



**GERMINAÇÃO DE UREDINIÓSPOROS E  
VARIABILIDADE FISIOLÓGICA DE  
*Puccinia psidii* Winter**

**GLEIBER QUINTÃO FURTADO**

**2002**

**GLEIBER QUINTÃO FURTADO**

**GERMINAÇÃO DE UREDINIÓSPOROS E  
VARIABILIDADE FISIOLÓGICA DE  
*Puccinia psidii* Winter**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador  
Hilário Antônio de Castro

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2002

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Furtado, Gleiber Quintão

Germinação de urediniósporos e variabilidade fisiológica de *Puccinia psidii*  
Winter / Gleiber Quintão Furtado. -- Lavras : UFLA, 2002.  
55 p. : il.

Orientador: Hilário Antônio de Castro.

Dissertação (Mestrado) -- UFLA.

Bibliografia.

1. Eucalipto. 2. Ferrugem. 3. Germinação. 4. Variabilidade Fisiológica.  
I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.97342

**GLEIBER QUINTÃO FURTADO**

**GERMINAÇÃO DE UREDINIÓSPOROS E  
VARIABILIDADE FISIOLÓGICA DE  
*Puccinia psidii* Winter**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 31 de julho de 2002

Prof. Luiz Antônio Maffia  
Prof. Edson Ampélio Pozza  
Prof<sup>a</sup>. Dulcinéia de Carvalho  
Prof. Mário Sobral de Abreu

UFV  
UFLA  
UFLA  
UFLA



Prof. Hilário Antônio de Castro  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

## **DEDICO**

A Deus, pela vida.

## **OFEREÇO**

Aos meus pais, Paulo (*in memoriam*) e Iracema, maravilhosa  
mãe.

Aos meus irmãos, Eliane, Helder e Evelina.

Aos meus sobrinhos Álvaro, Vinicius e Renato.

Aos meus amigos.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), e ao Departamento de Fitopatologia (DFP), pela oportunidade de concretização deste mestrado.

À CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de estudo.

À Companhia Suzano de Papel e Celulose pelo fornecimento das sementes de *Eucalyptus grandis* e à Votorantim Papel e Celulose S.A. pelo fornecimento das mudas de *Eucalyptus urograndis*.

Ao professor Hilário Antônio de Castro pela orientação e pela confiança demonstrada.

Aos professores Edson Ampélio Pozza e Ludwig H. Pfenning, pelas críticas, incentivos e pelas valiosas sugestões.

Aos docentes do curso de Fitopatologia pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Marquinho, pelas fotos e pela amizade, e ao tio Clóvis, pelo incentivo e torcida.

Aos colegas de curso pela agradável convivência pela amizade.

Aos colegas do Laboratório de Micologia, Ricardo, Miriam, Anderson, Flávia, Zuleide e Edson, pela agradável convivência, pelo companheirismo e pelas trocas de conhecimentos.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, em especial Eloisa, Ana, Ângela, Maria de Lourdes e Leisa, pelo apoio e pela colaboração.

Aos grandes amigos, Manguinha, Cássia, Nuno, Ellen e Flávio, pela agradável convivência, pelos descontraídos momentos que passamos juntos.

Ao Marcos Goussain e ao Carlos Ledo pelo apoio nas análises estatísticas.

Ao Antônio, pela valiosa ajuda.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução Geral.....	1
2 Referencial Teórico .....	2
2.1 O gênero <i>Eucalyptus</i> e a ferrugem.....	2
2.2 Variabilidade Fisiológica de <i>Puccinia psidii</i> .....	3
2.3 Germinação <i>in vitro</i> de urediniósporos de <i>Puccinia psidii</i> .....	6
3 Referencias Bibliográficas.....	10
CAPÍTULO 2: Germinação <i>in vitro</i> de urediniósporos de <i>Puccinia psidii</i> .....	15
1 Resumo.....	15
2 Abstract.....	16
3 Introdução.....	17
4 Material e Métodos.....	19
5 Resultados e Discussão.....	21
5.1 Germinação <i>in vitro</i> de <i>Puccinia psidii</i> em óleo.....	21
5.2 Germinação <i>in vitro</i> de <i>Puccinia psidii</i> em água.....	24
6 Conclusões.....	28
7 Referências Bibliográficas.....	29
CAPÍTULO 3: Variabilidade fisiológica de <i>Puccinia psidii</i> Winter em <i>Eucalyptus grandis</i> e <i>Eucalyptus urograndis</i> .....	31
1 Resumo.....	31
2 Abstract.....	32
3 Introdução.....	33
4 Material e Métodos.....	35
4.1 Implantação do experimento .....	35
4.2 Obtenção, multiplicação e manutenção dos isolados de <i>Puccinia psidii</i> .....	35
4.3 Metodologia de inoculação .....	36

<b>4.4 Avaliação dos resultados.....</b>	<b>37</b>
<b>5 Resultados e Discussão.....</b>	<b>39</b>
<b>5.1 Considerações finais.....</b>	<b>49</b>
<b>6 Conclusões.....</b>	<b>50</b>
<b>7 Referências Bibliográficas.....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>53</b>



## RESUMO GERAL

FURTADO, GLEIBER QUINTÃO. Germinação de urediniósporos e variabilidade fisiológica de *Puccinia psidii* Winter. Lavras: UFLA, 2002. 55p. (Dissertação-Mestrado em Fitopatologia)\*

O conhecimento da variabilidade fisiológica e da biologia de *P. psidii* é de grande importância por possibilitar a aplicação de métodos de controle da doença, a qual tem causado prejuízos significativos em eucaliptais. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi estudar a variabilidade fisiológica de oito isolados de *P. psidii*, de diferentes regiões e hospedeiros, em *Eucalyptus grandis* e *E. urograndis*, e a germinação *in vitro* de urediniósporos com diferentes idades e temperaturas em óleo mineral e água. Para o estudo da variabilidade avaliou-se a incidência de ferrugem, a frequência de infecção, o período de geração, a AACPNP e o número de pústulas. A germinação dos urediniósporos foi estudada em quatro temperaturas (10, 15, 20 e 25 °C) e cinco épocas de coleta (10, 14, 17, 24 e 31 d.a.i), utilizando água e óleo mineral. Os isolados apresentaram diferenças qualitativas e quantitativas em relação aos hospedeiros testados. Notou-se maior grau de resistência de *E. urograndis* aos isolados utilizados quando comparado com *E. grandis*. Observou-se comportamentos diferenciados tanto para isolados como para eucaliptos, devido à existência de especializações no patossistema. A maior germinação foi verificada utilizando óleo mineral com esporos coletados 10 d.a.i. na temperatura de 17 °C. Para água a temperatura de 15 °C e as coletas feitas aos 24 d.a.i proporcionaram maior germinação. A maior germinação observada em óleo mineral pode estar relacionada com a remoção de substâncias inibidoras desse evento. Com base nesse estudo observou-se a necessidade de realização de trabalhos de caracterização molecular dos isolados e estudos bioquímicos visando a identificação dessas substâncias inibidoras da germinação.

---

\*Orientador: Hilário Antônio de castro; co-orientador: Edson Ampélio Pozza.

## ABSTRACT

FURTADO, GLEIBER QUINTÃO. Germination of urediniospore and physiological variability of *Puccinia psidii* Winter. Lavras: UFLA, 2002. 55p. (Dissertation – Master in Phytopathology)\*

The knowledge of the physiological variability and biology of *P. psidii* is important for making the application of control methods of the disease possible, which has caused significant damage on eucalyptus. The objective of this work was to investigate the physiological variability of eight isolates of *P. psidii* of different regions and host on *Eucalyptus grandis* and hybrid of *E. grandis* and *E. urophylla* and *in vitro* germination of urediniospores of different ages and temperatures in mineral oil and water. For the study of the variability, the infection frequency, number of pustules, ABCPNP, generation period and rust incidence. The germination of urediniospores was investigated in a 5 x 2 x 4 factorial scheme, five times (10, 14, 17, 24 and 31 days after inoculation (d.a.i.)), two media (water and mineral oil) and four temperatures (10, 15, 20 and 25 °C). They were evaluated when they were 12, 24 and 48 hours in inoculation. The isolates presented quantitative and qualitative differences relative to the hosts tested. A greater resistance degree in *E. urograndis* to the isolates utilized as compared with *E. grandis*. Results showed distinguished behavior both for isolates as eucalyptus due to the existence of specializations in the pathosystem. The greatest germination was found by utilizing mineral oil with spores collected 10 d.a.i. at the temperature of 17 °C. the studies in water showed a poor germination relative to that in mineral oil. The greatest germination observed in mineral oil may be related with the removal of substances inhibiting that event. According to that study, the need for work of molecular characterization of the isolates and biochemical studies aiming at the identification of those germination-inhibiting substances.

---

\*Adviser: Hilário Antônio de Castro; co-adviser: Edson Ampélio Pozza.

## CAPÍTULO 1

### 1 Introdução Geral

O gênero *Eucalyptus* pertence à família Myrtaceae e possui mais de 600 espécies, variedades e híbridos, tem como centro de origem o continente australiano (Revista..., 2001) e é considerado mundialmente a essência florestal mais importante no aspecto econômico (Eldridge et al., 1994). No Brasil, encontram-se 40% da área plantada com *Eucalyptus* do mundo e cerca de 150.000 ha são plantados anualmente.

Entre os principais problemas fitossanitários dessa cultura, encontra-se a ferrugem, cujo agente etiológico é *Puccinia psidii* Winter. Este fungo tem variabilidade fisiológica por ser o único representante fitopatogênico da ordem Uredinales relatado sob inúmeros gêneros e espécies da família Myrtaceae (Coutinho et al., 1998; Rayachhetry et al., 2001). A ferrugem já foi relatada em várias espécies de *Eucalyptus*, tais como *E. grandis*, *E. cloeziana*, *E. phaeotricha*, *E. saligna*, *E. citriodora* e *E. pilularis* (Dianese et al., 1984 e 1986, Ferreira, 1989).

O controle mais eficiente da doença é feito através do plantio de material genético resistente; portanto, o conhecimento da variabilidade fisiológica dos isolados de *P. psidii* de grande relevância nos programas de melhoramento genético. Para melhor entender a sobrevivência deste patógeno na natureza, são necessários estudos de germinação das estruturas infectivas em diferentes condições para caracterizar os mecanismos de dormência e a ativação desses processos. Em vista do exposto, o objetivo desse trabalho foi estudar a variabilidade fisiológica dos isolados de *P. psidii*, de diferentes regiões e hospedeiros, em *Eucalyptus grandis* e híbrido de *E. grandis* e *E. urophylla*, e a germinação *in vitro* de urediniosporos com diferentes idades e submetidos a diferentes temperaturas.

## 2 Referencial Teórico

### 2.1 O gênero *Eucalyptus* e a ferrugem

*Eucalyptus* é o gênero das espécies arbóreas mais plantado no mundo devido ao seu grande número de espécies, à habilidade para se adaptar a diferentes sítios e por gerar madeira para usos múltiplos. Pode ser plantado na maioria das regiões tropicais e temperadas entre as latitudes de 45° S e 40° N, com um alto grau de tolerância nas latitudes e altitudes extremas, desde o nível do mar até 1800m (FAO, 1988 e Kelly, 1993).

Dentre as espécies mais plantadas no mundo estão *E. grandis*, *E. Saligna*, *E. urophylla*, *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. globulus*, *E. viminalis*, *E. deglupta*, *E. citriodora*, *E. exserta*, *E. paniculata* e *E. robusta* (Revista..., 2001).

Estimativas do ano de 1985 indicaram que a área cultivada mundialmente era superior a seis milhões de hectares e o Brasil era responsável por aproximadamente de três milhões de hectares (Eldridge et al., 1994). Em 1999, a área florestada ou reflorestada com essa essência florestal para produção de carvão e celulose foi de 30.000 e 107.000 hectares, respectivamente, e foram exportadas 2.337.854 toneladas de produtos florestais (Agrianual, 2002).

Devido ao seu alto potencial de incremento em volume e habilidade de crescimento em áreas marginais e solo pobre, o eucalipto projetou-se no cenário internacional como grande produtor de celulose de fibra curta, além de ter reduzido a pressão sobre as florestas naturais.

A ferrugem do eucalipto, cujo agente etiológico é *Puccinia psidii* Winter, pertence à ordem Uredinales, é originária do neotrópico, ocorrendo na América do Sul, Central, Caribe, sul dos Estados Unidos da América e Taiwan (Maclachlan, 1938; Joffily, 1944; Marlatt & Kimbrough, 1979; Rayachhetry et al., 1997; Coutinho et al., 1998). Este fungo foi descrito no Brasil por Winter,

em 1884, em *Psidium pomiferum* L (Maclachlan, 1938). No Brasil, a primeira constatação desse fungo sobre eucalipto ocorreu em 1944, quando se observou a presença de urediniósporos em folhas de mudas de *Eucalyptus citriodora*, no município de Itaguaí, Rio de Janeiro (Joffily, 1944).

O fungo está relatado, na América do Sul, em quatorze gêneros da família Myrtaceae: *Abberillea*, *Callistemon*, *Campomanesia*, *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Marlierea*, *Melaleuca*, *Myrcia*, *Myrciaria*, *Phyllocalyx*, *Pimenta*, *Pseudomyrcianthes*, *Psidium* e *Syzygium* (Viégas, 1991; Hennen et al., 1982).

O patógeno infecta folhas jovens e terminais suculentos dos ramos ou da haste principal do eucalipto e da maioria das mirtáceas nativas. Inicialmente, a doença forma pequenas hipertrofias verde-claras, que se rompem com o progresso da infecção, constituindo as pústulas de urediniósporos, de cor amarela. A presença desses esporos é a melhor evidência para diagnosticar a doença (Alfenas et al., 1989; Silveira, 1951).

Atualmente, a ferrugem é considerada uma das maiores ameaças para *Eucalyptus* spp. no mundo. É necessário severo serviço de quarentena para impedir a entrada do patógeno em países em que ele ainda não foi relatado. Na Austrália, local onde o gênero ocupa 90% da cobertura vegetal e outras espécies da família Myrtaceae são nativas, essa doença pode vir a acarretar maiores problemas para a biodiversidade global (Coutinho et al., 1998).

## 2.2 Variabilidade Fisiológica de *Puccinia psidii*

Sobre as plantas da família Myrtaceae, apenas o fungo *P. psidii* tem sido responsável por causar ferrugem, em vista de suas características morfológicas serem as mesmas apresentadas por isolados procedentes das diferentes plantas hospedeiras. Sendo o eucalipto uma planta exótica, persiste a dúvida se a ferrugem do eucalipto é causada por *P. psidii* originário da goiabeira (*Psidium guajava*), jambeiro (*Syzygium jambos*) ou outra espécie da mesma família.

Joffily (1944) sugeriu tratar-se do mesmo fungo com possível ocorrência de formas adaptadas ao eucalipto.

Sendo *P. psidii* o mais importante representante da ordem Uredinales descrita na família Myrtaceae, pesquisas antigas, realizadas por meio de inoculações cruzadas, relatam existir variabilidade fisiológica dentro da espécie (MacLachlan, 1938). Para o autor, os urediniosporos provenientes de *Pimenta officinalis*, na Jamaica, não infectaram *S. jambos* e *Eugenia malaccensis*, mas foram compatíveis com *Pimenta acris*, enquanto o isolado obtido de *S. jambos* foi compatível apenas com esta espécie e com *E. malaccensis*, mas não infectou *P. officinalis* e *P. acris*.

Joffily (1944) também identificou a existência de tais especializações, pelo fato de o fungo ser nativo no Brasil e infectar o eucalipto introduzido no país.

Castro et al. (1983) testaram isolados provenientes de *Eucalyptus grandis*, *E. cloeziana*, goiabeira e jambeiro em mudas destas hospedeiras. Para o teste em goiabeiras, três variedades foram utilizadas. O isolado obtido em goiabeira foi compatível com as três variedades desta hospedeira, com *E. cloeziana*, mas incompatível com *E. grandis* e com jambeiro. O proveniente de jambeiro mostrou compatibilidade apenas com a hospedeira original e *E. cloeziana*. O inóculo obtido nesta última espécie de eucalipto mostrou incompatibilidade apenas com as três variedades de goiabeira. Por outro lado, o proveniente de *E. grandis* foi apto a infectar todas as plantas. Em alguns casos, o patógeno apresentou relativo grau de especificidade com o hospedeiro de origem

Ferreira (1981) observou, para isolados de *P. psidii* originário de *E. grandis* (procedência África do Sul), jambeiro e jabuticaba, comportamentos semelhantes ao inocular em jambeiros, goiabeira variedade Pirassununga e *E. grandis*, da mesma procedência. No entanto, os dois isolados provenientes de

goiabeira silvestre e da variedade citada acima foram compatíveis apenas com esta hospedeira.

Na Flórida, Marlatt & Kimbrough (1979) inocularam urediniósporos de *Pimenta dioica* em *S. jambos*, *Spondias cytherea* e *P. dioica*, porém observaram doença apenas na hospedeira de origem, as outras plantas apresentaram reação de incompatibilidade. Coutinho & Figueiredo (1984) estudaram o comportamento de isolados de *P. psidii* encontrados em várias espécies de Myrtaceae e observaram ausência de doença em goiaba quando inoculadas com urediniósporos obtidos em jambeiros. O inóculo da goiaba causou reação de hipersensibilidade no jambeiro. Um dos isolados de uvaia só infectou uvaia, enquanto outro foi compatível também com goiabeira e jambeiro. O isolado de jabuticabeira causou lesões não esporulantes em goiabeira, mas foi altamente infectivo para o jambeiro. Os isolados provenientes de cambucá e cereja do riogrande, além de compatíveis com seu hospedeiro de origem, foram também com jambeiro.

Coelho et al. (2001), ao inocular treze isolados, obtidos de diferentes hospedeiros, em goiabeira, jambeiro, *Myrcia itambensis* e diferentes espécies de *Eucalyptus*, obtiveram como resultado três grupos de especializações fisiológicas: grupo 1, infectava eucalipto e jambeiro; grupo 2, infectava eucalipto e goiabeira e, grupo 3 provocava infecção apenas em goiabeira. Segundo os mesmos autores, a única diferença observada entre os grupos foi a produção de maior ou menor quantidade de soros por unidade de área foliar

Aparecido et al. (2000c) também verificaram especializações fisiológicas nas populações de *P. psidii* obtidos de eucalipto, goiabeira, jambeiro, cambucá e jabuticabeira. Os autores utilizaram como plantas teste *Eucalyptus citriodora*, *Psidium guajava* (goiabeira), *Syzygium jambos* (jambeiro), *Eugenia pyriformis* (cereja-do-rio-grande) e *Hexachlamys edulis* (uvaia) e observaram ausência total de sintomas em uvaia e intensa esporulação em plantas de goiabeira inoculadas

com estruturas coletadas de goiabeira, eucalipto e jambeiro, ambos inoculados com esporos provenientes de jambo. Os urediniósporos provenientes de cambucá não infectaram eucalipto e goiabeira, mas provocaram reação de hipersensibilidade em jambo e cereja-do-rio-grande, os quais também foram infectadas por esporos coletados de jabuticabeira, nos quais foram observadas lesões pouco esporulantes.

Xavier et al. (2000), avaliaram-se a variabilidade do patógeno inoculando oito clones de *E. grandis* com onze isolados obtidos de diferentes hospedeiros e regiões geográficas. Um dos isolados oriundos de eucalipto apresentou comportamento diferencial em um dos clones utilizados, desenvolvendo lesões com grau de doença intermediário na escala utilizada, alterando o padrão de HR típico apresentado para os demais isolados testados. Foram observados diferentes graus de virulência em dois dos oito clones utilizados.

Castro & Krüger (1984) e Castro et al. (1984), também por meio de inoculações cruzadas, observaram a existência de alguns isolados de *P. psidii* incapazes de infectar ou produzir pústulas em determinadas procedências de *Eucalyptus*. Em algumas das procedências ocorria apenas reação de hipersensibilidade, enquanto, em outras, severa infecção.

Os dados existentes até o momento são referentes à variabilidade fisiológica de *P. psidii*, mas demonstram também a existência de uma grande variabilidade genética dentro da espécie.

### **2.3 Germinação *in vitro* de urediniósporos de *Puccinia psidii* Winter**

A forma dos urediniósporos de *P. psidii* é variável, com predominância dos piriformes e dos esféricos a ovais, com suaves equinulações na parede externa, e medem 10-20 x 15-25 µm. Os teliósporos são pedicelados,



bicelulares, clavados, achatados, muitos com uma papila apical na parede da célula posterior, e medem 15-18 x 30-60µm (Ferreira, 1989).

Ferreira (1981 e 1983) estudou a germinação de urediniósporos de *P. psidii* provenientes de jameiro e eucalipto em ágar-água, no escuro, por um período de 12 horas, e observou que dentre as temperaturas testadas - 10, 15, 20 e 25 °C-, a mais favorável à germinação foi 15 °C, com 78% de germinação. A 10 e 20 °C houve satisfatórias porcentagens de germinação, 33,7 e 46,1%, respectivamente. Para os teliósporos germinarem, as melhores temperaturas foram 20 e 25 °C. Para urediniósporos procedentes de *Pimenta dioica*, a temperatura mais favorável à germinação foi 16°C, sendo essa germinação inibida em temperaturas acima de 25 °C (Study..., 1966).

De acordo com Piza & Ribeiro (1988), os maiores índices de germinação ocorrem sob temperatura de 18 °C com um período de água livre, com 8 horas de escuro. A infecção em *E. cloeziana* foi maior nas temperaturas entre 20 e 25 °C durante pelo menos 6 horas de água livre (Ruiz et al., 1989).

Investigações sobre o efeito da idade e da temperatura na germinação de urediniósporos coletados de goiabeira revelam que aos 10 dias após a inoculação a germinação foi maior a 15 °C, equivalendo a 8,7%. Porém, para estruturas com 21 dias mantidas a 15 °C, registrou-se a maior porcentagem de germinação, na ordem de 34,8%. Para estruturas com 34 dias, em todas as temperaturas estudadas não se registrou germinação (Aparecido et al., 2000b).

Observações preliminares feitas por Tessmann (1992) mostram baixos níveis de germinação de urediniósporos de *P. psidii* em água, possivelmente devido à presença de substâncias responsáveis por inibir a germinação.

Allen (1955) define os autoinibidores como substâncias extraídas de esporos de fungos, as quais inibem a germinação dos mesmos. Macko (1981) e Lucas & Knights (1987), citados por Tessmann (1992), relataram o isolamento de diversas substâncias autoinibidoras da germinação de urediniósporos

caracterizadas como compostos voláteis, de baixo peso molecular, derivados do ácido cinâmico, e altamente ativos em baixas concentrações. No entanto, Griffin (1981), citado por Tessmann (1992), afirma a existência de compostos autoinibidores não voláteis, fenólicos em urediniósporos de *Puccinia* spp. e em *Uredo* sp., ativos somente em altas concentrações.

Na germinação dos urediniósporos da maioria das ferrugens, ocorre autoinibição quando em elevada concentração, devido à liberação dessa substância em solução aquosa (Bell & Daly, 1962).

Tessmann (1992) inoculou folhas jovens de jambeiro com suspensões de urediniósporos de *P. psidii* com 0,5 e 100 mg de esporos/mL de óleo mineral puro/ ou água + Tween e observou, para a última substância, menor número de soros nas folhas quando inoculadas com a menor concentração, sugerindo a presença de autoinibidores da germinação. O óleo mineral proporcionou maior número de soros com a maior concentração, sugerindo a dissolução do autoinibidor pelo óleo. O autoinibidor, quando extraído de urediniósporos de *P. psidii* com uma mistura de óleo mineral e octanol  $10^{-4}$ M, inibiu completamente a germinação dos esporos *in vitro*.

Maheshwari et al. (1967) observaram o desenvolvimento de estruturas de infecção de urediniósporos de ferrugens como *Puccinia graminis* var. *tritici*, *P. helianthi*, *P. antirrhini*, *P. sorghi* e *Uromyces phaseoli* quando em contato com membranas artificiais contendo componentes de cera da cutícula ou óleo mineral, evidenciando a atuação da composição química da superfície foliar na diferenciação do tubo germinativo. Portanto, a ativação deste processo pode estar relacionada com um hidrocarboneto, de aproximadamente 30 unidades da molécula  $CH_2$ , presentes tanto nas ceras como no óleo mineral.

A germinação dos urediniósporos de *Puccinia graminis* var. *tritici* é inibida pela presença de substâncias autoinibidoras, identificadas como derivadas do ácido cinâmico, metil-cis-ferrulato, que inibem a germinação por

impedirem a dissolução enzimática da parede do poro germinativo. Após essa dissolução, o futuro dos esporos está sob o controle de outros fatores endógenos e ambientais (Hess et al., 1975). Por outro lado, o metil cis 3,4-dimetoxicinamato foi considerado o autoinibidor presente no urediniósporo de *Puccinia helianthi* Schw. (ferrugem do girassol), *Puccinia antirrhini* Diet. (ferrugem da boca de leão), *Uromyces appendiculatus* (ferrugem do feijão) e *Puccinia striiformis* west (ferrugem estriada do trigo) (Macko et al., 1970; Macko, et al., 1971; Macko et al., 1970).

Musumeci et al. (1974), ao avaliarem a germinação de urediniósporo de *Hemileia vastatrix* em água + Tween, observaram maior germinação para concentrações menores de esporos, sugerindo também a presença de autoinibidores solúveis em água. Os compostos autoinibidores provenientes de *Uromyces appendiculatus* e *Puccinia graminis* var. *tritici* não demonstraram ação inibitória na germinação *in vitro* de urediniósporos de *Hemileia vastatrix*.

Aparentemente, a função ecológica dessas substância autoinibidoras é minimizar a germinação dos esporos em situação de difícil sobrevivência, especialmente nas estruturas de frutificação, de forma a permitir dispersão eficiente no ambiente (Macko et al., 1971). Segundo Figueiredo & Carvalho (1994), os fatores de autoinibição também possibilitam a sobrevivência do esporo na ausência do hospedeiro, pois impedem a germinação ao mesmo tempo.

O conhecimento da natureza química e da ação biológica dos autoinibidores dos urediniósporos é de grande importância no controle de doenças, principalmente por atuarem em baixas concentrações (Allen et al., 1971).

## 7 Referências Bibliográficas

ALLEN, P. J. The role of a self-inhibitor in the germination of rust uredospores. *Phytopathology*, St. Paul, v. 45, n. 5, p. 259-266, May 1955.

ALFENAS, A. C.; DEMUNER, N. L.; BARBOSA, M. M. A ferrugem e as opções de controle. *Correio Agrícola*, São Paulo, v. 1, p. 18-20, 1989.

ALLEN, P. J.; STRANGE, R. N.; ELNAGHY, M. A. Propertirs of germination inhibitors from stem rust uredospores. *Phytopathology*, St. Paul, v. 61, n. 12, p. 1382-1389, Dec. 1971.

AGRIANUAL – Anuário da Agricultura Brasileira. Eucalipto: Custo de produção (US\$/ha) – 2001. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2002. p. 359-360.

APARECIDO, C. C.; FIGUEIREDO, M. B.; FURTADO, E. L. Efeito da idade e da temperatura na germinação de urediniosporos de *Puccinia psidii* coletados de goiabeira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza, CE. (supl. ) p. 293, 2000a.

APARECIDO, C. C.; FIGUEIREDO, M. B.; FURTADO, E. L. Inoculações cruzadas de Myrtaceae com urediniosporos de *Puccinia psidii* provenientes de diferentes hospedeiros. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 25, p. 354, ago. 2000b. Suplemento.

BELL, A. A.; DALY, J. M. Assay and partial purification of self-inhibitors of germination from uredospores of the bean rust fungus. *Phytopathology*, St. Paul, v. 52, n. 3, p. 261-266, Mar. 1962.

CASTRO, H. A.; KRÜGNER, T. L. Comportamento de *Eucalyptus* spp.. à inoculação com isolados de *Puccinia psidii*, pela análise dos parâmetros monocíclicos. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 9, n. 2, p. 350, jun. 1984.

CASTRO, H. A.; KRUGNER, T. L.; BERGAMIN FILHO, A. Padrão de produção de uredosporos em mudas de *Eucalyptus* spp.. inoculadas artificialmente com *Puccinia psidii*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 10, n. 3/4, p. 155-170, jul./dez. 1984.

CASTRO, H. A.; KRÜGNER, T. L.; IDERIHA, C. H. F.; CAPELLO, M. S. C.; MARCHI, A. B. Inoculação cruzada de *Eucalyptus*, goiaba (*Psidium guajava*) e

jambeiro (*Syzygium jambos*) com *Puccinia psidii*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 8, n. 3, p. 491-497, out. 1983.

COELHO, L.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A. Variabilidade fisiológica de *Puccinia psidii* – Ferrugem do Eucalipto. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 27, n. 3, p. 295-300, jul./set. 2001.

COUTINHO, L. N.; FIGUEIREDO, M. B. Estudos sobre especializações fisiológicas em *Puccinia psidii* Winter. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 10, n. 1/2, p. 55-56, jan./jun. 1984.

COUTINHO, T. A.; WINGFIELD, M. J.; ALFENAS, A. C.; CROUS, P. W. *Eucalyptus* rust: A disease with the potential for serious international implications. *Plant Disease*, St. Paul, v. 82, n. 7, p. 819-825, July 1998.

DIANESE, J. C.; MORAES, T. S de A.; SILVA, A. R. Response of *Eucalyptus* species to field infection by *Puccinia psidii*. *Plant Disease*, St. Paul, v. 68, n. 4, p. 314-316, Apr. 1984.

DIANESE, J. C.; MORAES, T. S de A.; SILVA, A. R. Screening *Eucalyptus* species for rust resistance in Bahia, Brazil. *Tropical Pest Management*, London, v. 32, n. 4, p. 292-295, Oct./Dec. 1986.

ELDRIDGE, K. G.; DAVIDSON, J.; HARWOOD, C.; van WYK, G. *Eucalypt domestication and breeding*. Oxford: Orford Science Publications, Clarendon Press, 1984, 288 p.

FERREIRA, F. A. Ferrugem do eucalipto – ocorrências, temperatura para germinação de uredosporos, produção de teliosporos, hospedeiro alternativo e resistência. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 6, n. 3, p. 603-604, out. 1981.

FERREIRA, F. A. Ferrugem do eucalipto. *Revista Árvore*, Viçosa, v. 7, n. 2, p. 91-109, jul./dez. 1983.

FERREIRA, F. A. *Patologia florestal, principais doenças no Brasil*. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 1989. 570 p.

FIGUEIREDO, M. B.; COUTINHO, L. N.; HENNEN, J. F. Estudos para determinação do ciclo vital de *Puccinia psidii* Winter. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 10, n. 1/2, p. 53-54, jan./jun. 1984.

**FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. The Eucalypt Dilemma. Rome: FAO, 1988.**

**HENNEN, J. F.; HENNEN, M. M.; FIGUEIREDO, M. B. Índice das ferrugens do Brasil. Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo, v. 49, p. 1-201, 1982. Suplemento, 1.**

**HESS, S. L.; ALLEN, P. J.; NELSON, D.; LESTER, H. Mode of action of methyl *cis*-ferulate, the self-inhibitor of stem rust uredospore germination. Physiological Plant Pathology, London, v. 5, n. 2, p. 107-112, 1975.**

**JOFFILY, J. Ferrugem do eucalipto. Bragantia, Campinas, v. 4, p. 475-487, 1944.**

**KELLY, S. Eucalypt. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1993.**

**MACKO, V.; ALLEN, P. J.; RENWICK, J. A. A. Identification of the germination self-inhibitor from wheat stem rust uredospores. Science, Washington, v. 173, n. 3999, p. 835-836, Aug. 1971.**

**MACKO, V.; STAPLES, R. C.; GERSON, H.; RENWICK, J. A. A. Self-inhibitor of bean rust uredospores: methyl 3,4-dimethoxycinnamate. Science, Washington, v. 170, n. 3957, p. 539-540, Oct. 1970.**

**MACKO, V.; STAPLES, R. C.; RENWICK, J. A. A. Germination self-inhibitor of sunflower and snapdragon rust uredospores. Phytopathology, St. Paul, v. 61, n. 8, p. 902, Aug. 1971.**

**MACKO, V.; TRIONE, E. J.; YOUNG, S. A. Identification of the germination self-inhibitor from uredospores of *Puccinia striiformis*. Phytopathology, St. Paul, v. 67, n. 12, p. 1473-1474, Dec. 1977.**

**MACLACHLAN, J. D. A rust of pimento tree in Jamaica. Phytopathology, St. Paul, v. 28, n. 2, p. 157-170, Feb. 1938.**

**MAHESHWARI, R.; ALLEN, P. J.; HILDEBRANDT, A. C. Physical and chemical factors controlling the development of infection structures from urediniospore germ tubes of rust fungi. Phytopathology, St. Paul, v. 57, n. 8, p. 855-862, Aug. 1967.**

MARLATT, R.; KIMBROUGH, J. W. *Puccinia psidii* on *Pimenta dioica* in South florida. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 63, n. 6, p. 510-512, June 1979.

MUSUMECI, M. R.; MORAES, W. B. C.; STPLES, R. C. A self-inhibitor in uredospores of the Coffe rust fungus. **Phytopatology**, St. Paul, v. 64, n. 1, p. 71-73, Jan. 1974.

PIZA, S. M. T.; RIBEIRO, I. J. A Influência da luz e da temperatura na germinação de uredosporos de *Puccinia psidii*. **Bragantia**, Campinas, v. 47, n. 1, p. 75-78, 1988.

RAYACHHETRY, M. B.; VAN, T. K; ELLIOT, M. L.;. Host range of *Puccinia psidii*, a potential Biological control agent of *Malaleuca quinquenervia* in Florida. **Biological Control**, Flórida, v. 22, p. 38-45, July 2001.

RAYACHHETRY, M. B.; ELLIOT, M. L.; VAN, T. K. Natural epiphytotic of the rust *Puccinia psidii* in *Malaleuca quinquenervia* in Florida. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 7, p. 831, July 1997.

REVISTA DA MADEIRA. Curitiba: arte e produção, 2001. Especial.

RUIZ, R. A. R.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; VALE, F. X. R. Influência da temperatura, do tempo de molhamento foliar, fotoperíodo e da intensidade de luz sobre a infecção de *Puccinia psidii* em eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 1, p. 55-61, mar. 1989.

SILVEIRA, V. D. Elementos de Fitopatologia: *Puccinia psidii*, ferrugem das mirtáceas. **Agronomia**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 218-224, out./dez. 1951.

STUDY of pimento rust. **Review Applied Mycology**, Farnhan Royal, v. 45, n. 8, 393, Aug. 1966.

TESSMANN, D. J. Epidemiologia da ferrugem (*Puccinia psidii* Winter) do jambeiro e estudos sobre a germinação do seus urediniósporos. 1992. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Brasília, Brasília, DF.

VIÉGAS, A. P. Índice das ferrugens da América do Sul. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 1991. 921 p.

XAVIER, A. A.; MATSUOKA, K.; ALFENAS, A. A. Variedade fisiológica de *Puccinia psidii* em *Eucalyptus grandis*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 25, p. 434, ago. 2000. Suplemento.



## CAPÍTULO 2

### 1 RESUMO

FURTADO, Gleiber Quintão. Germinação *in vitro* de urediniósporos de *Puccinia psidii*. Lavras: UFLA, 2002. 16p. (Dissertação – Mestrado em Fitopatologia)\*

Este trabalho objetivou estudar a porcentagem de germinação de urediniósporos de *P. psidii* em água e óleo mineral. Utilizou-se uma suspensão de  $2 \times 10^4$  esporos/mL de água e óleo. O delineamento foi inteiramente casualizado. Para água utilizou-se o fatorial  $4 \times 5$ , nas temperaturas de 10, 15, 20 e 25 °C, com urediniósporos coletados aos 10, 14, 17, 24 e 31 dias após a inoculação (d.a.i), com 9 repetições. Para a germinação em óleo, adotou-se o fatorial  $4 \times 5 \times 3$ , acrescentando as avaliações com 12, 24 e 48 horas de incubação, sendo três repetições. Cada parcela foi constituída de placa-de-Petri contendo ágar-água (2%). Os dados foram transformados para  $\arcsen \sqrt{x/100}$ , para estabilização da variância. Em óleo, realizou-se análise de regressão para as variáveis quantitativas. Para as avaliações realizadas com 12, 24 e 48 horas, observou-se acréscimo na germinação até as temperaturas 17,3; 17,84 e 17,76 °C, respectivamente, sendo a germinação de 0,54; 0,62 e 0,64%. A máxima e a mínima germinação dos urediniósporos foram detectadas ao se utilizarem esporos com 10 e 31 d.a.i.. Para a germinação em água foi feito teste de média. As coletas de urediniósporos realizadas com 24 dias e temperatura de 15 °C propiciaram maior germinação. Esses resultados indicam uma provável dissolução dos inibidores em contato com o óleo mineral. Os esporos mais novos proporcionaram maiores porcentagens de germinações em óleo, possivelmente por apresentarem maior quantidade de substâncias autoinibidoras.

---

\* Orientador: Hilário Antônio de Castro; co-orientador: Edson Ampélio Pozza

## 2 ABSTRACT

FURTADO, Gleiber Quintão. *In vitro* germination of urediniospores of *Puccinia psidii*. Lavras: UFLA, 2002. 16p. Dissertation (Master in Phytopathology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG\*

This work designed to study the germination of urediniospores of *P. psidii* in water and mineral oil multiplied in rose apple plants (*Syzygium jambos*). A  $2 \times 10^4$  spores/mL of water and mineral oil of 10, 14, 17, 24 and 31 days after inoculation (d.a.i.) at the temperatures of 10, 15, 20 and 25 °C and percentage of germination evaluated after 12, 24 and 48 hours' incubation. The design was completely randomized in a  $5 \times 2 \times 4$  factorial scheme and three replicates. Each plot was made up of Petri dish containing agar-water (2%). The data were transformed to arcsine  $\sqrt{x/100}$  before proceeding variance analysis. Regression analysis for the quantitative variables was performed. To the evaluations performed at 12, 24 and 48 hours, an increase in germination up to the temperatures of 17.3, 17.84, 17.76 °C, respectively, the germination being of 0.54, 0.62, 0.64%. The maximum and minimum germination of urediniospores was detected on utilizing spores of 10 and 31 d.a.i. An increase in germination in oil relative to water for all the times and temperatures studied was noticed. Those results point to a probable dissolution of the inhibitors in contact with mineral oil. In general, the youngest spores provided greater germination, possibly, for presenting a lower amount of self-inhibiting substances.

---

\*Adviser: Hilário Antônio de Castro; co-adviser: Edson Ampélio Pozza.

### 3 Introdução

A aleatoriedade na germinação dos esporos das espécies de Uredinales é devida, muitas vezes, à presença de fatores endógenos como inibidores e promotores, e também a propriedades da superfície do hospedeiro, tornando os resultados de bioensaios inconsistentes (Figueiredo & Carvalho, 1994; Maheshwari et al., 1967). No entanto, a idade dos esporos e fatores ambientais, tais como temperatura, também podem influenciar a germinação.

Os esporos de *P. psidii* coletados aos 14 e 21 dias em jambeiro e goiabeira, respectivamente, tiveram maior porcentagem de germinação. Para as estruturas com 14 dias, a melhor germinação ocorreu sob temperaturas de 18°C, apresentando 33% de germinação e 21°C, com 38% dos urediniósporos germinados (Aparecido et al., 2000a e b). Os melhores índices de germinação de urediniósporos de *P. psidii* foram obtidos em temperaturas de 15 °C (Ferreira, 1983; Aparecido et al., 2000a), 16 °C (Study..., 1966) e 18 °C (Piza & Ribeiro, 1988).

Outros fatores, como hidrocarbonetos, presentes nas ceras das superfícies das folhas e no óleo mineral, favoreceram o desenvolvimento de estruturas de infecção de urediniósporos de espécies de ferrugens, quando testados em membranas artificiais (Maheshwari et al., 1967).

Tessmann (1992) obteve 0,25% de germinação de urediniósporos de *P. psidii* em água destilada, enquanto em óleo mineral, em temperaturas de 14 e 22 °C, foram de 7,75 e 15%, respectivamente. O mesmo autor inoculou folhas jovens de jambeiro com suspensões de urediniósporos de *P. psidii* com 0,5 e 100 mg de esporos/mL em óleo mineral puro ou água + Tween e observou, para a última substância, menor número de soros nas folhas quando inoculadas com a maior concentração. Esses resultados revelam a presença de autoinibidores da germinação. O óleo mineral proporcionou maior número de soros com a maior

concentração, sugerindo-se a dissolução do autoinibidor pelo óleo. Notou-se também que o autoinibidor, extraído de urediniósporos de *P. psidii* com uma mistura de óleo mineral e octanol  $10^{-4}$ M, inibiu completamente a germinação dos esporos *in vitro*.

A germinação dos urediniósporos da maioria das ferrugens é autoinibida, quando em elevada densidade, devido à liberação dessa substância inibidoras em solução aquosa (Bell & Daly, 1962).

Assim sendo, o objetivo do trabalho foi estudar o comportamento da germinação dos urediniósporos de *P. psidii* de diferentes idades e quando submetidos a diferentes temperaturas, em água e óleo mineral, com o intuito de conhecer as condições favoráveis ao desencadeamento da doença.

#### 4 Material e Métodos

O inóculo inicial foi obtido em plantas de jambeiro (*Syzygium jambos* (L.) Alston) infectadas naturalmente por *Puccinia psidii*, provenientes de Carmo do Paranaíba, Minas Gerais. A multiplicação e manutenção foram realizadas em mudas do próprio hospedeiro. Para isso, os urediniósporos foram aplicados a seco, na face adaxial de folhas novas, de coloração arroxeadada, com pincel nº 6. Em seguida, aplicou-se água com auxílio de pulverizador manual, criando condições favoráveis à germinação. Manteve-se a planta em câmara úmida durante as 24 horas de escuro e temperatura de  $20 \pm 2$  °C. Após esse fase, permaneceram em fotoperíodo de 12 horas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado para o estudo de germinação de urediniósporos em água e óleo. Para o primeiro usou-se fatorial 4 x 5, em quatro temperaturas (10, 15, 20 e 25 °C), cinco épocas de coleta do esporo (10, 14, 17, 24 e 31 d.a.i) e 9 repetições. Para o estudo da germinação em óleo, utilizou-se o fatorial 4 x 5 x 3, acrescentando três avaliações, realizadas com 12, 24 e 48 horas de incubação. Foram avaliadas três placas para cada tratamento. Cada repetição consistiu em uma placa. A porcentagem de germinação, tanto em água como em óleo, foi transformada para  $\arcsen \sqrt{x/100}$  para estabilização das variâncias, seguida do teste de médias de Scott e Knott para germinação em água e análise regressão múltipla para germinação em óleo.

Para estudar o efeito da idade dos urediniósporos na germinação, os mesmos foram inoculados em cinco mudas de jambeiro, conforme metodologia descrita anteriormente. A coleta foi feita aos 10, 14, 17, 24 e 31 dias após a inoculação. As estruturas infectivas produzidas foram coletadas em placas-de-Petri com auxílio de um pincel. Esse material foi posteriormente utilizado para montar os testes de germinação.

No teste de germinação *in vitro*, utilizou-se suspensão de  $2 \times 10^4$  urediniósporos de *P. psidii* /mL. Foram feitos dois tratamentos: água + Tween 80 a 0,05% e óleo mineral Nujol® (Schering S.A. Rio de Janeiro, RJ). Uma alíquota de 1 mL para água e 0,5 mL para óleo mineral foi espalhada com auxílio de alça de Drygalsky em placas-de-Petri de 12 cm de diâmetro contendo meio água-ágar (2%). As placas, previamente envoltas por papel toalha molhado e papel alumínio, foram mantidas em câmaras climatizadas com temperaturas de 10, 15, 20 e 25 °C, no escuro. Avaliou-se a porcentagem de urediniósporos germinados em 200 esporos tomados ao acaso sob microscópio ótico com objetiva 10x, em 3 repetições. O urediniósporo foi considerado germinado quando o tubo germinativo apresentou o comprimento maior que o diâmetro do esporo (Pritchard & Bell, 1967).

## 5 Resultados e Discussão

### 5.2 Germinação de *Puccinia psidii* em óleo

Houve interação significativa entre a temperatura e o horário de avaliação (Tabela 5A). Para as avaliações realizadas com 12, 24 e 48 horas, os pontos de máximas germinações ocorreram nas temperaturas de 17,3, 17,84 e 17,76 °C, respectivamente, sendo a germinação de 0,54; 0,62 e 0,64% (Figura 1) e (Tabela 1).

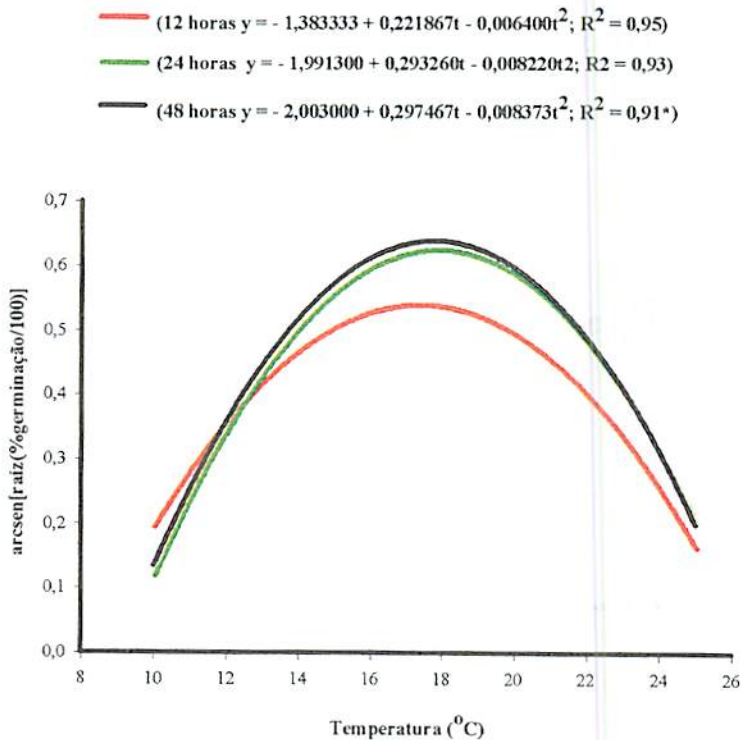


FIGURA 1. Porcentagem de germinação dos urediniosporos de *P. psidii* em óleo mineral submetidos a diferentes temperaturas (\* $P \leq 0,001$ ).

Observou-se interação significativa entre a idade dos esporos (d.a.i.) e as avaliações (Tabela 5A). A máxima e a mínima germinação dos urediniósporos foram detectadas quando foram utilizados esporos com 10 e 31 d.a.i., respectivamente. Para 12, 24 e 48 horas, os esporos com 10 d.a.i. germinaram 0,44; 4,46 e 0,49 %, respectivamente. Para os esporos com 31 d.a.i., a germinação nesses horários foi de 0,21; 0,24 e 0,23 %, respectivamente (Figura 2 e tabela 1).

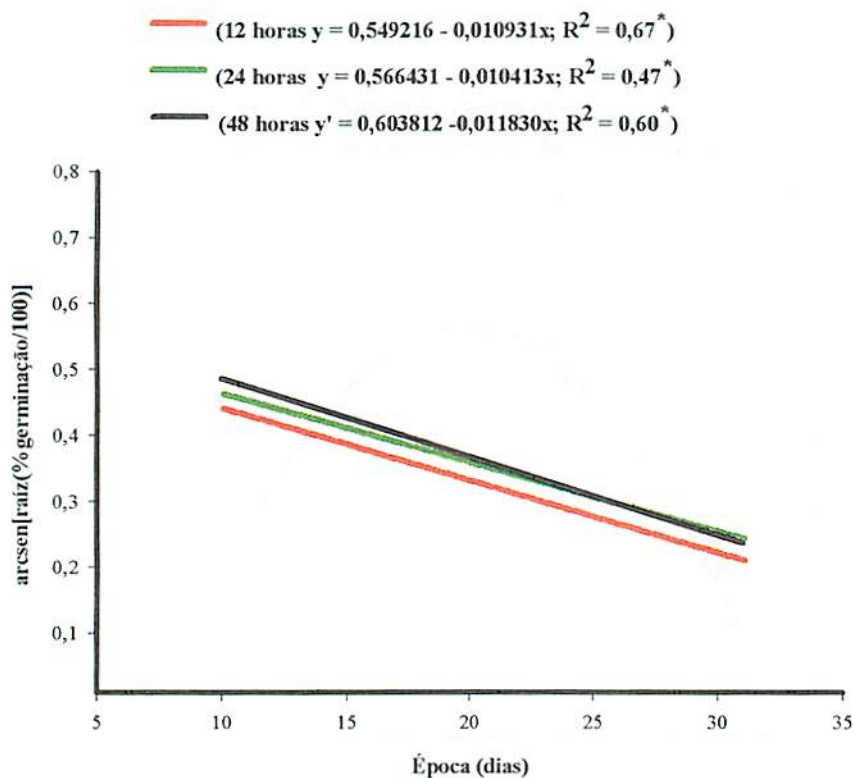


FIGURA 2. Porcentagem de germinação dos urediniósporos de *P. psidii* em óleo mineral coletando esporos em diferentes épocas ( $P \leq 0,001$ ).



TABELA 1. Ponto de máxima germinação, em óleo, para temperatura e coletas

Avaliação (horas)	Temperatura (°C)	Coletas (d.a.i)
12	17,30	10
24	17,84	10
48	17,76	10

d.a.i. - dias após a inoculação

De maneira geral, urediniósporos com idade superior a 10 dias e com temperatura de incubação acima ou abaixo dos pontos de máxima germinação, para cada hora avaliada, apresentaram redução significativa na germinação. Esses resultados podem estar relacionados à presença de substâncias autoinibidoras nos urediniósporos, responsáveis pela inibição da germinação como foi verificado por diversos autores, como Figueiredo et al. (1994 e 1995), Tessmann (1992), Macko et al. (1977), Maheshwari & Sussman (1971), Maheshwari et al. (1967), Bell & Daly (1962) e Allen (1955).

Resultados semelhantes foram obtidos por Tessmann (1992), o qual verificou baixos níveis de germinação de urediniósporos de *P. psidii* em água destilada, apenas 0,25%, enquanto, em óleo mineral, nas temperaturas de 14 e 22 °C, obteve 7,75 e 15%.

Tessmann (1992), ao aplicar suspensões de urediniósporos de *P. psidii* com 0,5 e 100mg de esporos/mL em óleo mineral e água + Tween, observou menor número de soros nas folhas inoculadas com esta última substância como agente veiculador. Em óleo mineral, o autor verificou maior número de soros independente da concentração, sugerindo a dissolução do autoinibidor pelo óleo.

Aparentemente, as maiores taxas de germinações dos urediniósporos mais novos em óleo mineral podem estar relacionados à presença de maior concentração das substâncias inibidoras, potencializando a dissolução desses compostos e aumentando a germinação.

## 5.2 Germinação de *Puccinia psidii* em água

Em geral, para as épocas estudadas, a temperatura de 15 °C proporcionou maiores germinações (Figura 3). Nas temperaturas 10, 20 e 25 °C, foram detectadas as menores taxas de germinação nas épocas de coleta 14, 17, 24 e 31 dias. Aos 10 dias, à temperatura de 20 °C, a germinação comportou-se de maneira intermediária (Figura 4).

Os resultados obtidos assemelham-se aos encontrados por Aparecido et al. (2000a) segundo os quais as melhores temperaturas para germinação dos esporos de *P. psidii* provenientes de jambeiro foram de 15 a 21°C, e quando coletados entre 10 e 21 d.a.i, respectivamente. Esses mesmos autores verificaram, para esporos com idade de 28 a 34 dias, que a germinação foi baixa ou nula, em torno de 1% e 0%, respectivamente.

Para os esporos com 24 dias mantidos a 15 °C, foi registrada a maior porcentagem de germinação: de 20,31% (Figura 3). Aparecido et al. (2000b) também verificaram melhores índices de germinação para urediniósporo obtidos de goiabeira na temperatura de 15 °C com 21 d.a.i., corroborando os resultados observados.

Os melhores índices de germinação de urediniósporos de *P. psidii* foram obtidos nas temperaturas de 15 °C (Ferreira, 1983), 16 °C (Anônimo,1966) e 18 °C (Piza & Ribeiro,1988).

Resultados diferentes dos obtidos foram verificados por Tessmann (1992) ao estudar a germinação dessas estruturas aos 12 d.a.i. em água, o qual observou uma baixa germinação (0,25%) nas temperaturas de 14 e 22 °C.

Estudando o binômio temperatura e tempo de água líquida para infecção de *P. psidii* em *E. grandis*, Ruiz et al. (1989) verificaram o máximo de infecção nas temperatura de 20 e 25 °C e 24 horas de câmara úmida.

Esses resultados sugerem a realização de novos estudos visando o conhecimento da natureza química dessas substâncias que inibem a germinação e o seu papel na interação planta-patógeno.

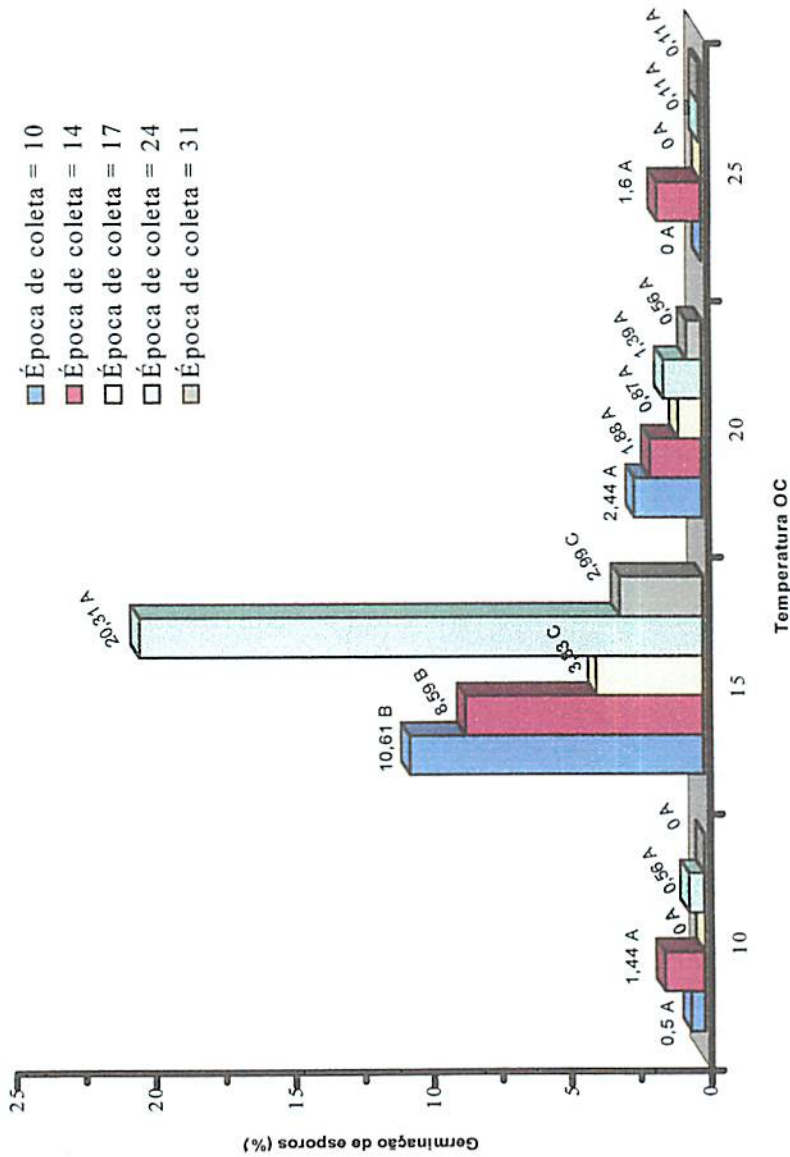


FIGURA 3. Germinação média de uredinósporos de *P. psidii* em água, em função da temperatura e da época de coleta. \* Médias seguidas pela mesma letra em cada época de coleta não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott a  $P < 0,05$ .

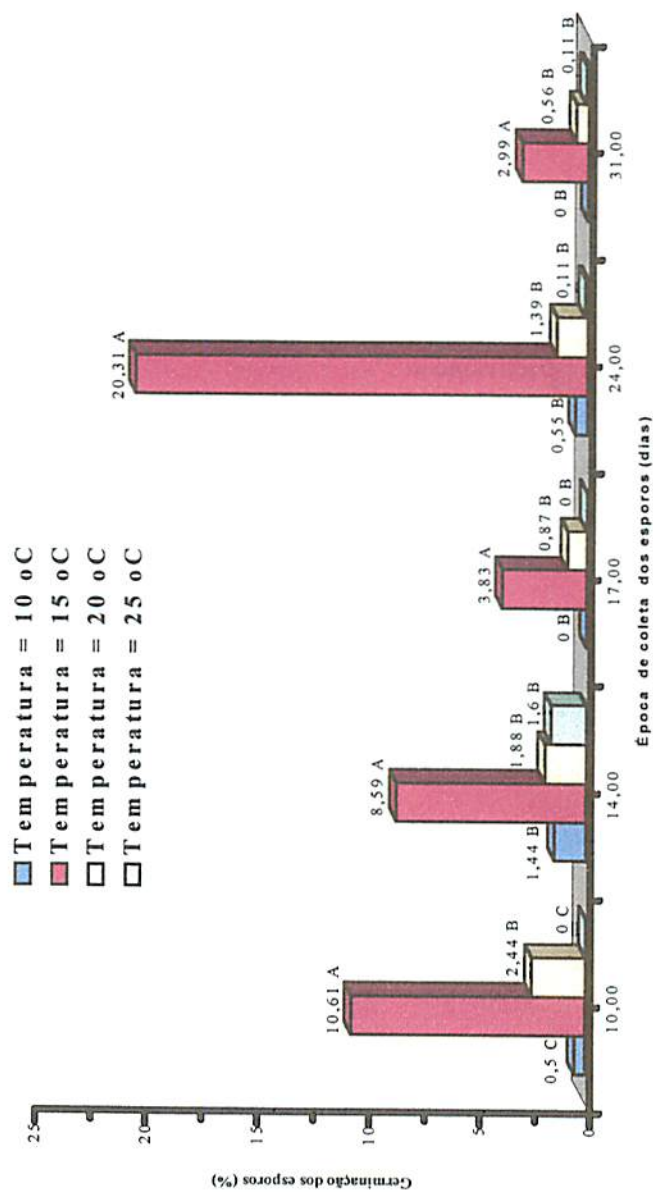


FIGURA 4. Germinação média de uredinósporos de *P. psidii* em água, em função da época de coleta e da temperatura. \* Médias seguidas pela mesma letra em cada temperatura não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott a  $P < 0,05$ .

## 6 Conclusões

- Em óleo mineral, o melhor momento para avaliar a germinação dos urediniósporos de *P. psidii* foi com 48 horas após a incubação;
- Em óleo mineral, a maior germinação ocorreu na temperatura de 17 °C;
- Em água, houve maior germinação na temperatura de 15 °C;
- Em óleo mineral, a melhor e a pior idade dos esporos para germinação foram aos 10 e 31 dias após a inoculação, respectivamente;
- Urediniósporos coletados 24 dias após a inoculação proporcionaram maiores porcentagens de germinação;
- As temperaturas extremas testadas geraram as menores porcentagens de germinação.

## 7 Referências Bibliográficas

- ALLEN, P. J. The role of a self-inhibitor in the germination of rust uredospores. *Phytopathology*, St. Paul, v. 45, n. 5, p. 259-266, May 1955.
- APARECIDO, C. C.; FIGUEIREDO, M. B.; FURTADO, E. L. Efeito da idade e da temperatura na germinação de urediniosporos de *Puccinia psidii*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 26, n. 1, p. 102, jan./mar. 2000a.
- APARECIDO, C. C.; FIGUEIREDO, M. B.; FURTADO, E. L. Efeito da idade e da temperatura na germinação de urediniosporos de *Puccinia psidii* coletados de goiabeira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza. Resumos... Fortaleza, SBF, 2000b. p. 293.
- BELL, A. A.; DALY, J. M. Assay and partial purification of self-inhibitors of germination from uredospores of the bean rust fungus. *Phytopathology*, St. Paul, v. 52, n. 3, p. 261-266, Mar. 1962.
- FERREIRA, F. A. Ferrugem do eucalipto. *Revista Árvore*, Viçosa, v. 7, n. 2, p. 91-109, jul./dez. 1983.
- FIGUEIREDO, M. B.; CARVALHO JR, A. A. Efeito da lavagem dos soros na germinação dos soros telióides de *Puccinia pampeana*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 20, n. 1/2, p. 101-104, jan./jun. 1994.
- FIGUEIREDO, M. B.; CARVALHO JR, A. A. Presença de auto-inibidor nos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* e o seu papel na sobrevivência da espécie. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 21, n. 3/4, p. 229-234, jul./dez. 1995.
- MACKO, V.; TRIONE, E. J.; YOUNG, S. A. Identification of the germination self-inhibitor from uredospores of *Puccinia striiformis*. *Phytopathology*, Sst. Paul, v. 67, n. 12, p. 1473-1474, Dec. 1977.
- MAHESHWARI, R.; ALLEN, P. J.; HILDEBRANDT, A. C. Physical and chemical factors controlling the development of infection structures from urediniospore germ tubes of rust fungi. *Phytopathology*, St. Paul, v. 57, n. 8, p. 855-862, Aug. 1967.

MAHESHWARI, R.; SUSSMAN, A. S. The nature of cold induced dormency in urediniósporos of *Puccinia graminis trici*. *Plant Physiology*, Rockville, v. 47, p. 289-295, Feb. 1971.

PIZA, S. M. T.; RIBEIRO, I. J. A Influência da luz e da temperatura na germinação de uredosporos de *Puccinia psidii*. *Bragantia*, Campinas, v. 47, n. 1, p. 75-78, 1988.

PRITCHARD, N. J.; BELL, A. A. Relative activity of germination inhibitors from spores of rust and smut fungi. *Phytopathology*, St. Paul, v. 57, n. 9, p. 932-934, Sept. 1967.

RUIZ, R. A. R.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; VALE, F. X. R. Influência da temperatura, do tempo de molhamento foliar, fotoperíodo e da intensidade de luz sobre a infecção de *Puccinia psidii* em eucalipto. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 14, n. 1, p. 55-61, mar. 1989.

STUDY of pimento rust. *Review Applied Mycology*, Farnham Royal, v. 45, n. 8, 393, Aug. 1966.

TESSMANN, D. J. Epidemiologia da ferrugem (*Puccinia psidii* Winter) do jambeiro e estudos sobre a germinação do seus urediniósporos. 1992. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Brasília, Brasília, DF.



## CAPÍTULO 3

### 1 RESUMO

FURTADO, Gleiber Quintão. Variabilidade fisiológica de *Puccinia psidii* Winter em *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus urograndis*. 2002. 21 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG\*

A variabilidade fisiológica no patossistema *Puccinia psidii* - eucalipto foi estudada utilizando oito isolados coletados de jambeiro, goiabeira e pitanga preta, provenientes de diferentes regiões do estado de Minas Gerais e São Paulo e inoculados em *Eucalyptus grandis* e *E. urograndis*. Uma suspensão de  $2 \times 10^4$  esporos/mL foi pulverizada nas plantas testadas. As variáveis avaliadas foram frequência de infecção, incidência de ferrugem, período de geração, número de pústulas e área abaixo da curva do progresso do número de pústulas. Para *E. grandis*, em geral, os isolados mais virulentos foram JMG<sub>1</sub>, JMG<sub>2</sub>, EMG<sub>1</sub>, JMG<sub>3</sub>, EMG<sub>2</sub> e JSP, enquanto GMG e EMG<sub>3</sub> apresentaram reação de hipersensibilidade e baixo número de pústulas, respectivamente, comportando-se como a testemunha. Para *E. urograndis* não houve efeito dos isolados em relação à frequência de infecção e área abaixo da curva do progresso do número de pústulas. Porém, para a variável número de pústulas observaram-se isolados mais severos. Em relação aos eucaliptos utilizados, verificou-se maior suscetibilidade em *E. grandis* quando comparado com o híbrido *E. urograndis*. Esses resultados mostram uma complexidade na relação patógeno/hospedeiro devido a diferentes respostas observadas neste trabalho. Desta forma, verificou-se a existência de especializações fisiológicas nessa espécie.

---

\*Orientador: Hilário Antônio de Castro; co-orientador: Edson Ampélio Pozza

## 2 ABSTRACT

FURTADO, Gleiber Quintão. **Physiological variability of *Puccinia psidii* Winter in *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urograndis*. 2002. 21 p. Dissertation (Master in Phytopathology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\***

The physiological variability in the *Puccinia psidii*-Eucalyptus pathosystem was investigated by utilizing eight isolates collected from the rose apple, guava and pitanga preta trees from different regions in the state of Minas Gerais and São Paulo and inoculated in *Eucalyptus grandis* and *E. urograndis*. A  $2 \times 10^4$  suspension was sprayed on the tested plants. The evaluated variables were infection frequency, rust incidence, generation period, number of pustules, average latent period and area below the curve of the progress of the pustule number. In *E. grandis*, in general, the most virulent isolates were JMG<sub>1</sub>, JMG<sub>2</sub>, EMG<sub>1</sub>, JMG<sub>3</sub>, EMG<sub>2</sub> and JSP whilst GMG and EMG<sub>3</sub> presented hypersensitivity reaction and low number of pustules, respectively, behaving as the check. To *E. urograndis*, there was no effect of the isolates relative to infection frequency, incidence and area below the curve of the progress of the number of pustules. But to the variable number of pustules, more severe isolates were observed. In relation to the eucalyptus utilized, greater susceptibility in *E. grandis* as compared with the hybrid *urograndis* was found. Those results showed a complexity relative in the pathogen/host relationship, due to different responses observed in this work. Thus, the existence of physiological specializations in that species was verified.

---

\*Orientador: Hilário Antônio de Castro; co-orientador: Edson Ampélio Pozza

### 3 Introdução

O *Eucalyptus* é considerado o gênero das espécies arbóreas mais plantado no mundo devido ao grande número de espécies, em torno de 672, e pela sua habilidade para se adaptar a diferentes sítios e por gerar madeira para diferentes usos (FAO, 1988; Revista..., 2001). Em 1999, a área reflorestada com essa essência florestal para produzir carvão e celulose foi de 30.000 e 107.000 hectares, respectivamente, e foram exportadas 2.337.854 toneladas de produtos florestais (Agrianual, 2002).

A partir da década de 70, o aumento das áreas reflorestadas para regiões mais quentes e úmidas e a utilização intensiva de uma mesma área de plantio com espécies suscetíveis favoreceram a ocorrência de doenças. Dentre essas destaca-se a ferrugem das mirtáceas, cujo agente etiológico é o fungo *Puccinia psidii* Winter (MacLachlan, 1938). Esse patógeno é parasita obrigatório, infecta folhas jovens e terminais de galhos, causa deformações, morte, perda de dominância apical e redução no crescimento (Alfenas et al., 1989).

O fato de *P. psidii* ser o mais importante representante da ordem Uredinales, sendo capaz de causar infecção em diversas espécies de mirtáceas, sugere a existência de variabilidade fisiológica (MacLachlan, 1938). De acordo com esse autor, os urediniósporos provenientes de *Pimenta officinalis* não infectaram jambeiro (*Syzygium jambos*), mas infectaram *Pimenta acris*, enquanto o isolado obtido de jambeiro foi compatível apenas com esta espécie e *Eugenia malaccensis*. O inóculo proveniente da goiabeira infectou três variedades diferentes de goiabeira e *Eucalyptus cloeziana*, mas foi incompatível com *E. grandis* e jambeiro. Os urediniósporos obtidos em jambeiro foram compatíveis apenas com plantas do hospedeiro original e *E. cloeziana*. Castro et al. (1983), ao inocularem urediniósporos provenientes desta última espécie de eucalipto, observaram incompatibilidade exclusivamente com as variedades de

reação de compatibilidade apenas com estas hospedeiras, não sendo capazes de infectar jameiro e *E. grandis* (procedência África do Sul).

O objetivo desse trabalho foi estudar a variabilidade fisiológica de *P. psidii* obtido de diferentes regiões geográficas e/ou hospedeiros, utilizando como plantas teste *E. grandis* (procedência África do Sul) e *E. urograndis*.

## 4 Material e Métodos

### 4.1 Implantação do experimento

O experimento foi realizado em sala climatizada do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras. Para os trabalhos com o patógeno, foi utilizado o Laboratório de Patologia Florestal e Ecologia e Sistemática de Fungos – DFP.

Foram utilizadas mudas de *Eucalyptus grandis*, oriundas da África do Sul e de um clone (*E. urograndis*), obtido do cruzamento entre *E. grandis*, de procedência Coff's Harbour, e *E. urophylla*, de procedência do Timor. As mudas de *E. grandis* foram produzidas por semeadura direta em sacos plásticos de 17 x 7 cm, contendo a mistura de solo e esterco de curral (3:1) tratado com brometo de metila (80mL/m<sup>3</sup>). O material clonal foi propagado vegetativamente pela empresa Votorantim S.A. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação e adubadas a cada 20 dias com fertilizantes via solo. Foram efetuadas podas sucessivas para obtenção de plantas com 30 a 35 cm de altura e lançamentos vegetativos.

### 4.2 Obtenção, multiplicação e manutenção dos isolados de *Puccinia psidii*

Os isolados foram obtidos em plantas da família Myrtaceae, infectadas naturalmente, provenientes de diferentes regiões do estado de Minas Gerais e São Paulo (Tabela 1).

Posteriormente, os isolados foram inoculados nas hospedeiros. Para obter cultura monopustular dos isolados, selecionou-se uma única pústula uredinial, isolada no limbo foliar, e utilizaram-se esses urediniósporos para as inoculações posteriores.

TABELA 1- Relação do isolados de *Puccinia psidii*

Isolado	Hospedeiro	Procedência
JMG <sub>1</sub>	<i>Syzygium jambos</i>	Lavras/ MG
JMG <sub>2</sub>	<i>Syzygium jambos</i>	Viçosa/ MG
JMG <sub>3</sub>	<i>Syzygium jambos</i>	Carmo do Paranaíba/MG
JSP <sub>1</sub>	<i>Syzygium jambos</i>	Piracicaba/ SP
GMG <sub>1</sub>	<i>Psidium guajava</i>	Lavras/ MG
EMG <sub>1</sub>	<i>Eugenia florida</i>	Itumirim/ MG
EMG <sub>2</sub>	<i>Eugenia florida</i>	Ingai/ MG
EMG <sub>3</sub>	<i>Eugenia florida</i>	Lavras/ MG

Nas inoculações, os urediniósporos procedentes de goiabeira (*Psidium guajava*) foram multiplicados em plantas desta hospedeira, variedade Paluma, e os obtidos de jameiro (*Syzygium jambos*) e pitanga preta (*Eugenia florida*) em jameiros. Os esporos de ambos os isolados foram aplicados a seco, na face adaxial das folhas novas, utilizando pincel nº6; em seguida pulverizou-se água nos limbos foliares. As plantas foram mantidas em câmara úmida e no escuro por 24 horas, sob temperatura de  $20 \pm 2$  °C, e posteriormente permaneceram no mesmo ambiente, porém com fotoperíodo de 12 horas. Após 8-14 dias da inoculação, dependendo do isolado, foram coletados os urediniósporos de *P. psidii*, com auxílio de pincel, em placa-de-Petri. Os urediniósporos obtidos foram utilizados para reinoculações ou armazenados a -80 °C.

#### 4.3 Metodologia de inoculação

Após a coleta dos urediniósporos, estes foram dispersos em Erlenmeyer contendo a mistura água + Tween 80 a 0,05% e homogeneizados em agitador magnético tipo vortex por cinco minutos. A suspensão foi ajustada para  $2 \times 10^4$  esporos/mL e atomizada nas superfícies abaxial e adaxial do par de folha

previamente marcado, com cerca de 50% de seu desenvolvimento completo, até atingir o ponto de escorrimento. Após a inoculação, as plantas permaneceram em sala climatizada com temperatura de  $20 \pm 2$  °C, sendo as primeiras 24 horas sob câmara úmida e escuro. Para a criação da câmara úmida, as plantas inoculadas com o mesmo isolado foram acondicionadas em caixas plásticas, estruturadas com estacas de bambu e revestidas com saco plástico umedecido. Após este período, o fotoperíodo foi mantido em 12 horas, com umidade relativa de  $70 \pm 10\%$ .

#### **4.4 Avaliação dos resultados**

As avaliações foram feitas no par de folhas marcados no momento da inoculação. Foram avaliados a frequência de infecção, a incidência da ferrugem, o número de pústulas, o período de geração, e também a AACPNP (área abaixo da curva do progresso do número de pústulas). A frequência de infecção foi avaliada utilizando um quadrado de 3 cm<sup>2</sup>, colocado no centro da folha, e foi contado o número de pústulas no seu interior. A observação da incidência da ferrugem consistiu da avaliação da presença ou ausência da esporulação do patógeno em cada folha marcada. O número de pústulas foi medido do 7º ao 17º dia após a inoculação (d.a.i), e o período de geração, pelo tempo decorrido desde a inoculação até o surgimento dos primeiros sinais do patógeno (urediniosporos). Para o cálculo da AACPNP, utilizou-se o Programa de cálculo da área e volume abaixo da curva de progresso da doença (AVACPD).

As variáveis incidência e frequência de infecção foram avaliadas aos 12 d.a.i. e o número de pústulas foi avaliado diariamente, do 7º até o 17º d.a.i.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, num esquema fatorial 9 x 2, sendo oito isolados e uma testemunha e duas espécies de eucalipto. Utilizaram-se quatro repetições, cada uma composta por três plantas de eucalipto. Os dados referentes às variáveis frequência de

infecção, incidência de infecção, período de geração e AACPNP foram transformados para  $\sqrt{x + 0,5}$  e para o número de pústulas  $\log x+1$ , antes de se procederem as análises de variâncias.

Para as variáveis quantitativas foram realizadas análises de regressão; já para as qualitativas, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar a frequência de infecção, verificou-se interação significativa entre os isolados e as plantas testadas (Tabela 1A). O maior número de pústulas foi constatado para os isolados JMG<sub>1</sub>, EMG<sub>1</sub> e JSP (Tabela 2).

TABELA 2. Frequência de infecção de diferentes isolados de *P. psidii* em duas espécies de Eucalipto.

Isolados	Número de pústulas/3cm <sup>2</sup>	
	<i>E. grandis</i>	<i>E. urograndis</i>
JMG <sub>1</sub>	9,00 a A	0,5 a B
JMG <sub>2</sub>	3,5 b A	0,0 a B
EMG <sub>1</sub>	11,9 a A	2,4 a B
JMG <sub>3</sub>	6,6 b A	0,9 a B
EMG <sub>2</sub>	6,1 b A	0,3 a B
GMG	0,0 c A	0,5 a A
JSP	8,8 a A	1,1 a B
EMG <sub>3</sub>	0,3 c A	0,1 a A
Testemunha	0,0 c A	0,0 a A
CV (%)	29,8	43,7

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott e Knott ( $P \leq 0,05$ ).

Para *E. urograndis*, não houve diferença estatística entre isolados, possivelmente devido à resistência deste híbrido a *P. psidii*. Os resultados encontrados para *E. grandis* podem estar relacionados à variabilidade fisiológica existente na população deste patógeno e à suscetibilidade da planta. Ao se analisar o efeito dos isolados entre eucaliptos, apenas os isolados GMG e EMG<sub>3</sub> foram estatisticamente diferentes.

Coelho et al. (2001) também verificaram resposta diferencial para *E. grandis* quando utilizaram ferrugens de diversas localidades e/ou hospedeiros, evidenciando existência da interação isolado-hospedeiro. Castro et al. (1983), trabalhando com quatro diferentes isolados em plantas da família Myrtaceae, verificaram variabilidade fisiológica nos isolados testados provenientes de Belo Oriente/MG e Piracicaba/SP, ou seja, ambos ocasionaram maior frequência de infecção em *E. cloeziana* em relação ao *E. grandis*; já os outros isolados tiveram o mesmo comportamento devido, provavelmente, às respostas quantitativas diferentes entre isolados e hospedeiros. De acordo com Parlevliet (1979), a variável frequência de infecção revela não apenas a resistência a penetração, mas também a resistência à colonização.

Ao avaliar a incidência da ferrugem, verificou-se interação significativa entre os isolados e as plantas testadas (Tabela 2A).

Em *E. grandis*, os isolados JMG<sub>1</sub>, JMG<sub>2</sub>, EMG<sub>1</sub> e JMG<sub>3</sub> geraram maior incidência, com 1,92; 1,75; 2,00 e 1,50 folhas infectadas/planta, respectivamente, seguidos dos isolados EMG<sub>2</sub>, JSP e EMG<sub>3</sub>, com 1,33, 1,08 e 0,83 de folhas infectadas/planta. O inóculo GMG não diferiu da testemunha. Em *E. urograndis*, não foi constatada diferença significativa entre os isolados testados, sendo este semelhante à testemunha. Provavelmente, esse resultado está relacionado à resistência desse material (Tabela 3).

Os isolados JMG<sub>1</sub>, JMG<sub>2</sub>, EMG<sub>1</sub> e EMG<sub>2</sub> induziram maior incidência de ferrugem em *E. grandis* em relação ao *E. urograndis*. No entanto, os isolados JMG<sub>3</sub>, GMG, JSP e EMG<sub>3</sub> tiveram comportamentos semelhantes. Esses resultados demonstraram a existência de especialização de *P. psidii* em relação aos hospedeiros.

Ao trabalharem com essa variável, Castro et al. (1983) não verificaram diferenças na interação isolado-hospedeiro, porém utilizaram metodologia

diferente, considerando a incidência de ferrugem por planta e não em folhas marcadas previamente.

TABELA 3. Incidência de infecção de diferentes isolados de *P. psidii* em duas espécies de Eucalipto.

Isolado	Número de folhas infectadas/ planta	
	<i>E. grandis</i>	<i>E. urograndis</i>
JMG <sub>1</sub>	1,92 a A	0,58 a B
JMG <sub>2</sub>	1,75 a A	0,00 a B
EMG <sub>1</sub>	2,00 a A	0,66 a B
JMG <sub>3</sub>	1,50 a A	0,67 a A
EMG <sub>2</sub>	1,33 b A	0,41 a B
GMG	0,00 c A	0,16 a A
JSP	1,08 b A	0,41 a A
EMG <sub>3</sub>	0,83 b A	0,16 a A
Testemunha	0,00 c A	0,00 a A
CV(%)	17,22	24,53

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott e Knott ( $P \leq 0,05$ ).

Para o período de geração, não se constatou diferença significativa na interação entre isolado e plantas somente entre eucaliptos (Figura 3A). Entretanto, o surgimento de pústulas no híbrido urograndis foi estatisticamente mais tardio em relação ao *E. grandis*, sendo, em média, de 10,33 e 9,08 dias, respectivamente. O resultado pode ser devido à resistência do híbrido aos isolados utilizados, dificultando a colonização do patógeno.

Coelho et al. (2001) não verificaram diferença significativa entre o aparecimento das primeiras pústulas nas plantas testadas, sendo esse resultado semelhante ao obtido. No entanto, a utilização dessa variável não possibilitou

detectar variabilidade fisiológica dos isolados, mas possibilitou observar resistência e suscetibilidade dos materiais vegetais possivelmente devido a diferenças na composição químicas e/ou físicas desses hospedeiros.

Ao avaliar o número de pústulas, observou-se interação significativa entre os isolados e as plantas testadas (Tabela 4A). Ao se analisar o número de pústulas de diferentes isolados de *P. psidii* nos eucaliptos utilizados, notou-se, em *E. grandis*, maior quantidade de soros em JMG<sub>1</sub> e JSP, em média 27,22 e 29,05 pústula/folha, enquanto GMG e EMG<sub>3</sub> comportaram-se igualmente à testemunha, com um número de soros 0,0; 1,34 e 0,0, respectivamente (Tabela 4).

TABELA 4. Número de pústulas de diferentes isolados de *P. psidii* em duas espécies de Eucalipto.

Isolados	Número de pústulas/folha	
	<i>E. grandis</i>	<i>E. urograndis</i>
JMG <sub>1</sub>	27,22 a A	3,13 a B
JMG <sub>2</sub>	13,89 b A	0,22 c B
EMG <sub>1</sub>	19,09 b A	5,67 a B
JMG <sub>3</sub>	21,59 b A	2,24 b B
EMG <sub>2</sub>	21,92 b A	1,10 b B
GMG	0,00 c B	2,90 b A
JSP	29,05 a A	1,44 b B
EMG <sub>3</sub>	1,34 c A	0,26 c B
CV(%)	59,93	72,03

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott e Knott ( $P \leq 0,05$ ).

Todavia, por se tratar de um material clonal, essa diferença observada para severidade provavelmente está relacionada com a variabilidade do patógeno.

Os demais isolados apresentaram número de pústulas intermediário, com média de 19,12. No *E. urograndis*, maior número de pústulas foi detectado para os isolados JMG<sub>1</sub> e EMG<sub>1</sub>, 3,13 e 5,67, respectivamente; enquanto os isolados JMG<sub>3</sub>, EMG<sub>2</sub>, JMG e JSP tiveram número de pústulas em torno de 2,24, 1,10, 2,90 e 1,94, respectivamente, diferindo estatisticamente de JMG<sub>2</sub> e EMG<sub>3</sub>, semelhantes à testemunha. Apesar de esse eucalipto ter sido mais resistente, foi possível detectar isolados mais virulentos.

Os isolados JMG<sub>1</sub>, JMG<sub>2</sub>, EMG<sub>1</sub>, JMG<sub>3</sub>, EMG<sub>2</sub>, JSP e EMG<sub>3</sub> proporcionaram aumento significativo do número de pústula no *E. grandis* quando comparado com o híbrido *E. urograndis*. Entretanto, o isolado GMG produziu maior número de pústula no *E. urograndis* em relação a *E. grandis*.

Esses resultados reforçam a existência de especialização fisiológica ao serem realizadas inoculações cruzadas utilizando inóculo obtido de diferentes mirtáceas e/ou regiões geográficas.

Inoculações cruzadas com urediniósporos de goiabeira não infectaram *E. grandis* (Ferreira, 1981). No entanto, Castro et al. (1983) verificaram processo infectivo inoculando *P. psidii* oriundo de goiabeira em *E. grandis*.

Urediniósporos provenientes de *Pimenta officinalis* não infectaram *S. jambos* e *Eugenia malaccensis*, mas foram compatíveis com *P. acris*, enquanto o isolado obtido de *S. jambos* foi compatível apenas com esta espécie e com *E. malaccensis* e não infectou *P. officinales* e *P. acris*, sugerindo variabilidade na população estudada (Maclachlan, 1938).

Notou-se interação significativa entre os isolados e as horas de avaliações (Tabela 4A).

Em geral, observou-se aumento no número de pústulas ao longo das horas avaliadas para todos isolados estudados. Porém, notou-se uma menor agressividade do isolado EMG<sub>3</sub> em relação aos demais (Figura 1).

- JMG<sub>1</sub>  $y = 0,4583 + 0,003213x$ ;  $R^2 = 0,68^*$
- • JMG<sub>2</sub>  $y = 0,02697 + 0,003319x$ ;  $R^2 = 0,87^*$
- EMG<sub>1</sub>  $y = 0,4066 + 0,003256x$ ;  $R^2 = 0,66^*$
- JMG<sub>3</sub>  $y = 0,2785 + 0,003586x$ ;  $R^2 = 0,63^*$
- EMG<sub>2</sub>  $y = 0,2037 + 0,003196x$ ;  $R^2 = 0,63^*$
- JSP  $y = 0,3385 + 0,003301x$ ;  $R^2 = 0,61^*$
- EMG<sub>3</sub>  $y = 0,01032 + 0,001420x$ ;  $R^2 = 0,77^*$

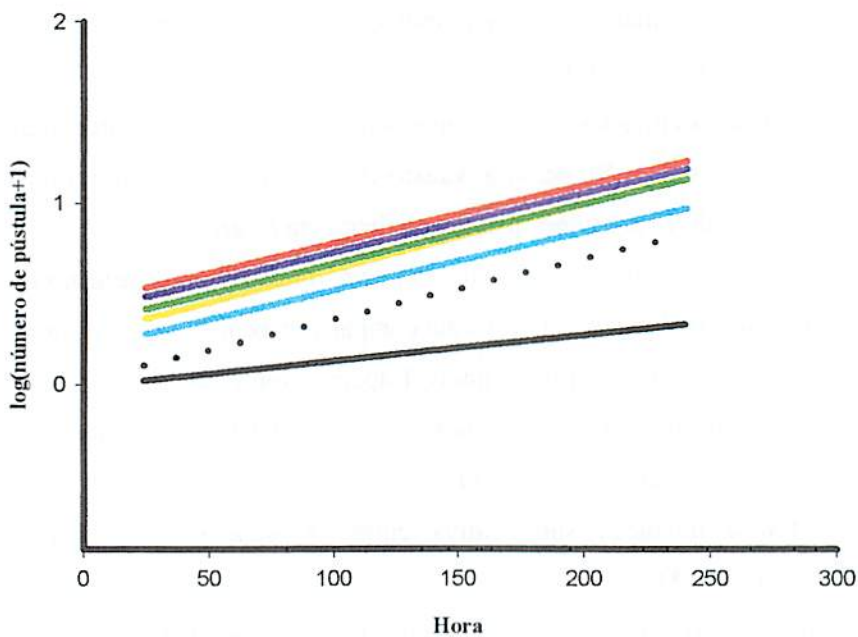


FIGURA 1. Comportamento dos isolados em função da hora de avaliação (\* $P \leq 0,01$ ).

Para o isolado GMG, os modelos testados não explicaram o seu comportamento durante as horas avaliadas. Constatou-se, na avaliação realizada às 24 horas, um maior número de pústulas para os isolados JMG<sub>1</sub> e EMG<sub>1</sub>, enquanto os demais isolados foram semelhantes à testemunha.

Relatou-se diferença significativa entre os isolados na produção de pústulas (Tabela 4A). Os isolados GMG e EMG<sub>3</sub> induziram número significativamente menor de pústulas em comparação com todos os outros isolados (Tabela 5). Possivelmente, esses isolados não tiveram interação compatível com *E. grandis* e *E. urograndis*. Castro & Krünger (1984) e Castro et al. (1984), também por meio de inoculações cruzadas, observaram menor infecção de alguns isolado em procedências de *Eucalyptus*. Em algumas procedências ocorria apenas reação de hipersensibilidade, enquanto, em outras, severa infecção.

TABELA 5. Número de pústulas para diferentes isolados de *P. psidii*.

Isolado	Número de Pústulas
JMG <sub>1</sub>	11,58 a
JMG <sub>2</sub>	7,06 b
EMG <sub>1</sub>	12,38 a
JMG <sub>3</sub>	11,91 a
EMG <sub>2</sub>	11,51 a
GMG	1,45 c
JSP	15,25 a
EMG <sub>3</sub>	0,80 c

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott e Knott ( $P \leq 0,05$ ).

Constatou-se interação estatística entre os eucaliptos e as horas de avaliações (Tabela 4A).

Ao avaliar o comportamento das plantas testados em função da hora de avaliação, verificou-se, para *E. grandis* e *E. urograndis*, que o número de pústulas aumentou com o tempo. No entanto, este aumento foi menos acentuado no *E. urograndis* (Figura 2).

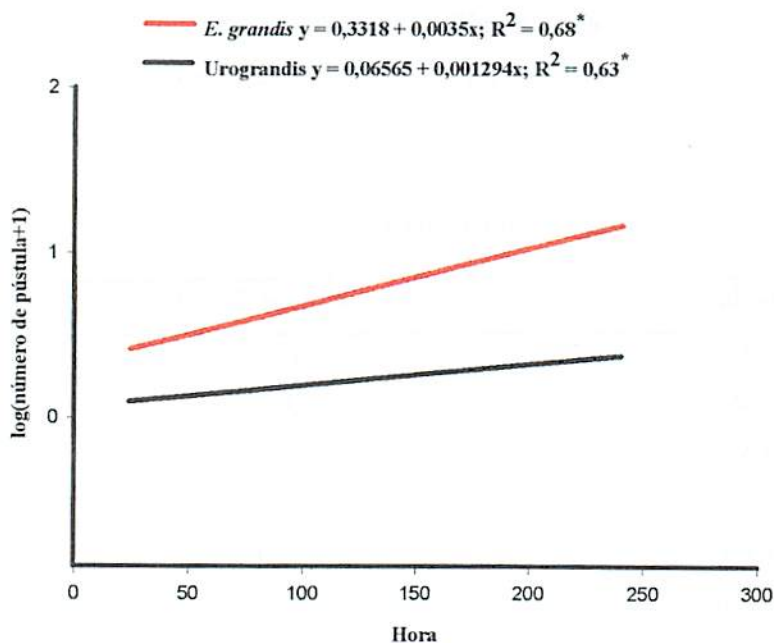


FIGURA 1. Comportamento dos isolados em função da hora de avaliação (\* $P \leq 0,01$ ).



Foram verificadas 14,9 para *E. grandis*, ou seja, o maior número médio de pústulas, e apenas 1,88 pústulas para *E. urograndis* (Tabela 6).

TABELA 6. Número de pústulas de *P. psidii* em duas espécies de eucalipto

Eucalipto	Número de pústulas
<i>E. grandis</i>	14,90 a
<i>E. urograndis</i>	1,88 b

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ).

Ao avaliar a AACPNP, notou-se diferença significativa entre os isolados e planta (Tabela 5A).

Os isolados GMG e EMG<sub>3</sub> foram estatisticamente menos agressivos para a variável AACPNP. No entanto, apesar de GMG ter gerado maior número de pústulas em *E. urograndis*, quando comparado com *E. grandis*, estatisticamente eles não se distinguiram em relação esta variável. O isolado GMG apresentou uma baixa área por ter reagido de forma incompatível com *E. grandis*, apresentando reação de hipersensibilidade em todas as plantas inoculadas. Para EMG<sub>3</sub>, o baixo valor está relacionado com a incipiente produção de pústulas nos eucaliptos estudados (Tabela 7).

TABELA 7. Área abaixo da curva de progresso do número de pústula (AACPNP) de *P. psidii* em duas espécies de Eucalipto.

Isolados	AACPNP	
	<i>E. grandis</i>	<i>E. urograndis</i>
JMG <sub>1</sub>	6485,7 a A	985,5 a B
JMG <sub>2</sub>	3326,4 b A	18,9 a B
EMG <sub>1</sub>	3767,2 b A	1357,0 a A
JMG <sub>3</sub>	5229,9 a A	1844,3 a A
EMG <sub>2</sub>	1753,2 b A	234,6 a B
GMG	0,00 c A	757,2 a A
JSP	7175,6 a A	311,4 a B
EMG <sub>3</sub>	324,8 c A	69,9 a A
Testemunha	0,0 c A	0,0 a A
CV(%)	39,62	117,17

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott e Knott ( $P \leq 0,05$ ).

Dianese et al. (1984), avaliando a resistência, no campo, de 23 procedências de eucalipto a *P. psidii*, observaram para *E. grandis* procedência África do Sul, alta suscetibilidade; *E. grandis* procedência Coff's Harbour foi suscetível e *E. urophylla*, altamente resistente.

As espécies *E. citriodora*, *E. tereticornis*, *E. camaldulensis*, *E. paniculata* e *E. punctata* mostraram suscetibilidade a *P. psidii* em Minas Gerais (Dianese et al., 1984), mas foram resistentes no Sul da Bahia (Dianese et al., 1986), sendo um bom indicativo da existência de duas diferentes formas deste fungo nestas duas áreas e/ ou diferentes condições ambientais.

## 5.1 Considerações finais

As variáveis estudadas permitiram diferenciar os isolados qualitativa e quantitativamente. Diante desses resultados, percebe-se a importância de se utilizarem diferentes variáveis para detectar variabilidade fisiológica de *Puccinia psidii* e, pela repetibilidade, é possível afirmar essa especialização do patógeno com maior confiabilidade.

De maneira geral, observaram-se diferenças de respostas entre genótipos de plantas e isolados de *P. psidii*. Desta forma, trabalhos de análise molecular de isolados coletados de diferentes áreas ou hospedeiros são necessários para tentar esclarecer a diversidade genética existente na população deste patógeno.

## 6 Conclusões

- Entre os dois genótipos de eucalipto, um foi resistente a *P. psidii*;
- Os isolados mais patogênicos aos hospedeiros foram JMG<sub>1</sub>, JMG<sub>2</sub>, EMG<sub>1</sub>, JMG<sub>3</sub>, EMG<sub>2</sub> e JSP;
- Isolados provenientes de uma mesma espécie hospedeira comportaram-se de forma diferente quanto à patogenicidade nos diferentes eucaliptos;
- Os isolados de *P. psidii* apresentaram especializações qualitativas e quantitativas quanto aos eucaliptos estudados.
- Foi observada variabilidade fisiológica dos isolados em relação aos hospedeiros testados.

## 7 Referências Bibliográficas

- ALFENAS, A. C.; DEMUNER, N. L.; BARBOSA, M. M. A ferrugem e as opções de controle. *Correio Agrícola*, São Paulo, v. 1, p. 18-20, 1989.
- AGRIANUAL – Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP. Consultoria & Comercio, 2002. p. 359-360.
- CASTRO, H. A.; KRÜGNER, T. L. Comportamento de *Eucalyptus* spp.. à inoculação com isolados de *Puccinia psidii*, pela análise dos parâmetros monocíclicos. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 9, n. 2, p. 350, jun. 1984.
- CASTRO, H. A.; KRUGNER, T. L.; BERGAMIN FILHO, A. Padrão de produção de uredosporos em mudas de *Eucalyptus* spp.. inoculadas artificialmente com *Puccinia psidii*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 10, n. 3/4, p. 155-170, jul./dez. 1984.
- CASTRO, H. A.; KRÜGNER, T. L.; IDERIHA, C. H. F.; CAPELLO, M. S. C.; MARCHI, A. B. Inoculação cruzada de *Eucalyptus*, goiaba (*Psidium guajava*) e jambeiro (*Syzygium jambos*) com *Puccinia psidii*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 8, n. 3, p. 491-497, out. 1983.
- COELHO, L.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A. Variabilidade fisiológica de *Puccinia psidii* – Ferrugem do Eucalipto. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 27, n. 3, p. 295-300, jul./set. 2001.
- DIANESE, J. C.; FIGUEIREDO, M. B. Estudos sobre especializações fisiológicas em *Puccinia psidii* Winter. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 10, p. 55, 1984.
- DIANESE, J. C.; MORAES, T. S de A.; SILVA, A. R. Response of *Eucalyptus* species to field infection by *Puccinia psidii*. *Plant Disease*, St. Paul, v. 68, n. 4, p. 314-316, Apr. 1984.
- DIANESE, J. C.; MORAES, T. S de A.; SILVA, A. R. Screening *Eucalyptus* species for rust resistance in Bahia, Brazil. *Tropical Pest Management*, London, v. 32, n. 4, p. 292-295, Oct./Dec. 1986.
- FERREIRA, F. A. Ferrugem do eucalipto – ocorrências, temperatura para germinação de uredosporos, produção de teliosporos, hospedeiro alternativo e resistência. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 6, n. 3, p. 603-604, out. 1981.

**FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. The Eucalypt Dilemma. Rome: FAO, 1988.**

**MACLACHLAN, J. D. A rust of pimento tree in Jamaica. *Phytopathology*, St. Paul, v. 28, n. 2, p. 157-170, Feb. 1938.**

**PARLEVLLET, J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual review Phytopathology*, Palo alato, v. 17, p. 203-222, 1979.**

**REVISTA DA MADEIRA. Curitiba: arte e produção, 2001. Especial.**

**SHANER, G. Probits for analyzing latent period data in studies of slow rusting resistance. *Phytopathology*, St. Paul, v. 70, n. 12, p. 1179-1182, Dec. 1980.**

## ANEXOS

TABELA 1A. Análise de variância da frequência de infecção.....	53
TABELA 2A. Análise de variância da incidência de ferrugem.....	53
TABELA 3A. Análise de variância do número de pústulas.....	53
TABELA 4A. Análise de variância da AACPNP.....	54
TABELA 5A. Análise de variância da germinação dos urediniósporos em óleo mineral.....	54
TABELA 6 A. Análise de variância da germinação dos urediniósporos em água.....	55

**ANEXO**

**TABELA 1A. Análise de variância da frequência de Infecção**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>SIGNIF.</b>
Planta (P)	1	21,81448	21,81448	77,239	0,00000
Isolado (I)	8	26,85033	3,356291	11,884	0,00000
P x I	8	13,03676	1,629595	5,770	0,00004
Resíduo	54	15,25111	0,2824280		

Coefficiente de Variação: 34,856

**TABELA 2A. Análise de variância da incidência de ferrugem**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>SIGNIF.</b>
Planta (P)	1	2,250613	2,250613	77,239	0,00000
Isolado (I)	8	3,050462	0,3813078	11,884	0,00000
P x I	8	1,165081	0,1456351	5,770	0,000045
Resíduo	54	1,817412	0,3365579		

Coefficiente de Variação: 17,227

**TABELA 3A. Análise de variância do número de pústulas**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>SIGNIF.</b>
Isolado (I)	8	75,38758	9,423448	10,36	0,0000
Planta (P)	1	56,83720	56,83720	85,12	0,0000
Hora (H)	10	33,80506	3,380506	513,39	0,0000
I x P	8	33,22262	4,152828	30,54	0,0001
I x H	80	11,86910	0,1483638	37,51	0,0000
P x H	10	7,191182	0,7191182	1,34	0,0326
I x P x H	80	7,613436	0,9516795	6,50	*****
Resíduo	594	65,76126	0,1107092	0,86	

Coefficiente de variação: 67,490



TABELA 4A. Análise de variância da AACPNP

FV	GL	SQ	QM	F	SIGNIF.
Planta (P)	1	15106,15	16994,43	46,970	0,00000
Isolado (I)	8	25527,61	2537,754	9,922	0,00000
P x I	8	11469,78	1368,789	4,458	0,0035
Residuo	54	321,6150	361,8173		

Coefficiente de variação: 59,626

TABELA 5A. Análise de variância da germinação dos urediniósporos em óleo mineral

FV	GL	SQ	QM	F	SIGNIF.
Temp.(T)	3	7,141162	2,380387	530,022	0,0000
Coleta (C)	4	2,088761	0,522190	116,272	0,0000
T x C	12	0,450274	0,037523	8,355	0,0000
Erro 1	40	0,179644	0,004491		
Avaliaç(A)	2	0,044703	0,022352	9,138	0,0003
A x T	6	0,178350	0,029725	12,152	0,0000
A x C	8	0,071252	0,008907	3,641	0,0012
A x T x C	24	0,093139	0,003881	1,587	0,0657
Erro 2	80	0,195689	0,002446		
CV 1 (%)	18,57				
CV 2 (%)	13,71				

TABELA 6A. Análise de variância da germinação dos urediniosporos em água

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>SIGNIF.</b>
Temp.(T)	3	2,084980	0,694993	373,764	0,0000
Coleta (C)	4	0,316674	0,079169	42,576	0,0000
T x C	12	0,388681	0,032390	17,419	0,0000
Erro 1	40	0,074378	0,001859		
Avaliaç.(A)	2	0,011640	0,001859	2,042	0,165
A x T	6	0,036307	0,005820	2,123	0,0596
A x C	8	0,033549	0,0060510,	1,471	0,1809
A x T x C	24	0,112149	0,04194	1,69	0,051
Erro 2	80	0,228022	0,004673		
CV 1 (%)	40,30				
CV 2 (%)	49,90				