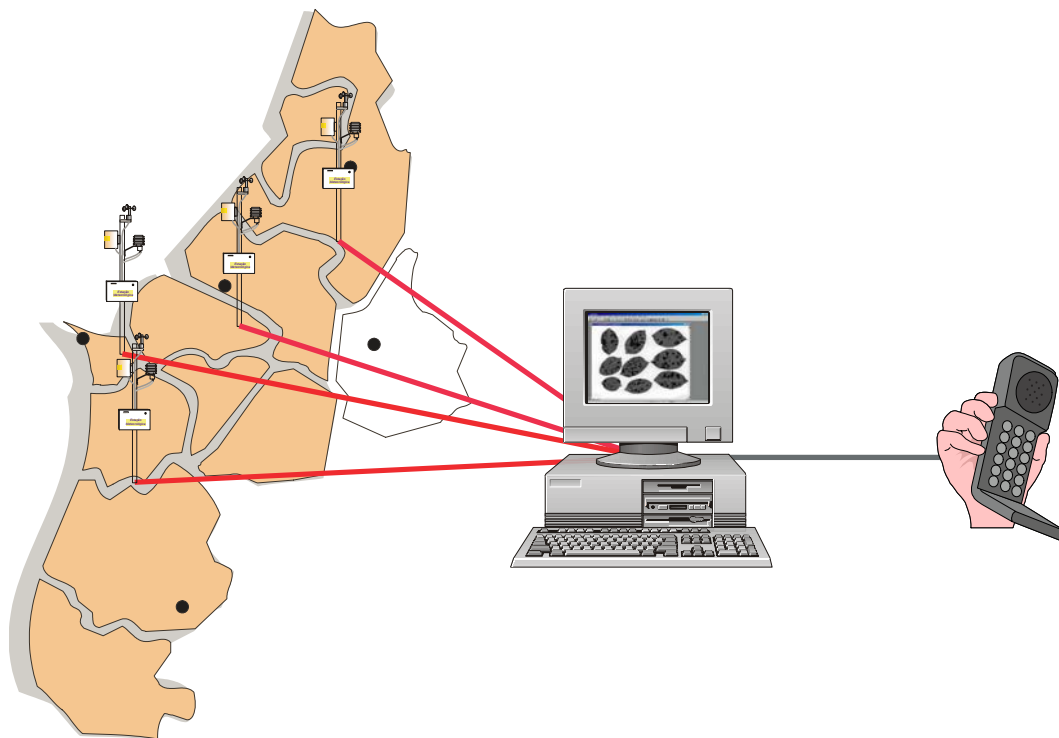


Fig. 105 Sistema de análise e informação para o pedrado da pereira (Venturia pirina) na região do Oeste. Baseado em estações meteorológicas ligadas em rede por modem ao servidor central, dotado de sistema de recolha automática de informação climática actualizável quatro vezes por hora. O servidor incorpora o sistema pericial de tomada de decisão (JusClem) com capacidade de gerar e enviar mensagens escritas para telefones móveis segundo o padrão climático detectado pelas estações meteorológicas e os dados biológicos introduzidos das observações de campo.

Quanto às estratégias de protecção química, observou-se o padrão agregado dos períodos de infecção durante a estação (75,6% dos eventos) (p. 181). Deste modo, a estratégia mista pareceu ser a mais aconselhada na região do Oeste de Portugal (p. 181). Esta estratégia permitiu diminuir o número de tratamentos e evitar o aparecimento de resistência do *V. pirina* aos fungicidas (p. 181). Durante os seis anos do estudo, a estratégia de protecção química ao pedrado da pereira baseou-se em três a 11 tratamentos (média 6) (Fig. 101), em oposição aos 10 a 15 tradicionais (média de 12) (p.82). Após o fim das infecções primárias, os tratamentos foram normalmente descontinuados (Fig. 101), por ausência de lesões nos frutos ou nas folhas das árvores, ou quando a incidência nos frutos foi inferior a 1%. A incidência à colheita

de *V. pirina* nos frutos variou de 0,2% a 5,1% (p. 179). Na estratégia mista o valor variou de 0,2% a 1,1% (p. 179).

Modelo SIM

Estação Meteorológica: **Sobrena**

Período de Avaliação

Data Inicial: **01/Mar/1997**

Data Final: **03/Ago/1997**

Parâmetros

Temp. Média: **21**

Hum. Média: **15**

K: **0,23** S: **0,23**

Percent. Crítica: **0,01**

Limites de Humectação

Superior (%): **87**

Inferior (%): **1,41**

BioFix

Epid. Inicial: **0,01**

Avaliar

Sair

Início do Período	Fim do Período	Duração	Temp. Média	Infeção Total	Evolução da Epidemia
20:15 26/03/1997	09:00 27/03/1997	12:45	9,48	0,0105053	0,0205991
19:30 01/04/1997	09:45 02/04/1997	14:15	11,89	0,0213994	0,0362173
21:00 16/04/1997	09:45 17/04/1997	12:45	10,23	0,010662	0,0589582
19:00 17/04/1997	08:45 18/04/1997	13:45	13,44	0,0110591	0,0720122
14:30 18/04/1997	08:45 19/04/1997	18:15	15,06	0,094259	0,2440479
23:45 23/04/1997	12:00 24/04/1997	12:15	9,98	0,0110236	0,2723309
16:45 24/04/1997	08:45 25/04/1997	16:00	13,07	0,0202385	0,3209259
22:30 03/05/1997	10:00 04/05/1997	11:30	15,15	0,0121014	0,3775806
18:30 04/05/1997	10:30 05/05/1997	16:00	16,06	0,0673606	0,5376897
14:45 15/05/1997	08:15 16/05/1997	17:30	13,78	0,0557365	0,6561447
21:15 17/05/1997	09:45 18/05/1997	12:30	15,28	0,0206483	0,6929582
02:00 23/05/1997	15:30 23/05/1997	13:30	15,92	0,0318383	0,7575599
17:15 24/05/1997	08:45 25/05/1997	15:30	15,46	0,0526314	0,8229229
00:30 01/06/1997	15:30 01/06/1997	15:00	15,28	0,0555849	0,88027
19:45 04/06/1997	08:15 05/06/1997	12:30	15,75	0,0218495	0,896791
20:15 05/06/1997	08:15 06/06/1997	12:00	18,41	0,0212901	0,9099008
21:00 09/06/1997	10:45 10/06/1997	13:45	17,7	0,0464286	0,9350524
19:45 01/07/1997	08:15 02/07/1997	12:30	14,33	0,0116413	0,9432362
18:15 14/07/1997	08:45 15/07/1997	14:30	17,84	0,0574075	0,9617182
21:30 15/07/1997	13:30 16/07/1997	16:00	18,04	0,0839298	0,9780977

A

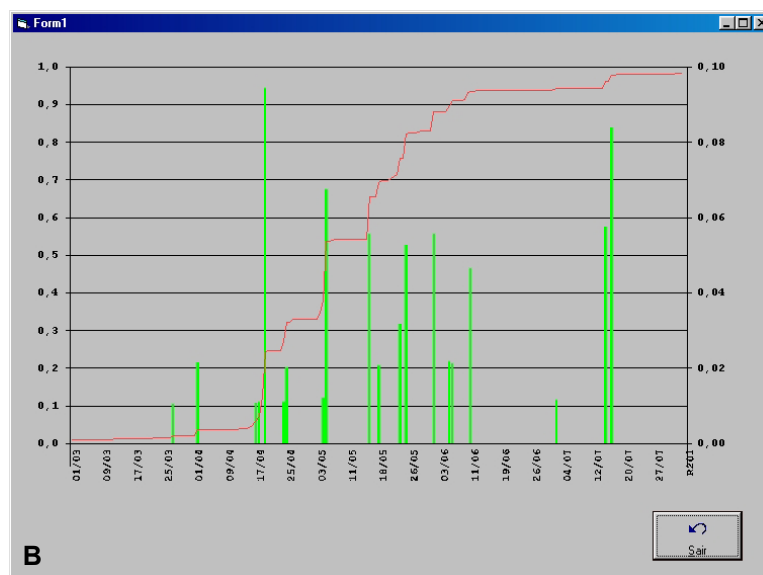


Fig. 106 Menus do JusClem evidenciando os diferentes períodos de infecção determinados em 1997 para a Sobrena **A**. Aspecto gráfico da curva epidêmica e do valor da infecção potencial de *Venturia pirina* nos frutos **B**.

As diferentes estratégias permitiram concluir que, na maioria dos anos, o primeiro tratamento tradicional, baseado no fungicida cúprico até à ponta verde (estado C, normalmente, primeira quinzena de Março), é ineficaz para o pedrado, podendo ser

eliminado com segurança da sequência de tratamentos (Fig. 101). Evita-se deste modo a contaminação do solo e da água pelo metal pesado, o cobre.

A utilização de sistemas periciais capazes de reunir todo o conhecimento actual sobre o assunto assume elevada importância, por sistematizar o conhecimento, permitindo a percepção de novas realidades (194, 195, 209).

O sistema pericial desenvolvido permitiu a redução do número de tratamentos até 80% do sistema tradicional (p. 81, Fig. 101, Quadro 7). Na Fig. 105 e Fig. 106 está esquematizado o sistema pericial (JusClem) desenvolvido para a protecção ao pedrado da pereira na região do Oeste de Portugal, baseado no conhecimento obtido ao longo deste estudo.

Capítulo 6 Novas questões em aberto

Pela análise global do actual conhecimento, sobressaem várias questões ainda em aberto. Abordam-se aqui algumas, aparentemente, as mais pertinentes.

A padronização das condições medidas através dos sensores de humectação é uma das mais relevantes para a comparação entre estudos. Outra questão refere-se à possibilidade ou não de *V. pirina* infectar a nespereira, ou do seu inóculo se manter viável por vários dias no seio dos pomares, como é bastante provável.

A influência do fotoperíodo na sincronização temporal da maturação ou da emissão dos ascósporos poderá ser também o tema estimulante.

Talvez a maior questão em aberto esteja no caminho da agricultura para a sustentabilidade e a sua conciliação com uma população humana em contínua expansão. Alguns passos têm vindo a ser realizados, resta aos mesmos serem aceites e difundidos pela comunidade científica, gerando o bem-estar da restante população.

Glossário

Abiótico	Sem vida; referente ao ambiente.
Anamorfo	Estado vegetativo, assexual ou imperfeito do fungo.
Anterídio	Órgão sexual masculino, presente em certos fungos.
<i>Apressorium</i>	(pl. <i>Apressoria</i>). Extremidade alargada da hifa ou do tubo germinativo que facilita a fixação e a penetração do fungo no hospedeiro.
Asco bitunicado	Asco com parede grossa, por vezes separável em parede interna e externa.
Asco	Hifa em forma de saco na qual, por meiose, se originam os ascósporos.
Ascocarpo	Estrutura de frutificação dos <i>Ascomycota</i> que produz ou contém os ascos.
Ascoestroma	Tipo de ascocarpo ou estrutura reprodutiva de certos <i>Ascomycota</i> onde são produzidos os ascos em cavidades designadas lóculos.
Ascogónio	Órgão sexual feminino dos <i>Ascomycota</i> .
<i>Ascomycota</i>	Grupo de fungos com esporos sexuados dentro de ascos.
Ascósporo	Esporo aéreo produzido num asco.
Assexual	Reprodução sem meiose ou união de gâmetas.
Biótico	Com vida; referente às actividades biológicas.
Conídio	Esporo assexual do fungo formado na extremidade de um conidióforo.
Conidióforo	Hifa especializada onde um ou mais conídios são produzidos.
Corpo de Woronin	Corpo esférico presente nos <i>Ascomycota</i> , localizado geralmente perto dos septos.
Cutícula	Camada fina exterior às células da epiderme, constituída basicamente por ceras e cutina.
Doença	Desvio do normal funcionamento dos processos fisiológicos, com duração suficiente para alterar ou bloquear processos vitais.
Epidemia	Aumento da doença infecciosa no tempo e no espaço, no seio da população.
Epidemiologia	Estudo dos factores condicionantes do aparecimento e da dispersão das doenças infecciosas.
Estroma	Estrutura micelial compacta sobre ou na qual as estruturas de frutificação se formam normalmente.
Fungicida	Substância tóxica para fungos.
Fungo heterotático	Fungo com gâmetas femininos e masculinos, só compatíveis para indivíduos fisiologicamente distintos.
Hialino	Transparente, translúcido.
Hifa	Filamento tubular.
Hospedeiro	Indivíduo que aceita o parasita.
Infecção	Estabelecimento da relação patogénica com o indivíduo hospedeiro.
Inóculo	Agente patogénico ou sua fracção que origina a infecção.
Infecção primária	Originária do inóculo hibernante.
Infecção secundária	Originária do inóculo formado na fase vegetativa do hospedeiro.
Micélio	Hifa ou conjunto de hifas que forma a estrutura do fungo.

Parasita	Organismo que vive à custa de outros, geralmente invadindo ou causando a doença.
Patossistema	Segmento da realidade onde numa comunidade ou bioma uma população do parasita e a(s) do(s) seu(s) hospedeiro(s) se influenciam mutuamente, condicionando a sua evolução.
Período de infecção	Intervalo no qual o fungo estabelece a relação patogénica.
Período latente	Lapso de tempo da inoculação à produção de novas unidades de dispersão do fungo, no hospedeiro susceptível.
Pseudoparáfise	Rede estéril e septada, que liga o topo à base do ascoestroma.
Pseudoteca	Ascocarpo pertencente aos lóculoascomicetas. Sinónimo de ascoestroma unilocular.
Raça	Subgrupo dentro da espécie, caracterizado por possuir uma ou poucas características diferenciadoras.
Resistência ontogénica	Resistência exibida pelos tecidos vegetais adultos, devido a factores bioquímicos inibidores da colonização do fungo.
Seta	(pl. <i>setae</i>). Cerda eriçada.
Sistema	Segmento bem definido da realidade englobando as variáveis, as condições iniciais, as taxas de mudança e as restrições a obedecer.
Sistema pericial	Programa de computador, baseado num conjunto lato de conhecimento, que realiza tarefas complexas confiadas a especialistas.
Teleomorfo	Estado sexual ou perfeito do fungo.
Tricogénio	Hifa receptiva do ascogónio que se funde com a célula masculina, por vezes longa e com forma de cabelo.
Tubo germinativo	Hifa emergente do esporo germinado.

Referências bibliográficas

1. Aderhold, R. 1896. Die Fusicladien unserer obstbäume. I. Teil. Lanw. Jahrb. 25:875-914.
2. Agrios, G. N. 1997. Plant Pathology. 4th ed., Acad. Press, San Diego. 635p.
3. Alexopoulos, C. J., Mins, C. W. e Blackwell, M. 1996. Introductory Mycology. 4th ed., Wiley and Sons, Inc., New York. 869p.
4. Amaro, P. 1993. A evolução das pragas e doenças da macieira e pereira em Portugal. Revta. Ciênc. Agra. 16 (1-2-3): 282-300.
5. Anagnostakis, S. L., e Aylor, D. E. 1991. Efficiency of ascospores of *Venturia inaequalis* in producing scab lesions on apple leaves. Plant Dis. 75: 918-920.
6. Andrews, J. H., Berbee, F. M., e Nordheim, E. V. 1982. Microbial antagonism to the imperfect stage of the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*. Phytopathology 73: 228-234.
7. Anon. 1982. *Venturia pirina* Aderh. on pear. CMI distribution Map n° 367, 3rd Ed.
8. Aylor, D. E. 1990. The role of intermittent wind in the dispersal of fungal pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 28: 73-92.
9. Aylor, D. E. 1993. Relative collection efficiency of rotorod and burkard spore samplers for airborne *Venturia inaequalis* ascospores. Phytopathology 83: 1116-1119.
10. Aylor, D. E. 1995. Vertical variation of aerial concentration of *Venturia inaequalis* ascospores in an apple orchard. Phytopathology 85: 175-181.
11. Aylor, D. E. 1996. Comparison of seasonal pattern of airborne *Venturia inaequalis* ascospores with the release potential of *V. inaequalis* ascospores from a source. Phytopathology 86: 769-776.
12. Aylor, D. E., e Anagnostakis, S. L. 1991. Active discharge distance of ascospores of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 81: 548-551.
13. Aylor, D. E., e Sanogo, S. 1997. Germinability of *Venturia inaequalis* conidia exposed to sunlight. Phytopathology 87: 628-633.
14. Aylor, D. E., e Sutton, T. B. 1992. Release of *Venturia inaequalis* ascospores during unsteady rain: Relationship to spore transport and deposition. Phytopathology 82: 532-540.
15. Baltovski, B. 1973. Suzbijanje *Venturia pirina* Aderhold upotrebom eradikativnih i protektivnih fungicida. Jugoslovensko Vocarstvo. 7: 37-40.
16. Bearden, B. E., Moller W. J., e Reil, W. O. 1976. Monitoring pear scab in Mendocino country. Calif. Agric. 30: 16-19.

-
17. Becker, C. M., Burr, T. J., e Smith C. A. 1992. Overwintering of conidia of *Venturia inaequalis* in apple buds in New York orchards. Plant Dis. 76: 121-126.
 18. Becker, C. M., e Burr, T. J. 1994. Discontinuous wetting and survival of conidia of *Venturia inaequalis* on apple leaves. Phytopathology 84: 372-378.
 19. BenYephet, Y. 1977. Sporulation of *Venturia pirina* on growth media. Phytoparasitica 5: 109-113.
 20. Beresford, R. M. 1999. Validation of an ascospore release prediction model for apple black spot (*Venturia inaequalis*). Proc. 52nd N. Z. Plant Protection Conf. 148-152. <http://www.hortnet.co.nz>
 21. Beresford, R. M., e Spink, M. 1992. A national disease forecasting system for apple blackspot (*Venturia inaequalis*) in New Zealand. Acta Hort. 313: 285-296.
 22. Beresford, R. M., Horner, I. J., e Wood, P. N. 2000. Autumn-applied urea and other compounds to suppress *Venturia inaequalis* ascospore production. N. Z. Plant Protection 53: 387-392. <http://www.hortnet.co.nz>
 23. Beresford, R., H. Pak, Brown, G., Follas, G., e Hagerty G. 1999. Strategies to avoid resistance development to strobilurin fungicides in New Zealand. Proc. 52nd N. Z. Plant Protection Conf. 179-181. <http://www.hortnet.co.nz>
 24. Beresford, R., H. Pak, Manktelow, D., Follas, G., e Hagerty G. 1999. Strategies to avoid resistance development to anilopyrimidine fungicides in New Zealand. Proc. 52nd N. Z. Plant Protection Conf. 176-178. <http://www.hortnet.co.nz>
 25. Biggs, A. R. 1991. Apple scab. In: Compendium of Apple and Pear Diseases. A. L. Jones e H. S. Aldwinckle, eds. APS Press, St Paul, MN: 6-9.
 26. Biggs, A. R., e Warner, J. 1990. Full-season and post-harvest applications of sterol-inhibiting fungicides to reduce ascospore formation in *Venturia inaequalis*. Phytoprotection 71: 9-15.
 27. Borecki, Z. 1957. Perithecial stage of *Venturia pirina* during winter and spring in field conditions. Acta Agrobot. 6: 108-116.
 28. Boric, B. 1985. Uticaj temperature na kljavost spora *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter i uticaj starosti na njihovu vitalnost. Zast. Bilja 36: 295-302.
 29. Boudreau, M. A., e Andrews, J. H. 1987. Factors influencing antagonism of *Chaetomium globosum* to *Venturia inaequalis*: A case study in failed biocontrol. Phytopathology 77: 1470-1475.
 30. Brook, P. J. 1969. Effects of light, temperature, and moisture on release of ascospores by *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. N. Z. J. Agric. Res. 12: 214-227.
 31. Brook, P. J. 1969. Stimulation of ascospore release in *Venturia inaequalis* by far red light. Nature 222: 390-392.
-

-
32. Brook, P. J. 1975. Effect of light on ascospore discharge by five fungi with bitunicate asci. *New Phytol.* 74: 85-92.
 33. Burchill, R. T. 1968. Field and laboratory studies of the effect of urea on ascospore production of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. *Ann. Appl. Biol.* 62: 297-307.
 34. Carreno, I., e Torres, A. P. 1982. Efecto de las pulverizaciones otoñales de urea en la reducción del inóculo primario de *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., en manzanos de la zona de Curicó, Chile. *Agric. Tec.* 42: 235-238.
 35. Chevalier, M., Lespinasse, Y., e Renaudin, S. 1991. A microscopic study of different classes of symptoms coded by the Vf gene in apple for resistance to scab (*Venturia inaequalis*). *Plant Path.* 40: 249-256.
 36. Cook, M. C. 1904. Apple and pear scab. *J. Royal Hortic. Soc.* 29: 91-92.
 37. Cruz, R. X. 1973. Algumas observações sobre a biologia do pedrado das pomóideas. *Gaz. Aldeias* 2731: 216-221.
 38. Cruz, R. X., Matias, H., e Chichorro, J. M. 1990. Prevision et avertissements pour combattre les ennemis des vergers de poirier. *Bull. OILB/SROP* 13(2): 149-152.
 39. Cullen, D., Berbee, F. M., e Andrews, J. H. 1984. *Chaetomium globosum* antagonizes the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*, under field conditions. *Can J. Bot.* 62: 1814-1818.
 40. Cullen, D., e Andrews, J. H. 1984. Evidence for the role of antibiosis in the antagonism of *Chaetomium globosum* to the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*. *Can. J. Bot.* 62: 1819-1823.
 41. Curtis, K. M. 1922. Ascospore ejection of the apple and pear black-spot fungi. *N. Z. J. Sci. Technol.* 5: 83-90.
 42. Dagnelis, P. 1973. Estatística teoria e métodos – I. 2nd ed., Europa-América, Mem Martins. 440p.
 43. Darpaux, H., Lebrun, A. e Tullaye, B. 1975. Action de traitements sur la formation des peritheces et la production de l'inoculum primaire de *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. et de *Venturia pirina* Aderh. *Phytiatrie Phytopharmacie* 24: 3-14.
 44. Doucet, P., e Sloep, P. B. 1992. Mathematical modeling in the life sciences. Ellis Horwood, New York. 490p.
 45. Duthie, J. A. 1997. Models of the response of foliar parasites to the combined effects of temperature and duration of wetness. *Phytopathology* 87: 1088-1095.
 46. Francl, L. J., e Neher, D. A. 1997. Exercises in Plant disease epidemiology. APS Press, St. Paul MN. 233p.
-

-
47. Gadoury, D. M., e MacHardy, W. E. 1982. A model to estimate the maturity of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 72: 901-904.
 48. Gadoury, D. M., e MacHardy, W. E. 1982. Effects of temperature on the development of pseudothecia of *Venturia inaequalis*. *Plant Dis.* 66: 464-468.
 49. Gadoury, D. M., e MacHardy, W. E. 1982. Preparation and interpretation of squash mounts of pseudothecia of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 72: 92-95.
 50. Gadoury, D. M., e MacHardy, W. E. 1985. Negative geotropism in *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 75: 856-859.
 51. Gadoury, D. M., e MacHardy, W. E. 1986. Forecasting ascospore dose of *Venturia inaequalis* in commercial apple orchards. *Phytopathology* 76: 112-118.
 52. Gadoury, D. M., MacHardy, W. E., e Hu, C. 1984. Effects of temperature during ascus formation and frequency of ascospore discharge on pseudothecial development of *Venturia inaequalis*. *Plant Dis.* 68: 223-225.
 53. Gadoury, D. M., MacHardy, W.E., e Rosenberger, D.A. 1989. Integration of pesticide application schedules for disease and insect control in apple orchards of the northeastern United States. *Plant Dis.* 73: 98-105.
 54. Gadoury, D. M., Rosenberger, D. A., e Barnard, J. 1992. Variation and error in estimates of ascospore maturity and discharge derived from examination of crushed pseudothecia of *Venturia inaequalis*. *Plant Dis.* 76: 717-720.
 55. Gadoury, D. M., Seem, R. C., e Rosenberger, D. A. 1992. Disparity between morphological maturity of ascospores and physiological maturity of asci in *Venturia inaequalis*. *Plant Dis.* 76: 277-282.
 56. Gadoury, D. M., Stensvand, A., e Seem, R. C. 1996. A wind tunnel for controlled-environment studies of ascospore release by *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 86: 596-601.
 57. Gottwald, T. R., Triocine, T. M. e Timmer, L. W. 1997. A computer-controlled environmental chamber for the study of aerial fungal spore release. *Phytopathology*. 87: 1078-1084.
 58. Hartman, J. R., Parisi, L., and Bautrais, P. 1999. Effect of leaf wetness duration, temperature, and conidial inoculum dose on apple scab infections. *Plant Dis.* 83: 531-534.
 59. Hau, B. 1990. Analytic models of plant disease in a changing environment. *Ann. Rev. Phytopath.* 28: 221-245.
 60. Herman, J. 1933. Control of back spot or scab of pears in Western Australia. *J. Agric. West. Aust.* 10: 292-316.
 61. Heye, C. C., e Andrews, J. H. 1983. Antagonism of *Athelia bombacina* and *Chaetomium globosum* to the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 73: 650-654.

-
62. Hickey, K. D., e Yoder K. S. 1991. Powdery mildew. In: Compendium of Apple and Pear Diseases. A. L. Jones e H. S. Aldwinckle, eds. APS Press, St Paul, MN: 9-10.
 63. Hirst, J. M. 1952. An automatic volumetric spore trap. Ann. Appl. Biol. 39: 257-265.
 64. Hirst, J. M., e Stedman, O. J. 1961. The epidemiology of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) I. - Frequency of airborne spores in orchards. Ann. Appl. Biol. 49: 290-305.
 65. Hirst, J. M., e Stedman, O. J. 1962. The epidemiology of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) II. - Observations on the liberation of ascospores. Ann. Appl. Biol. 50: 525-550.
 66. Hirst, J. M., e Stedman, O. J. 1962. The epidemiology of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. III - The supply of ascospores. Ann. Appl. Biol. 50: 551-567.
 67. Huber, L. 1992. Modeling leaf wetness in relation to plant disease epidemiology. Ann. Rev. Phytopath. 30: 553-577.
 68. Ishii, H. 1992. Fungicide resistance of pear scab fungus in Japan. Acta Phytopath. Entomol. Hung. 27: 289-292.
 69. Ishii, H., e Yanase, H. 2000. *Venturia nashicola*, the scab fungus of Japanese and Chinese pears: a species distinct from *V. pirina*. Mycol. Res. 104: 755-759.
 70. Ishii, H., Watanabe, H. e Tanabe, K. 1997. Physiological races of *Venturia nashicola* on pears. OILB/SROP Bull. 20: 130-133.
 71. James, J. R., e Sutton, T. B. 1982. Environmental factors influencing pseudothecial development and ascospore maturation of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 72: 1073-1080.
 72. Jeger, M. J., e Butt, D. J. 1983. Overwintering of *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, in relation to weather. Ann. Appl. Biol. 103: 201-218.
 73. Jeger, M. J., Swait, A. J. e Butt, D. J. 1982. Overwintering of *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, on different cultivars. Ann. Appl. Biol. 100: 91-98.
 74. Jia, X. Y. e Jia X. Y. 1997. Investigation on factors affecting the occurrence of pear scab. China Fruits. 1: 45-46.
 75. Jones, A. L. 1981. Fungicide resistance: Past experience with benomyl and dodine and future concerns with sterol inhibitors. Plant Dis. 65: 990-992.
 76. Kable, P. F., e Jeffery, H. 1980. Selection for tolerance in organisms exposed to sprays of biocide mixtures: a theoretical model. Phytopathology 70: 8-12.

-
77. Karova, V. e Panov, V. 1974. The effect of certain chemicals on primary sources of pear scab infections. *Rastitelna Zashchita* 22: 31-34.
 78. Keitt, G. W. 1927. Studies of apple and cherry leaf spot infection under controlled conditions. *Phytopathology* 17: 45.
 79. Keitt, G. W., e Jones, L. K. 1926. Studies of the epidemiology and control of apple scab. *Wis. Agric. Exp. Sta. Res. Bull.* 73. 104p.
 80. Khokhryakova, T. M. 1980. Znachenie arealov dlya taksonomii gribov – vzbuditelei zabolevanii plodovykh kul'tur. *Novosti.Sistematiki Nizshikh Rastenii.* 17: 86-100.
 81. Kienholdz, J. R., e Childs, L. 1937. Twing lesions as a source of early spring infection by the pear scab organism. *J. Agric. Res.* 55: 667-681.
 82. Kienholz, J. R., e Childs, L. 1951. Pear scab in Oregon. *Oreg. Agric. Exp. Sta. Tech. Bull.* 21. 31p.
 83. Koenraadt, H., e Jones, A. L. 1992. The use of allele-specific oligonucleotide probes to characterize resistance to benomyl in field strains of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 82: 1354-1358.
 84. Koenraadt, H., Somerville, S. C., e Jones, A. L. 1992. Characterization of mutations in the beta-tubulin gene of benomyl-resistance field strains of *Venturia inaequalis* other plant pathogenic fungi. *Phytopathology* 82: 1348-1354.
 85. Koller, W., Parker, D. M., e Becker, C. M. 1991. Role of cutinase in the penetration of apple leaves by *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 81: 1375-1379.
 86. Lacey, J. 1996. Spore dispersal – its role in ecology and disease. *The British contribution to fungal aerobiology. Mycol. Res.* 100: 641-660.
 87. Lagarde, M. P. 1988. Les fongicides en arboriculture fruitière: les IBE. *Arboric. Fruit.* 35: 32-35.
 88. Lalancette, N., Hickey, K. D., e Cole, H., Jr 1987. Effects of mixtures of benomyl and mancozeb on buildup of benomyl-resistant *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 77: 86-91.
 89. Langford, M. H., e Keitt, G. W. 1942. Heterothalism and variability in *Venturia pirina*. *Phytopathology* 32: 357-369.
 90. Latorre, B. A., e Marín, G. 1982. Effect of bitertanol, fenarimol, and urea as fall treatments on *Venturia pirina* ascospore production. *Plant Dis.* 66: 585-586.
 91. Latorre, B. A., Yanez, P., e Rauld, E. 1985. Factors affecting release of ascospores by the pear scab fungus (*Venturia pirina*). *Plant Dis.* 69: 213-216.
 92. Lau, Y. F., Gleason, M. L., Zriba, N., Taylor, S. E., e Hinz, P. N. 2000. Effects of coating, deployment angle, and compass orientation on

-
- performance of electronic wetness sensors during dew periods. *Plant Dis.* 84: 192-197.
93. Lewis, F. H. 1976. Dr. Mills and his system of predicting apple scab infection. In: *Proc. Apple Pear Scab Workshop*. Kansas City, MO, 1976. A. L. Jones e J. D. Gilpatrick Eds. N. Y. Exp. Sta. Spec. Rep. 28: 37-38.
 94. Lewis, F. H. 1980. Control of deciduous tree fruit diseases: A success story. *Plant Dis.* 64: 259-263.
 95. Louw, A. J. 1951. Studies of the influence of environmental factors on the overwintering and epiphytology of apple scab *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. In the winter-rainfall area of the Cape Province. *S. Afr. Dep. Agric. For. Sci. Bull.* 310. 48p.
 96. MacHardy, W. E. 1990. Research needs for improving apple scab warning systems. *Bull. OILB/SROP* 12 (6): 2-12.
 97. MacHardy, W. E. 1996. *Apple scab Biology, Epidemiology, and Management*. APS Press, St. Paul MN. 545p.
 98. MacHardy, W. E., e Gadoury, D. M. 1984. Forecasting the seasonal maturation of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 75: 381-385.
 99. MacHardy, W. E., e Gadoury, D. M. 1986. Patterns of ascospore discharge by *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 76: 985-990.
 100. MacHardy, W. E., e Gadoury, D. M. 1989. A revision of Mills's criteria for predicting apple scab infection periods. *Phytopathology* 79: 304-310.
 101. MacHardy, W. E., Gadoury, D. M., e Rosenberger, D. A. 1993. Delaying the onset of fungicide programs for control of apple scab in orchards with low potential ascospore dose of *Venturia inaequalis*. *Plant Dis.* 77: 372-375.
 102. Margraf, K., Hoffmann, I. E Koberstein, S. 1972. Harnstoff-Blattfallspritzungen gegen Obstschorferreger. *Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutzdienst in der DDR.* 26: 255-256.
 103. Marsh, R. W. 1933. Observations on pear scab. *J. Pomol. Hortic. Sci.* 11: 101-112.
 104. McAlpine, D. 1902. The fungus causing black spot of the apple and pear. *Victoria Agric. Dep. J.* 2: 703-708.
 105. McGee, D. C., e Zuck, M. G. 1981. Competition between benomyl-resistant and sensitive strains of *Venturia inaequalis* on apple seedlings. *Phytopathology* 71: 529-532.
 106. Miller, P. M., e Waggoner, P. E. 1958. Dissemination of *Venturia inaequalis* ascospores. *Phytopathology* 48: 416-419.
 107. Mills, W. D., e Laplante, A. A. 1951. *Diseases and insects in the orchard*. Cornell Ext. Bull. 711, rev. 1951.

-
108. Moller, W. J. 1980. Effect of apple cultivar on *Venturia inaequalis* ascospore emission in California. Plant Dis. 64: 930-931.
 109. Montealegre, J. R. A., e Auger, J. S. 1987. Inoculo de *Venturia pirina* Aderh. en los huertos de la region metropolitana de Chile. Agro Sur 15: 94-99.
 110. Montgomery, D. C. 1991. Design and analysis of experiments. 3rd ed., Wiley e Sons, New York. 649p.
 111. Moore, M. H. 1964. Glasshouse experiments on apple scab. Ann. Appl. Biol. 53: 423-435.
 112. Muller, M. W. e Ishii, H. 1997. Esterase activity from *Venturia nashicola*: histochemical detection and supposed involvement in the pathogenesis of scab on Japanese pear. J. Phytopathology. 145: 473-477.
 113. Nowacka, H., Cimanowski, J., e Jadwiga, D. 1991. Effectiveness of EBI systemic fungicides and their mixtures in the control of apple scab. Fruit Sci. Rep. 18: 173-183.
 114. O'Leary, A. L., Jones, A. L., e Ehret, G. R. 1987. Application rates and spray intervals for apple scab control with fluzilazol and pyrifenoxy. Plant Dis. 71: 623-626.
 115. O'Leary, A. L., e Sutton, T. B. 1986. Effects of postinfection applications of ergosterol biosynthesis-inhibiting fungicides on lesion formation and pseudothecial development of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 76: 119-124.
 116. O'Leary, A. L., e Sutton, T. B. 1986. The influence of temperature and moisture on the quantitative production of pseudothecia of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 76: 199-204.
 117. Olaya, G., e Koller, W. 1999. Baseline sensitivities of *Venturia inaequalis* populations to the strobilurin fungicide Kresoxim-metil. Plant Dis. 83: 274-278
 118. Oliveira, A.C.B. 1932. Subsídios para o estudo de três espécies do género *Fusicladium*. Rel. Fin. Curs. Eng. Agr. ISA/UTL, Lisboa. 461p.
 119. Palmiter, D. H. 1946. Ground treatments as an aid in apple scab control. N. Y. State Agric. Exp. Sta. Geneva. 27p.
 120. Parham, B. E. 1932. Apple and pear black spot (scab). N. Z. J. Sci. Techol. 14: 184-192.
 121. Parisi, L., Guillaumes, J., e Olivier, J. M. 1990. Variabilité de l'efficacité curative d'inhibiteurs de la biosynthèse des stéroïdes vis-à-vis de *Venturia inaequalis*. Agronomie 10: 573-579.
 122. Parisi, L., Lespinasse, Y., e Guillaumes, J. 1993. A new race of *Venturia inaequalis* virulent to apples with resistance due to the Vf gene. Phytopathology 83: 533-537.

-
123. Penrose, L. P. 1989. A rational approach to apple scab control - the role of disease warning systems and curative spraying. *Plant Prot. Q.* 4: 115-118.
124. Penrose, L. P. 1992. The significance of selection of infection model and climatic parameters on the operation and benefits of a primary apple scab warning service. *Plant Prot. Q.* 7: 12-16.
125. Pires H., Sobreiro, J. A. V., Silva-Fernandes, A. M. S. 1999. O combate ao pedrado (cv. Rocha) em sistemas de protecção integrada na região Oeste. Contribuição para a melhoria das técnicas e material de aplicação utilizados. In 5º Encontro Nacional de protecção integrada – A prática da protecção e produção integrada no limiar do milénio, 27-29 Out. Bragança. 119-124.
126. Pitman, H. A. 1930. Black spot or scab of apples and pears in Western Australia. *W. Aust. J. Agric.* 7: 241-263.
127. Rapilly, F. 1991. L'épidemiologie en pathologie végétale. INRA, Paris. 317p.
128. Rego, A. J. L. M. 1976. "Boas práticas agrícolas" na protecção das plantas. Planeamento de uma rede meteorológica de base. Caracterização de um método para recolha e contagem de ascósporos de pedrados (*Venturia spp.*). Rel. Fin. Curs. Eng. Agr. ISA/UTL, Lisboa: 112p.
129. Ristanovic, M. 1976. Prilog proucavanju uticaja herbicida na evoluciji peritecija i vitalnost askospora *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. *Zast. Bilja* 27: 313-317.
130. Roberts, A. L., e Crute, I. R. 1994. Improved procedures for the *in vivo* and *in vitro* production of conidial inoculum of *Venturia* species of pome fruit. *Ann. Appl. Biol.* 125: 607-613.
131. Roosje, G. S. 1963. Research on apple and pear scab in the Netherlands from 1938 until 1961. *Neth. J. Plant Path.* 69: 132-137.
132. Rosa, M. T. 1993. Previsão do desenvolvimento dos pedrados das pomóideas. Aplicação de sistemas de simulação. *Rev. Ciênc. Agra.* 16 (1-2-3): 107-114.
133. Rosa, T., e Gonçalves, L. 1990. Modelisation et simulation du comportement epidemique de la tavelure. Application a la region de Dão. *Bull. OILB/SROP* 13(2): 158-160.
134. Ross, R. G., e Hamlin, S. A. 1962. Production of perithecia of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. On sterile apple leaf discs. *Can. J. Botany* 40: 525-627.
135. Ross, R. G., e Newbery, R. J. 1977. Tolerance of *Venturia inaequalis* to dodine in Nova Scotia. *Can. Plant Dis. Surv.* 57: 57-60.
136. Sanogo, S. e Aylor, D. E. 1997. Infection efficiency of *Venturia inaequalis* ascospores as affected by apple flower bud developmental stage. *Plant Dis.* 81: 661-663.

-
137. Schnabel, G., Schnabel, E. L. e Jones, A. L. 1999. Characterization of ribosomal DNA from *Venturia inaequalis* and its phylogenetic relationship to rDNA from other tree-fruit *Venturia* species. *Phytopathology* 89: 100-108.
 138. Schwabe, W. F. S. 1977. Tolerance of *Venturia inaequalis* to Benzimidazole fungicides and Dodine in South Africa. *Phytophylactica* 9: 47-54.
 139. Schwabe, W. F. S. 1979. Changes in scab susceptibility of apple leaves as influenced by age. *Phytophylactica* 11: 53-56.
 140. Schwabe, W. F. S. 1980. Wetting and temperature requirements for apple leaf infection by *Venturia inaequalis* in South Africa. *Phytophylactica* 12: 69-80.
 141. Schwabe, W. F. S. 1980. Greenhouse evaluation of fungicides for apple scab control. *Phytophylactica* 12: 195-197.
 142. Schwabe, W. F. S. 1982. Wetting and temperature requirements for infection of mature apples by *Venturia inaequalis* in South Africa. *Ann. Appl. Biol.* 100: 415-423.
 143. Schwabe, W. F. S. 1989. Relation of degree-day accumulations to maturation of ascospores of *Venturia inaequalis* in South Africa. *Phytophylactica* 21: 13-16.
 144. Schwabe, W. F. S., Jones, A. L., e Jonker, J. P. 1984. Changes in the susceptibility of developing apple fruit to *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 74: 118-121.
 145. Seem, R. C. 1984. Disease incidence and severity relationships. *Ann. Rev. Phytopath.* 22: 133-150.
 146. Shabi, E. 1976. Epidemiology of pear scab in Israel. In: Proc. Apple Pear Scab Workshop. Kansas City, MO, 1976. A. L. Jones e J. D. Gilpatrick Eds. N. Y. Exp. Sta. Spec. Rep. 28: 14-16.
 147. Shabi, E. 1989. Pear scab. Epidemiology, control and resistance of *V. pirina* to fungicides. *Acta Hortic.* 256: 168.
 148. Shabi, E. 1991. Pear scab. In: Compendium of Apple and Pear Diseases. A. L. Jones e H. S. Aldwinckle, eds. APS Press, St Paul, MN: 22-23.
 149. Shabi, E., e Katan, T. 1980. Fitness of *Venturia pirina* isolates resistant to benzimidazole fungicides. *Phytopathology* 70: 1172-1174.
 150. Shabi, E., Rotem, J., e Loebenstein, G. 1973. Physiological races of *Venturia pirina* on pear. *Phytopathology* 63: 41-43.
 151. Sivanesan, A. e Waller, J. M. 1974. *Venturia pirina*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria, n° 404.
 152. Smereka, K. J., MacHardy, W. E., e Kausch, A. P. 1987. Cellular differentiation in *Venturia inaequalis* ascospores during germination and penetration of apple leaves. *Can J. Bot.* 65: 2549-2561.

-
153. Smith, F. D., e MacHardy, W. E. 1984. The retention and redistribution of captan on apple foliage. *Phytopathology* 74: 894-899.
154. Sobreiro, J. 1999. El moteado del peral en sistemas de producción integrada. *Frutic. Profis.* 100: 39-48.
155. Sobreiro, J. 2000. O pedrado. In: A produção integrada da pêra Rocha. P. Amaro, Ed., ISA press, Lisboa. 30-35.
156. Sobreiro, J. 2001. A gestão de doenças em sistemas de produção integrada de pêra Rocha. *Agroforum.* 15: 5-7.
157. Sobreiro, J. 2001. O pedrado da pereira – Biologia e epidemiologia. J. Sobreiro, Ed., ISA/MCT, Lisboa. 48p.
158. Sobreiro, J. A. V. 1995. A epidemiologia do pedrado da pereira na região Oeste. Diss. Mestr. Prot. Integrada. ISA/UTL. Lisboa. 137p.
159. Sobreiro, J. and Mexia, A. 2000. The simulation of pear scab (*Venturia pirina*) infection periods and epidemics under field conditions. *Acta Hortic.* 525: 153-160. http://www.actahort.org/books/525/525_18.htm
160. Sobreiro, J. e Mexia, A. 1996. O pedrado da pereira (*Venturia pirina*) no ecossistema agrícola do Oeste. I – Um caso de epidemia cíclica. In: 1ª Reunião SPF – A fitopatologia Portuguesa num contexto de mudança., 3-4 Out., Vila Real. 57-60.
161. Sobreiro, J. e Mexia, A. 1997. O combate ao pedrado da pereira (*Venturia pirina*). In: 3º Enc. Rocha em flor – Prot. Integrada, 26 Fev., Cadaval.
162. Sobreiro, J. e Mexia, A. 1997. O pedrado da pereira (*Venturia pirina*) no ecossistema agrícola do oeste. II – A estimativa da maturação dos ascósporos. In: 4º Enc. Nac. Prot. Integrada, 3-4 Out., Angra do Heroísmo. 135-139.
163. Sobreiro, J. e Mexia, A. 1998. Métodos de simulação de períodos de infecção do pedrado da pereira (*Venturia pirina*). In: 1º Colóquio Prod. Integrada Hortic. 6-7 Abr., Castelo Branco. 38-42.
164. Sobreiro, J., e Mexia, A. 1998. A utilização de modelos de simulação em estratégias inteligentes de combate ao pedrado da pereira (*Venturia pirina*). In 4º Encontro Rocha em flor – Produção integrada, 7 Out., Cadaval. 35-41.
165. Sobreiro, J., e Mexia, A. 1998. Novo método para estimativa dos esporos primários do pedrado da pereira (*Venturia pirina* Aderh.) In: 2ª Reunião SPF – Novos rumos na protecção das plantas, 24-25 Set, Oeiras. 97-101.
166. Spotts, R. A., Cervantes, L. A. and Niederholzer, F. J. A. 1997. Effect of dolomitic lime on production of asci and pseudothecia of *Venturia inaequalis* and *V. pirina*. *Plant Dis.* 81:96-98
167. Spotts, R. A., Cervantes, L. A., and Niederholzer, F. J. A. 2000. Pear scab: Components of potential ascospore dose and validation of an ascospore maturity model. *Plant Dis.* 84: 681-683.
-

-
168. Spotts, R. A., e Cervantes, L. A. 1991. Effect of temperature and wetness on infection of pear by *Venturia pirina* and the relationship between preharvest inoculation and storage scab. *Plant Dis.* 75: 1204-1207.
169. Spotts, R. A., e Cervantes, L. A. 1994. Factors affecting maturation and release of ascospores of *Venturia pirina* in Oregon. *Phytopathology* 84: 260-264.
170. Spotts, R. A., e Covery, R. P. 1990. Survival of *Venturia inaequalis* and *V. pirina* on leaves in controlled atmosphere and air storage. *Can. J. Plant Path.* 12: 180-182.
171. Stadelmann, F. e Schwinn, F. J. 1976. Influence of scab infection on total number of phyllosphere microorganisms of apple and pear. *Trans. British Mycol. Soc.* 66: 163-167.
172. Stanton, W. R. 1953. Breeding pears for resistance to the pear scab fungus *Venturia pirina* Aderh. I. Variation in the pathogenicity of *Venturia pirina*. *Ann. Appl. Biol.* 40: 184-191.
173. Stensvand, A., Amundsen, T. e Semb, L. 1996. Observations on wood scab caused by *Venturia inaequalis* and *V. pirina* in apple and pear in Norway. *Nor. J. Agric. Sci.* 10: 533-540.
174. Stensvand, A., Amundsen, T., e Semb, L. 1992. Apple scab (*Venturia inaequalis*) in Norway. *Acta Phytopath. Entomol. Hung.* 27: 593-598.
175. Stensvand, A., Amundsen, T., Semb, L., Gadoury, D. M., e Seem R. C. 1998. Discharge and dissemination of ascospores by *Venturia inaequalis* during dew. *Phytopathology* 87: 1046-1053.
176. Stensvand, A., Gadoury, M. D., Amundsen, T., Semb, L., e Seem R. C. 1997. Ascospore release and infection of apple leaves by conidia and ascospores of *Venturia inaequalis* at low temperatures. *Phytopathology* 87: 1046-1053.
177. Sugar, D., e Lombard, P. B. 1981. Pear scab influenced by sprinkler irrigation above the tree or at ground level. *Plant Dis.* 65: 980.
178. Sutton, T. B. 1976. Role of conidia of *Venturia inaequalis* in the epidemiology of apple scab. In: *Proc. Apple and Pear Workshop*. Kansas City, MO, 1976. N. Y. Agric. Exp. Sta. Spec. Rep. 28: 6-9
179. Sutton, T. B., e Unrath, C. R. 1984. Evaluation of the tree-row-volume concept with density adjustments in relation to spray deposits in apple orchards. *Plant Dis.* 68: 480-484.
180. Sutton, T. B., e Unrath, C. R. 1988. Evaluation of the tree-row-volume model for full-season pesticide application on apples. *Plant Dis.* 72: 629-632.
181. Sys, S., e Soenen, A. 1970. Investigations on the infection criteria of scab (*Venturia inaequalis* Cooke Wint.) on apples with respect to the table of Mills and Laplante. *Agricultura* 18: 3-8.
-

-
182. Szkolnik, M. 1969. Maturation and discharge of ascospores of *Venturia inaequalis*. Plant Dis. Rep. 53: 534-537.
183. Szkolnik, M. 1978. Techniques involved in greenhouse evaluation of deciduous tree fruit fungicides. Ann. Rev. Phytopath. 16: 103-129.
184. Szkolnik, M. 1981. Physical modes of action of sterol-inhibiting fungicides against apple diseases. Plant Dis. 65: 981-985.
185. Tanaka, S., e Yamamoto, S. 1964. Studies on pear scab. II. Taxonomy of the causal fungus of Japanese pear scab. Ann. Phytopath. Soc. Japan. 29: 128-136.
186. Teng, P. S. 1985. A comparison of simulation approaches to epidemic modeling. Ann. Rev. Phytopathol. 23: 351-379.
187. Thomas, H. E. 1930. Pear scab. Calif. Dep. Agric. Month. Bull. 19: 761-765.
188. Tkachev, V. M. 1978. Opredelenie effektivnosti iskorenyayushchikh opryskivaniy. Mikologiya i Fitopatologia 12: 328-331.
189. Tkachev, V. M. 1981. Primenenie mocheviny protiv parshi yabloni i grushi. I. Podavlenie moschevinoi pervichnoi infektsii parshi yabloni i grushi. Mikologiya i Fitopatologia 15: 48-52.
190. Tomerlin, J. R., e Jones, A. L. 1983. Development of apple scab on fruit in the orchard and during cold storage. Plant Dis. 67: 147-150.
191. Tomerlin, J. R., e Jones, A. L. 1983. Effect of temperature and relative humidity on the latent period of *Venturia inaequalis* in apple leaves. Phytopathology 73: 51-54.
192. Torres, A. P., Carreño, I., e Moller, W. 1984. Control quimico de *Venturia* en manzanos, aplicaciones a calendario fijo o cuando el tiempo favorece la infeccion. Niveles de inoculario primario. Agric. Tec. 44: 123-130.
193. Torres, A. P., e Carreño, I. 1986. Eficiencia de nuevos fungicidas en el control de *Venturia*. Agric. Tec. 46: 423-428.
194. Travis, J. W. 1991. Development, implementation, and adoption of expert systems in plant pathology. Annu. Rev. Phytopath. 29: 343-360.
195. Travis, J. W., Rajotte, E., e Bankert, R. 1992. A working description of the Penn State Apple Orchard Consultant, an expert system. Plant Dis. 76: 545-554.
196. Turner, M. L., MacHardy, W. E., e Gadoury, D. M. 1986. Germination and *appressorium* formation by *Venturia inaequalis* during infection of apple seedling leaves. Plant Dis. 70: 658-661.
197. Umemoto, S. 1990. Dispersion of Ascospores and conidia of causal fungus of Japanese pear scab *Venturia nashicola*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 56: 468-473.

-
198. Umemoto, S. 1990. Infection sources in Japanese pear scab (*Venturia nashicola*) and their significance in primary infection. Ann. Phytopath. Soc. Japan 56: 658-664.
 199. Umemoto, S. 1991. Infection of bud scales with conidia of Japanese pear scab fungus *Venturia nashicola*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 57: 188-195.
 200. Umemoto, S. 1991. Relationship between Japanese pear scab development and nutrients content in leaves on trees given different amounts of nitrogen fertilizer. Ann. Phytopath. Soc. Japan 57: 623-628.
 201. Umemoto, S. 1991. Relationship between leaf wetness period, temperature and infection of *Venturia nashicola* to Japanese pear leaves. Ann. Phytopath. Soc. Japan 57: 212-218.
 202. Umemoto, S. 1992. A simple method for estimating conidial numbers of Japanese pear scab in suspension. JARQ 26: 34-40.
 203. Umemoto, S. 1992. Seasonal changes in the Susceptibility of Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cv. "Kosui" fruit to the Japanese pear scab fungus *Venturia nashicola*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 58: 8-15.
 204. Umemoto, S., e Nagai, Y. 1979. Simple method for determining benomyl tolerance of *Venturia nashicola*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 45: 430-435.
 205. Villalta, O. N., Washington, W. S., Rimmington, G. M. e Taylor, P. A. 2000. Effects of temperature and leaf wetness duration on infection of pear leaves by *Venturia pirina*. Aust. J. Agric. Res. 51: 97-107.
 206. Waggoner, P. E., e Parlange, J. Y. 1974. Mathematical model for spore germination at changing temperature. Phytopathology 64: 605-610.
 207. Waggoner, P. E., e Parlange, J. Y. 1974. Verification of a model of spore at variable, moderate temperatures. Phytopathology 64: 1192-1196.
 208. Warner, J., e Braun, P. G. 1992. Discharge of *Venturia inaequalis* ascospores during daytime and nighttime wetting periods in Ontario and Nova Scotia. Can. J. Plant Path. 14: 315-321.
 209. Warwick, C. J., Mumford, J. D., e Norton, G. A. 1993. Environmental management expert systems. J. Environ. Manag. 39: 251-270.
 210. Washington, W. S. 1988. Diurnal periodicity of ascospore discharge of *Venturia pirina*. Trans. Br. mycol. Soc. 90: 112-114.
 211. Washington, W. S., e Appleby, M. 1993. Calcium hydroxide for the control of pear scab. In: Proc. 9th Biennial Cort. APPS. Hobart, 4-8 July 1993. Abst. 123: 58.
 212. Washington, W. S., Villalta, O., e Appleby, M. 1998. Control of pear scab with hydrated lime alone or in schedules with other fungicides sprays. Crop Prot. 17: 569-579.

-
213. Webster, J. 1980. Introduction to fungi. 2nd ed., Cambridge Univ. Press, Cambridge. 669p.
214. Westood, M. N. 1993. Temperate-zone pomology: physiology and culture. 3rd ed., Timber Press, Portland. 523p.
215. Wilcox, W. F., Wasson, D.I., e Kovach, J. 1992. Development and evaluation of an integrated, reduced-spray program using sterol demethylation inhibitor fungicides for control of primary apple scab. Plant Dis. 76: 669-677.
216. Williamson, C. J., e Burchill, R. T. 1974. The perennation and control of pear scab (*Venturia pirina* Aderh.). Plant Path. 23: 67-73.
217. Wilson, E. E. 1928. Studies of the ascigerous state of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. in relation to certain factors of the environment. Phytopathology 18: 375-417.
218. Wiltshire, S. P. 1915. Infection and immunity studies on the apple and pear scab fungi (*Venturia inaequalis* and *Venturia pirina*). Ann. Appl. Biol. 1: 335-350.
219. Wong, J. A. L., O'Loughlin, J., e Schupp, J. K. 1993. High pH on leaf and fruit surfaces as a control strategy for apple scab. In: Proc. 9th Biennial Cort. APPS, Hobart, 4-8 July 1993. Abst. 122: 58.
220. Wood, P. N., e Beresford, R. M. 2000. Avoiding apple damage from autumn-applied urea for black spot (*Venturia inaequalis*) control. N. Z. Plant. Prot. 53: 382-386. <http://www.hortnet.co.nz>
221. Yin, J. S. e Yu, S. C. 1988. Study on disease cycle of pear scab in Habei. China Fruits 1: 13-18.
222. Young, C. S., e Andrews, J. H. 1990. Inhibition of pseudothecial development of *Venturia inaequalis* by the basidiomycete *Athelia bombacina* in apple leaf litter. Phytopathology 80: 536-542.
223. Ypema, H. L., e Gold, R. E. 1999. Kresoxim-methyl modification of a naturally occurring compound to produce a new fungicide. Plant Dis. 83: 4-19.
224. Zadoks, J. C. 1985. On the conceptual basis of crop loss assessment: the threshold theory. Ann. Rev. Phytopathol. 23: 455-473.
225. Zadoks, J. C. e Schein R. D. 1979. Epidemiology and Plant Disease Management. Oxford Univ. Press, New York. 427p.
226. Zadoks, J. C. e Schein R. D. 1980. Epidemiology and plant-disease management, the known and the needed. In: Comparative epidemiology. J. Palti e J. Kranz eds. Pudoc, Wageningen. 1-17.

Anexos

Anexo 1 – Análise de variância dos modelos desenvolvidos

Modelo da evolução da maturação dos ascósporos de Venturia pirina (Fig. 52A).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	1,33420694	1	1,334207	103,7487	2,21E-10
Erro	0,32	25	0,01286		
Total	1,65570652	26			

ae	0
re	0,00415

n	27
R ²	0,805823

Modelo da evolução da maturação dos ascósporos de Venturia pirina (Fig. 52B).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	0,8807945	1	0,880795	28,41595	1,59E-05
Erro	0,77	25	0,030996		
Total	1,65570652	26			

ae	0
re	0,00415

n	27
R ²	0,531975

Modelo de estimativa de emissão dos ascósporos de Venturia pirina pelo método das placas de Petri (1996) (Fig. 58).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	1,153886	1	1,153886	250,6932	2,53E-07
Erro	0,037	8	0,004603		
Total	1,190708	9			

a_96	512,4611
r_96	252,9298

n	10
R ²	0,969075

Modelo de estimativa de emissão dos ascósporos de Venturia pirina pelo método das placas de Petri (1997) (Fig. 58).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	1,875653	1	1,875653	1315,295	1,24E-13
Erro	0,017	12	0,001426		
Total	1,892766	13			

a_97	689,0762	n	14
r_97	316,824	R ²	0,990959

Modelo de estimativa de emissão dos ascósporos de Venturia pirina pelo método das placas de Petri (1996+1997) (Fig. 59).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	3,022198	1	3,022198	1054,111	4,43E-20
Erro	0,06	22	0,002867		
Total	3,085274	23			

Mld	12-Abr	n	24
Mrd	19	R ²	0,979556

Modelo de estimativa de emissão dos ascósporos de Venturia pirina capturado pelo capta-esporos (Fig. 68).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	2,880499	1	2,880499	666,3098	1,81E-14
Erro	0,07	16	0,004323		
Total	2,949668	17			

CE_m	537,6	n	18
CE_d	150,0	R ²	0,97655

Modelo da relação entre a incidência de Venturia pirina nas folhas e o período de humectação (Ensaio a 20°C) (Fig. 72).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	0,17	2	0,086789	250,6008	6,69E-10
Erro	0,0038	11	0,000346		
Total	0,177387	13			

med	10,26	n	14
desvio	0,28	R ²	0,978524
max	0,28	ln(med)	2,328667

Modelo da relação incidência– severidade de Venturia pirina nas folhas (Ensaio a 20°C) (Fig. 77).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	0,547000891	1	0,547001	36,69467	0,003749
Erro	0,06	4	0,014907		
Total	0,606628184	5			

a_ensaio	0	n	6
b_ensaio	0,162109149	R ²	0,901707

Modelo bidimensional de infecção de Venturia pirina (Função 4) (Fig. 79A).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	242,6067	2	121,3033	438,0673	2,065E-05
Erro	1,107623	4	0,276906		
Total	243,7143	6			

k	0,218895	n	7
to	21,77469	R ²	0,9954552
W _{To}	8,396111		

Modelo bidimensional de infecção de Venturia pirina (Função 4) (Fig. 79B).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	691,9114	2	345,95572	103,9027	1,29E-11
Erro	69,92189	21	3,3296136		
Total	761,8333	23			

k	0,218636	n	24
to	21,70681	R ²	0,908219
W _{To}	9,501223		

Modelo da relação incidência– severidade de Venturia pirina nos frutos (1996) (Fig. 90).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	0,3603	1	0	62,2576	3E-06
Erro	0,08	13	0		
Total	0,4356	14			

a_1996	0	n	15
b_1996	0,0459	R ²	0,8273

Modelo da relação incidência– severidade de Venturia pirina nos frutos (1997) (Fig. 90).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	2,39959856	1	2 690,857	6E-14	
Erro	0,05	15	0		
Total	2,45169906	16			

a_1997	0
b_1997	0,13989852

n	17
R ²	0,979

Modelo da relação incidência– severidade de Venturia pirina nos frutos (1999) (Fig. 90).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	0,00652	1	0,0065235	0,2834688	0,6135669
Erro	0,14	6	0,0230129		
Total	0,1446	7			

a_1999	0
b_1999	0,06405

n	8
R ²	0,0451134

Modelo da relação incidência– severidade de Venturia pirina nos frutos (2000) (Fig. 90).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	2,98483	1	2,98483267	459,558328	2,8972E-14
Erro	0,12	18	0,006495		
Total	3,10174	20			

a_2000	0
b_2000	0,09984

n	21
R ²	0,96230827

Modelo da relação incidência– severidade de Venturia pirina nas folhas (1998) (Fig. 92).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	0,19515684	1	0 31,90195	0,0024	
Erro	0,03	5	0		
Total	0,22574382	6			

a_1998	0
b_1998	0,38375051

n	7
R ²	0,8645

Modelo da relação incidência– severidade de Venturia pirina nos corimbos (Fig. 95).

	SQ	Df	MS	F	p
Modelo	5,29714	1	5,29714	318,8429	1,82E-25
Erro	0,98	59	0,016614		
Total	6,277344	60			

a_1	0
b_1	0,0950

n	61
R ²	0,84385

Anexo 2 – Rotina de cálculo dos graus dia acima de 0°C e 10°C

```
Sub Graus_dia()

Dim c As Object
Dim Gd_0 As Double, Gd_10 As Double, a As Double, b As Double, m As Double

Set c = ActiveCell

c.Offset(0, 5).Value = "Graus.dia_0"
c.Offset(0, 6).Value = "Graus.dia_10"

Do Until IsEmpty(c.Offset(1, 0).Value)

    a = c.Offset(0, -1).Value
    b = c.Offset(1, -1).Value
    m = (a + b) / 2

    If m > 0 Then Gd_0 = Gd_0 + m / 96
    If m > 10 Then Gd_10 = Gd_10 + (m - 10) / 96
    c.Offset(1, 5) = Gd_0
    c.Offset(1, 6) = Gd_10

    Set c = c.Offset(1, 0)
Loop

End Sub
```

Anexo 3 – Rotina do MIP (Modelo de infecção do pedrado)

Sub Período_humectação()

Dim c As Object, n As Integer, estímulo As Boolean

Dim media As Variant, a As Double, b As Double, F_a As Double, F_m As Double, F_b As Double,
inf_horaria As Double, epidemia As Double

Dim P_hum As Double, inf_total As Double, Sum_temp As Double, m As Double, S_li As Double,
S_ls As Double

Set c = ActiveCell 'Inicia os cálculos no vector da humectação

c.Offset(0, 1).Value = "T_média"

c.Offset(0, 2).Value = "P_humectação"

c.Offset(0, 3).Value = "Infecção total"

c.Offset(0, 4).Value = "Evolução_epidemia"

epidemia = 0.01

Do Until IsEmpty(c.Offset(1, 0).Value) 'Acaba o cálculo quando a célula seguinte está vazia

a = c.Offset(0, -1).Value 'Lê o valor da temperatura no início do intervalo

b = c.Offset(1, -1).Value 'Lê o valor da temperatura no fim do intervalo

m = (a + b) / 2 'Calcula a temperatura média em [a,b]

'Verifica se o sensor da humectação está seco em [a,b]

'Acaba o período de humectação

'Os esporos perdem o estímulo germinativo

'Anota o valor da temperatura média calculado ao longo do último período de humectação

If c.Value < S_li And c.Offset(1, 0).Value < S_li Then

P_hum = 0

estímulo = False

c.Offset(0, 1).Value = media

media = Empty

n = 0

Sum_temp = 0

'Se no último período de humectação o nível de infecção foi superior a 0,01 então existe infecção

'Inicia-se a pesquisa do próximo período de infecção

If inf_total > 0.01 Then c.Offset(0, 8).Value = "P_infecção"

```

inf_total = 0

'Se o sensor da humectação está molhado ou a secar e os esporos mantêm o estímulo germinativo anterior
'O estímulo germinativo continua presente
'Inicia-se o cálculo da temperatura média ao longo do período de humectação
'Calcula-se a fracção de esporos que infectou durante [a,b]
'Calcula-se a nível de infecção do período de humectação
'Calcula-se a evolução epidémica ao longo de [a,b]
'Adiciona-se um novo intervalo de humectação
'Mostra-se o período de humectação acumulado

ElseIf c.Value > S_ls Or c.Value <= S_ls And estimulo Then

    estimulo = True

    Sum_temp = Sum_temp + m
    n = n + 1
    media = Sum_temp / n

    F_a = infecção_potencial(P_hum, 15, a, 21, 0.23, 0.23)
    F_m = infecção_potencial(P_hum + 0.125, 15, m, 21, 0.23, 0.23)
    F_b = infecção_potencial(P_hum + 0.25, 15, b, 21, 0.23, 0.23)

    inf_horaria = 0.25 * (F_a + 4 * F_m + F_b) / 6

    inf_total = inf_total + inf_horaria * 0.05 * (-Log(0.05))
    c.Offset(1, 3).Value = inf_total

    epidemia = epidemia + inf_horaria * epidemia * (-Log(epidemia))

    P_hum = P_hum + 0.25
    c.Offset(1, 2).Value = P_hum

Else
    P_hum = 0

End If

c.Offset(1, 4).Value = epidemia

Set c = c.Offset(1, 0)

Loop
End Sub

```

Anexo 4 – Datas dos períodos de infecção de Venturia pirina previstos pelo MIP (Modelo de infecção do pedrado)

Datas dos períodos de infecção e infecção potencial (IP) de Venturia pirina nos frutos, previstos pelo MIP (Modelo de infecção do pedrado) de 1996 a 2000 (Quadro 6).

Nº	Períodos de infecção previstos									
	1996		1997		1998		1999		2000	
	Data	IP (%)	Data	IP (%)	Data	IP (%)	Data	IP (%)	Data	IP (%)
1	6 Mai	6,3	27 Mar	1,1	29 Mar	13,4	13 Mar	9,3	12 Mar	1,1
2	8 Mai	1,1	2 Abr	2,1	3 Abr	6,2	26 Mar	1,1	13 Mar	2,1
3	9 Mai	2,2	17 Abr	1,1	4 Abr	1,4	29 Mar	1,2	25 Mar	1,2
4	15 Mai	1,1	18 Abr	1,1	7 Abr	1,4	16 Abr	3,7	4 Abr	1,9
5	17 Mai	1,2	19 Abr	9,4	14 Abr	1,0	17 Abr	1,3	9 Abr	1,9
6	18 Mai	2,5	24 Abr	1,1	15 Abr	1,2	21 Abr	3,3	16 Abr	4,6
7	30 Mai	1,3	25 Abr	2,0	17 Abr	2,3	27 Abr	10,4	17 Abr	1,3
8	26 Jul	2,5	4 Mai	1,2	28 Abr	1,9	5 Mai	7,7	30 Abr	16,1
9			5 Mai	6,7	29 Abr	5,5	6 Mai	2,7	1 Mai	3,8
10			16 Mai	5,6	10 Mai	1,3	15 Mai	3,5	4 Mai	4,1
11			18 Mai	2,1	11 Mai	3,8	16 Mai	1,0	5 Mai	4,3
12			23 Mai	3,2	12 Mai	9,1	17 Mai	1,5	6 Mai	1,5
13			25 Mai	5,3	14 Mai	2,7	18 Mai	4,8	7 Mai	7,2
14			1 Jun	5,6	29 Mai	4,9	13 Jul	7,6	12 Mai	4,2
15			5 Jun	2,2	1 Jun	13,4	4 Ago	8,2	26 Mai	1,6
16			6 Jun	2,1	6 Jun	1,4	8 Ago	2,8	28 Mai	1,5
17			10 Jun	4,6	2 Jul	3,5			11 Jun	2,8
18			2 Jul	1,2	7 Jul	5,6			21 Jun	1,3
19			15 Jul	5,7	8 Ago	1,3			3 Jul	1,5
20			16 Jul	8,4	9 Ago	2,0			25 Jul	14,9
21					10 Ago	1,3			26 Jul	1,5

Anexo 5 – Diagrama de severidade de Venturia pirina

