



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS

MARIANA DUARTE SILVA FONSECA

**DURAÇÃO MÍNIMA DO MOLHAMENTO FOLIAR NO DESENVOLVIMENTO DA
FERRUGEM (*Puccinia psidii*) E EFEITO DA DOENÇA NAS RESPOSTAS
FISIOLÓGICAS DO EUCALIPTO**

JERÔNIMO MONTEIRO - ES

2015

MARIANA DUARTE SILVA FONSECA

**DURAÇÃO MÍNIMA DO MOLHAMENTO FOLIAR NO DESENVOLVIMENTO DA
FERRUGEM (*Puccinia psidii*) E EFEITO DA DOENÇA NAS RESPOSTAS
FISIOLÓGICAS DO EUCALIPTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Florestais na Área de Concentração Recursos Florestais.
Orientador: Prof. Dr. Waldir Cintra de Jesus Junior
Coorientadores: Prof. Dr. José Eduardo Macedo Pezzopane e Dra. Carla Cristina Gonçalves Rosado

JERÔNIMO MONTEIRO - ES

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

F676d Fonseca, Mariana Duarte Silva, 1989-
Duração mínima do molhamento foliar no desenvolvimento da ferrugem (*Puccinia psidii*) e efeito da doença nas respostas fisiológicas do eucalipto / Mariana Duarte Silva Fonseca. – 2015.
49 f. : il.

Orientador: Waldir Cintra de Jesus Junior.

Coorientadores: José Eduardo Macedo Pezzopane; Carla Cristina Gonçalves Rosado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Epidemiologia. 2. Eucalipto – Doenças. 3. Doença foliar. 4. Trocas gasosas. 5. Pigmentos foliares. I. Jesus Junior, Waldir Cintra de. II. Pezzopane, José Eduardo Macedo. III. Rosado, Carla Cristina Gonçalves. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. V. Título.

CDU: 630

**DURAÇÃO MÍNIMA DO MOLHAMENTO FOLIAR NO
DESENVOLVIMENTO DA FERRUGEM (*Puccinia psidii*) E EFEITO DA
DOENÇA NAS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DO EUCALIPTO**

Mariana Duarte Silva Fonseca

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Florestais na Área de Concentração Ciências Florestais.

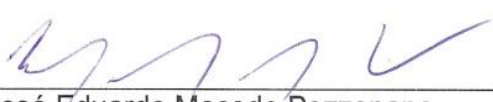
Aprovada em 25 de fevereiro de 2015.



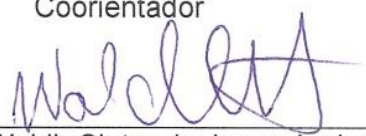
Dr. Reginaldo Gonçalves Mafia
Fibra Celulose S.A.
Examinador Externo



Prof. Dr. Willian Bucker Moraes
UFES
Examinador Externo



Prof. Dr. José Eduardo Macedo Pezzopane
UFES
Coorientador



Prof. Dr. Waldir Cintra de Jesus Junior
UFSCAR
Orientador

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu querido Pai que me amparou e concedeu-me a graça de adquirir mais conhecimento e experiência de vida.

À Universidade Federal do Espírito Santo pela oportunidade de fazer o Mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Waldir Cintra de Jesus Junior, pela orientação, conselhos e por me instigar a ir além do que eu poderia imaginar.

Aos meus coorientadores, José Eduardo Macedo Pezzopane e Carla Cristina Rosado Gonçalves, pelo apoio presente, orientações e conselhos.

À Reginaldo Gonçalves Mafia e à empresa Fibria, pelas sugestões, críticas e disponibilidade do material vegetal.

Ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa e à empresa Clonar, em nome dos pesquisadores Acelino Couto Alfenas e Rafael Ferreira Alfenas pela disponibilidade e treinamento.

À Valdir José de Almeida Fonseca, Pedro Leandro da Silva, Tiago Alves da Fonseca, Felipe D. S. Fonseca e Joaquim José da Fonseca Neto (meus queridos pai, avô e irmãos) pela inspiração, conselhos, confiança e apoio.

À Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo e à Dra. Vanessa de Oliveira Almeida pelas críticas e sugestões à pesquisa.

Às minhas amigas Ediellen, Denise, Milena, Ana Rossi, Lilianne, Helena, Luciana, Vilene, Andessa, Tamires e Marcia, pelo apoio e conselhos nas horas mais difíceis, pelos abraços apertados, orações, risos e alegrias compartilhadas em meio ao turbilhão da vida.

Aos amigos e companheiros do Laboratório de Meteorologia e Ecofisiologia Florestal Erilva, Siléia, Sanderléia, Alcides, Jessely, Elias, Hamilton, André, Jonas, Sandro e Rogério.

Aos amigos e companheiros do NUDEMAFI, Rodolfo, Regina, Taise, Lucimara, Isadora e Taiane.

E à todas as pessoas que me apoiaram e ajudaram a realizar este sonho.

RESUMO

FONSECA, Mariana Duarte Silva. **Duração mínima do molhamento foliar no desenvolvimento da ferrugem (*Puccinia psidii*) e efeito da doença nas respostas fisiológicas do eucalipto**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Orientador: Prof. Dr. Waldir Cintra de Jesus Junior. Coorientadores: Prof. Dr. José Eduardo Macedo Pezzopane e Dra. Carla Cristina Gonçalves Rosado.

A ferrugem, causada pelo fungo *Puccinia psidii*, é uma das doenças mais importantes da cultura do eucalipto. O objetivo deste trabalho foi determinar a duração mínima do período de molhamento foliar na infecção de *P. psidii* e desenvolvimento da doença, assim como o efeito da doença sobre as respostas fisiológicas de mudas de eucalipto. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 7x2, sendo sete durações de período de molhamento foliar – DPMF (0; 4; 8; 12; 16; 20; 24 horas) e dois clones, empregando-se quatro repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por uma muda inoculada. Para inoculação foi preparada suspensão contendo 2×10^4 uredíniosporos mL^{-1} , a qual foi aspergida nas mudas de eucalipto por meio de um pulverizador manual. Após a inoculação, as mudas foram envoltas em sacos plásticos úmidos para manutenção do molhamento foliar, colocadas em condições climáticas ideais de infecção do patógeno e permanecendo nelas de acordo com a DPMF pré-estabelecida. Em seguida, as mudas foram transferidas para casa de vegetação climatizada. Foram avaliados o período latente, período de incubação, incidência, severidade, área abaixo da curva de progresso da doença, trocas gasosas, teores de pigmentos fotossintetizantes e área foliar. A DPMF mínima para a infecção de *P. psidii* e surgimento da doença foi de 4 h, embora resultando em menor severidade da doença. Maiores severidades foram observadas nos tratamentos a partir de 8 h de DPMF. A infecção do patógeno e aumento da severidade da doença afetaram negativamente as respostas fisiológicas das mudas provocando decréscimo da taxa de assimilação líquida de CO_2 , condutância estomática e aumento da concentração intercelular de CO_2 , além disso resultou na diminuição dos teores de pigmentos fotossintetizantes e área foliar total da planta.

Palavras-chave: Epidemiologia, doença do eucalipto, doença foliar, trocas gasosas, pigmentos foliares.

ABSTRACT

FONSECA, Mariana Duarte Silva. **Minimum leaf wetness duration in the development of rust (*Puccinia psidii*) and effect of the disease on the physiological responses of *Eucalyptus***. 2015 Dissertation (MSc in Forest Sciences) - Federal University of Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Advisor: Prof. Dr. Waldir Cintra Junior Jesus. Co-advisors: Prof. Dr. José Eduardo Macedo Pezzopane and Dra. Carla Cristina Gonçalves Rosado.

The rust caused by the fungus *Puccinia psidii*, is one of the most important diseases of *Eucalyptus* culture. The objective of this study was to determine the minimum leaf wetness duration (LWD) the infection of *P. psidii* and development of the disease, as well as the effect of the disease on the physiological responses of *Eucalyptus* seedlings. The experiment was conducted using a completely randomized design in a 7x2 factorial arrangement – seven time periods of LWD (0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 hours) and two clones – using four replicates per treatment; each replication consisted of one inoculated seedling. For inoculation, a suspension containing 2×10^4 urediniospore mL^{-1} was prepared and afterwards sprayed on *Eucalyptus* seedlings by a hand sprayer. After inoculation, the seedlings were enveloped in humid plastic bags for maintain of leaf wetness, then placed under ideal weather conditions of pathogen infection and remained therein according to pre-established LWD time periods. Next, the seedlings were transferred to a climatized greenhouse. We evaluated the latent period, incubation period, incidence, severity, area under the disease progress curve, gas exchange, photosynthetic pigments content and leaf area. The minimum LWD to infection by *P. psidii* and breakthrough disease was 4 h, although resulting in lower disease severity. Greater severities were observed in treatments as from as from 8 h LWD. The infection of the pathogen and increased severity of the disease negatively affected the physiological responses of seedlings, which caused cutback in net CO_2 assimilation rate, stomatal conductance and increased in intercellular CO_2 concentration, furthermore, this resulted in the reduction of photosynthetic pigments content and leaf area total of the plant.

Keywords: Epidemiology, eucalyptus disease, leaf disease, gas exchange, leaf pigments.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	08
2	OBJETIVOS.....	10
2.1	Objetivo geral.....	10
2.2	Objetivos específicos.....	10
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1	Local.....	16
4.2	Delineamento experimental.....	18
4.3	Material vegetal.....	18
4.4	Obtenção, multiplicação e manutenção do isolado de <i>P. psidii</i>	19
4.5	Inoculação das mudas de eucalipto.....	20
4.6	Desenvolvimento da doença.....	21
4.6.1	Determinação dos períodos de incubação e latente de <i>P. psidii</i>	21
4.6.2	Quantificação da intensidade da doença.....	21
4.6.3	Cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença.....	22
4.7	Respostas fisiológicas.....	22
4.7.1	Avaliação dos teores de pigmentos foliares.....	22
4.7.2	Avaliação das trocas gasosas.....	23
4.7.3	Área foliar.....	24
4.8	Análise estatística.....	24
5	RESULTADOS.....	26
5.1	Desenvolvimento da doença.....	26
5.1.1	Períodos de incubação e latente de <i>P. psidii</i>	26
5.1.2	Intensidade da doença.....	27
5.1.3	Área abaixo da curva de progresso da doença.....	30
5.2	Respostas fisiológicas.....	30
6	DISCUSSÃO.....	35
6.1	Desenvolvimento da doença.....	35
6.2	Respostas fisiológicas.....	39
7	CONCLUSÕES.....	41
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

A eucaliptocultura apresenta participação importante no setor florestal, visto que dela derivam múltiplos produtos, tanto madeireiros quanto não madeireiros, como celulose, papel, carvão vegetal, madeira serrada, compensados, óleos essenciais, entre outros, os quais são destinados a diferentes fins.

Os plantios de eucaliptos ocupam mais de 20 milhões de hectares no mundo (BOOTH, 2013). O Brasil, no ano de 2013, alcançou 5.473.176 milhões de hectares de área plantada dessa cultura, tendo o estado do Espírito Santo uma participação de 4% (221.559 ha) desse total, ocupando a sexta colocação entre estados brasileiros (IBÁ, 2014).

As doenças podem constituir fator limitante para a manutenção da produção e produtividade da cultura. Dentre as doenças, a ferrugem, causada pelo fungo *Puccinia psidii* G. Winter, é uma das mais importantes. O fungo incide, em condições naturais, sobre espécies da família Myrtaceae, além do eucalipto, como em culturas comercialmente importantes, a exemplo de melaleuca, goiabeira, jambeiro, pitangueira e jabuticabeira (ALFENAS et al., 2009), como também na espécie *Heteropyxis natalensis* da família Heteropyxidaceae (ALFENAS et al., 2005).

Na Austrália há crescente preocupação com a doença, dado que foi relatada recentemente em plantios de eucalipto (CARNEGIE, 2015) e ainda em função da vasta biodiversidade vegetal composta por espécies da família Myrtaceae.

Quando presente em plantios comerciais de eucalipto, essa doença, dependendo da intensidade, provoca grandes prejuízos. Por exemplo, em plantios de eucalipto no estado de São Paulo, Santos (2006) observou redução média de 48,3% da produtividade em volume de madeira, enquanto que Takahashi (2002) registrou danos que variaram de 19,8% a 41% causados pela ferrugem. No Extremo Sul da Bahia, danos da ordem de 27,8% foram detectados em plantios de eucalipto quando a severidade da doença foi máxima (MASSON, 2009).

O patógeno pode causar a doença em campo e no viveiro. Todavia, o patógeno ataca somente órgãos tenros de plantas jovens, podendo causar a morte das partes terminais de crescimento, necroses, deformações, hipertrofia, minicancros e reduzir o desenvolvimento da planta (ALFENAS et al., 2009;

FERREIRA, 1983, 1989). Plantas com altura superior a 3 m normalmente não são infectadas pelo patógeno, uma vez que nesta altura as condições microclimáticas não são tão favoráveis à infecção de *P. psidii* e há menor número de uredíniosporos no ar (ZAUZA et al., 2010).

Para que o processo de infecção possa ocorrer, certas condições ambientais são necessárias. As condições ideais para o desenvolvimento do patógeno no campo são umidade relativa $\geq 90\%$, por no mínimo oito horas de duração do período de molhamento foliar (DPMF), com temperaturas entre 18 e 25 °C (RUIZ et al., 1989a). A partir destas condições é possível se calcular o índice de infecção da ferrugem do eucalipto. Apesar disto, tem sido observadas discordâncias entre o índice de infecção e a ocorrência da doença em condições de campo. Assim, possa ser que a infecção do patógeno ocorra com valores bem inferiores à oito horas de molhamento foliar. Neste sentido, locais ou épocas do ano não considerados favoráveis teoricamente à ocorrência da doença, na prática, tem tido registros da doença, inclusive com valores de duração do período de molhamento foliar abaixo de oito horas (BORA, 2013; MORAES et al., 2014; SILVA, 2013).

O molhamento foliar é essencial para a vários patógenos foliares, como os fungos causadores das ferrugens, que exigem a presença de água para iniciarem os processos de germinação, infecção e esporulação (HUBER; GILLESPIE, 1992). A definição do período contínuo de molhamento foliar para ocorrer a infecção desses patógenos é extremamente importante para estabelecer e adequar com maior precisão e confiabilidade modelos de previsão de doenças (DALLA MARTA; MAGAREY; ORLANDINI, 2005).

Após a infecção, a doença pode alterar as respostas fisiológicas das plantas, como influenciar na diminuição a taxa fotossintética das folhas de plantas de eucaliptos infectadas, fazendo com que a diminuição da fotossíntese seja proporcional ao desenvolvimento do patógeno (ALVES et al., 2011), o que consequentemente poderá afetar a produção da planta.

Neste contexto, faz-se necessário aprofundar a compreensão de como a duração das condições favoráveis de infecção do patógeno, em especial quanto à duração do período de molhamento foliar, influencia o desenvolvimento da doença e as respostas fisiológicas da planta hospedeira.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a duração mínima do período de molhamento foliar para a infecção e desenvolvimento de *P. psidii*, e o efeito da doença sobre respostas fisiológicas de mudas de dois clones de eucalipto.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os períodos de incubação e latente de *P. psidii* em função de diferentes durações de períodos de molhamento foliar;
- Avaliar o desenvolvimento da ferrugem em função das diferentes durações de períodos de molhamento foliar;
- Avaliar o efeito da doença nas trocas gasosas, pigmentos foliares e área foliar de clones de eucalipto.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O patógeno

A ferrugem do eucalipto é causada pelo fungo *Puccinia psidii* G. Winter o qual pertence ao filo Basidiomycota, ordem Pucciniales (FORZZA et al. 2010). Este patógeno, nativo das Américas do Sul e Central (TOMMERUP; ALFENAS; OLD, 2003), foi disseminado a outras partes do mundo, a exemplo de Japão (KAWANISHI et al., 2009) e Estados Unidos da América (UCHIDA; ZHONG; KILLGORE, 2006; ZAMBINO; NOLAN, 2011). Na Austrália, onde o patógeno já foi detectado (CARNEGIE, 2015), é considerado ameaça à biodiversidade vegetal do país, a qual é composta por importantes espécies da família Myrtaceae, com destaque para os gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia*.

O fungo apresenta ciclo de vida incompleto com os estágios écio (1), urédia (2), télia (3) e basídio (4), sendo que o segundo estágio é o mais característico em condições naturais e de inoculações artificiais. No início do ataque surgem pontuações pequenas e salientes verde-claras ou vermelho-amareladas que evoluem para pústulas de uredíniosporos amarelos, característica marcante da doença. Estas pústulas apresentam mais de 20 urédias quando bem desenvolvidas, com uredíniosporos com formatos piriformes e de esféricos a ovais. A disseminação dos esporos do patógeno é promovida pelo vento, insetos ou pelo orvalho (FERREIRA, 1989).

P. psidii é um organismo biotrófico, ou seja, reproduz e sobrevive exclusivamente dentro das células vivas do hospedeiro (APARECIDO; CAMILO; FURTADO, 2013; ZAMBOLIM; JESUS JUNIOR; PEREIRA, 2012). A propagação ocorre por meio de esporos, tanto na forma de uredíniosporos quanto de teliosporos. Estes últimos, que são menos frequentes, ocorrem normalmente quando o patógeno é submetido a temperaturas elevadas (ALFENAS et al., 2009).

P. psidii incide sobre várias espécies da família Myrtaceae, tais como os gêneros *Eucalyptus*, *Corymbia*, *Psidium*, *Eugenia* e *Syzygium*, que possuem espécies de grande importância comercial e, também na espécie *Heteropyxis natalensis* da família Heteropyxidaceae (ALFENAS et al., 2005; PIERI, 2012).

Em estudo feito na Austrália com táxons da família Myrtaceae, observou-se que, dos 122 pesquisados, 111 deles apresentaram infecção e desenvolvimento de uredíneas de *P. psidii*. Nesta lista de táxons estão incluídos os gêneros *Eucalyptus*, *Corymbia*, *Melaleuca*, *Callistemon*, *Syzygium*, *Agonis*, *Austromyrtus*, *Beaufortia*, *Calothamnus*, *Chamelaucium*, *Darwinia*, *Gossia*, *Kunzea*, *Leptospermum*, *Thryptomene*, *Tristania* e *Verticordia* (MORIN et al., 2012).

Dentre as espécies de eucalipto mais suscetíveis à ocorrência da doença estão *E. cloeziana*, *E. grandis*, *E. phaeotricha*, *E. globulus*, *E. nitens* e *E. viminalis* (ALFENAS et al., 2009; ALFENAS; ZAUZA; ASSIS, 2003), enquanto que as consideradas resistentes são *Corymbia citriodora*, *C. torelliana*, *E. urophylla*, *E. robusta*, *E. camaldulensis*, *E. saligna*, *E. propinqua*, *E. pilularis*, *E. microcorys*, *E. resinifera*, *E. tereticornis* e *E. pellita* (ALFENAS et al., 2009; CARVALHO et al., 1998).

A doença e sua influência nas respostas fisiológicas da planta

A ferrugem do eucalipto pode causar morte das partes terminais de crescimento, necroses, deformações, hipertrofia e minicancros, reduzindo o desenvolvimento da planta (ALFENAS et al., 2009). O patógeno ocorre tanto em campo quanto em viveiro atacando órgãos tenros de plantas jovens de até três metros de altura (CARVALHO et al., 1998). Segundo Zauza et al. (2010), com o aumento da altura das plantas de eucalipto, as condições microclimáticas favoráveis à esta doença diminuem, pois a duração do período de molhamento foliar e a concentração de esporos no ar tornam-se reduzidos, dificultando assim o estabelecimento e progresso da doença. Deste modo, considera-se que quando as plantas atingem a altura de três metros as mesmas adquirem condições de “escape” à doença.

Nos casos de alta severidade, os sintomas podem acarretar em perda da dominância apical e comprometendo o crescimento e desenvolvimento das plantas infectadas, ocasionando danos (TEIXEIRA et al., 2009). Por exemplo, para as condições do estado de São Paulo foram verificados danos em plantios de eucalipto que variaram de 19,79% a 48,3% (MASSON, 2009; TAKAHASHI, 2002; SANTOS,

2006). Foi observado em plantio de goiabeiras uma redução da produção de frutos de 90% quanto atacadas pela ferrugem (MARTINS; SILVEIRA; MAFFIA, 2014). Em outro patossistema, cepas de *P. psidii* reduziram 69% do crescimento em altura e provocou aumento de 27% na mortalidade de mudas de *Metrosideros polymorpha* quando infectadas com cepas de alta virulência (SILVA et al., 2014). Além disso, a fisiologia de folhas de plantas de eucaliptos infectadas podem sofrer alterações na fotossíntese por limitações dos processos bioquímicos para fixação de carbono em virtude da doença (ALVES et al., 2011).

A infecção e o desenvolvimento de patógenos podem comprometer funções fisiológicas distintas na planta hospedeira, contudo isto está condicionado ao tipo de patógeno e ao órgão ou tecido da planta afetado. No caso dos patógenos foliares, estes podem necrosar áreas da folha, alterar ou destruir componentes da célula vegetal, como as clorofilas, ocasionando, indubitavelmente, consequente redução da fotossíntese e afetando subsequentemente o crescimento e a produtividade da planta (AGRIOS, 2004).

Para o controle da doença tem-se utilizado as estratégias de melhoramento genético do eucalipto, uso de fungicidas e de meios escape à doença. O melhoramento genético do eucalipto constitui-se o mais eficaz método de controle, em vista da seleção e/ou cruzamento de clones, progênies e espécies resistentes à doença, o que propicia a redução do uso de fungicidas (ALFENAS et al., 2009; MAFFIA, MARCHESI, AUN, 2012). Quanto ao controle químico da ferrugem, fungicidas tem sido testados em caráter experimental para este fungo, sendo alguns efetivos ao seu controle, como tebuconazol com trifloxistrobina a 1,5 mL L⁻¹ (MASSON et al., 2011), triadimenol (MARTINS et al., 2011), tebuconazol e oxicloreto de cobre (MARTINS et al., 2012). No Brasil, existem dois fungicidas cadastrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para a cultura do eucalipto: o primeiro tem como ingredientes ativos tebuconazol (triazol) e trifloxistrobina (estrobilurina) e o segundo azoxistrobina (estrobilurina) e ciproconazol (triazol) (MAPA, 2015). A utilização de medidas de escape é outra alternativa, sendo indicado o plantio da cultura em períodos desfavoráveis à ocorrência da doença e a seleção de plantas de crescimento rápido, uma vez que plantas de maiores altura não são afetadas pela doença (ALFENAS et al., 2009).

Condições ambientais favoráveis à doença

A incidência e a severidade da doença podem se manifestar de formas diferentes considerando-se a origem do inóculo, a especialização do patógeno, a espécie e o grau de suscetibilidade da planta hospedeira e a interação destes fatores condicionada pelas condições ambientais (FURTADO; CASTRO; POZZA, 2005; SILVA et al., 2013; ZAUZA et al., 2010).

Para que o processo de desenvolvimento do patógeno ocorra, certas condições climáticas são necessárias. Ruiz et al. (1989b) conduziram experimentos em condições controladas concluindo que as condições favoráveis para a infecção de *P. psidii* em mudas de eucalipto acontecem quando as temperaturas variam entre 20 e 25 °C, com duração do período de molhamento foliar (DPMF) mínima de 6 horas, na ausência de luminosidade. Nestas condições os autores verificaram que o período latente médio do patógeno variou de 10 a 12 dias.

Em campo, as condições climáticas favoráveis ao aparecimento da doença em plantios de eucalipto em Teixeira de Freitas, Bahia, ocorreram quando a umidade relativa do ar foi $\geq 90\%$, com temperaturas entre 18 e 25 °C, acompanhado de um período mínimo de 8 horas de molhamento foliar (RUIZ et al., 1989a). Para o Brasil, Moraes (2013) determinou que os maiores índices de favorabilidade climática à ferrugem (superiores à 70%) ocorrem nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste.

Em condições de campo, entretanto, pode ocorrer inconsistências quanto ao desenvolvimento da doença em relação aos dados observados em condições controladas. Os principais fatores climáticos que podem influenciar o aparecimento e desenvolvimento da ferrugem são duração do período de molhamento foliar noturno, frequência diária de ocorrência de molhamento foliar, temperatura noturna, umidade relativa do ar e precipitação (SILVA, 2013; TESSEMAN et al., 2001). Pesquisas recentes relataram a ocorrência da ferrugem em campo em duração do período de molhamento foliar abaixo das indicadas por Ruiz et al. (1989a; 1989b) (BORA, 2013; MORAES et al., 2014; SILVA, 2013).

O molhamento foliar ou água livre sobre a superfície foliar, é um fator chave para a compreensão e prevenção de epidemias de várias doenças dado que influencia processos epidemiológicos importantes como germinação, infecção e esporulação (HUBER; GILLESPIE, 1992). O molhamento foliar pode ocorrer pela

formação do orvalho em condições de umidade relativa do ar elevadas, pela chuva ou água de irrigação. A duração do período de molhamento foliar (DPMF) para o desencadeamento desses processos variam de acordo com as exigências de cada patógeno, sendo que certos fungos necessitam de longos períodos contínuos de água livre, enquanto que outros requerem curtos períodos ou toleram intervalos de seca (VALE et al., 2004a).

Alguns modelos de previsão de doenças utilizados na proteção de culturas empregam a variável duração do período de molhamento foliar. Deste modo, a determinação da quantidade de horas contínuas de molhamento que um determinado patógeno necessita para infectar o hospedeiro é uma informação essencial para conferir maior precisão e ajuste dos modelos (DALLA MARTA; MAGAREY; ORLANDINI, 2005).

Na literatura são registrados diversos casos em que diferentes durações de molhamento foliar podem influenciar na intensidade da doença (BARRERA; HOY; LI, 2012; MILLES et al., 2013; OBANOR et al., 2011). O desenvolvimento de *P. psidii* também é afetado fortemente por esse fator (RUIZ et al, 1989a).

A ferrugem é uma doença extremamente importante no cenário mundial, pois afeta não só a cultura do eucalipto como também outras espécies de interesse comercial. A expansão geográfica da doença poderá gerar implicações econômicas e ambientais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL

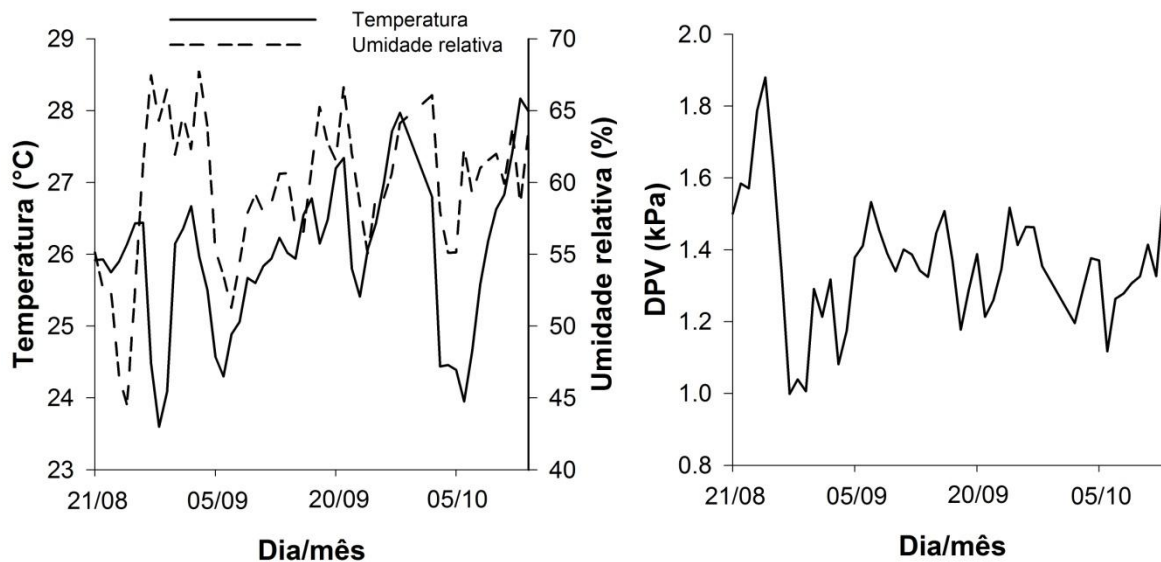
O experimento foi conduzido em condições controladas de casa de vegetação no Laboratório de Meteorologia e Ecofisiologia Florestal da Universidade Federal do Espírito Santo, localizado em Jerônimo Monteiro-ES.

Visando simular as condições climáticas reais de campo, no ambiente da casa de vegetação, foi estabelecida uma condição semelhante à região Norte do estado do Espírito Santo (PIROVANI, 2014), que é uma importante região produtora de eucalipto.

Para caracterização microclimática do ambiente do estudo, dados de temperatura e umidade relativa do ar foram medidos por sensores (marca Vaisala, modelo CS500) da estação meteorológica instalada no interior da casa de vegetação e armazenados em um *datalogger* (marca CAMPBELL SCIENTIFIC, modelo CR10X). Os valores de déficit de pressão de vapor (DPV), foram calculados a partir da diferença da pressão de saturação de vapor d'água (e_s) e pressão parcial de vapor (e_a) de acordo com o proposto por Pereira, Angelocci e Sentelhas (2002).

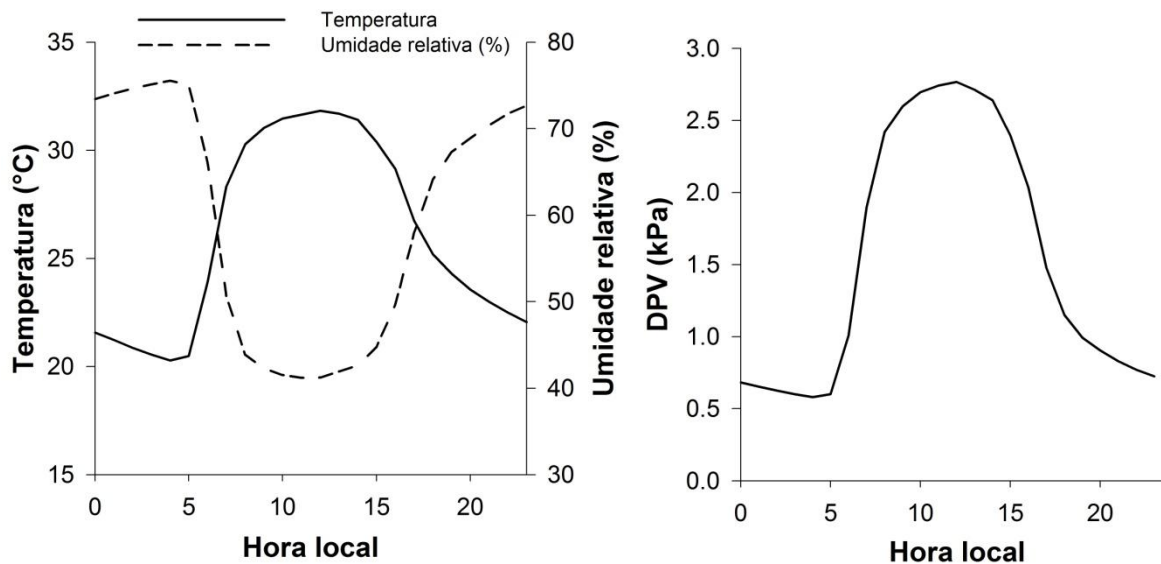
As condições microclimáticas da casa de vegetação apresentaram variação média diária de $25,0 \pm 1,1$ °C, $59 \pm 5\%$ e $1,36 \pm 0,17$ kPa e variação média horária de $25,98 \pm 4,41$ °C, $59,45 \pm 14,07\%$ e $1,52 \pm 0,88$ kPa, de temperatura, umidade relativa do ar e de déficit de pressão de vapor, respectivamente (Figuras 1 e 2).

Figura 1 – Médias diárias de temperatura, umidade relativa do ar e déficit de pressão de vapor (DPV) no interior de casa de vegetação climatizada, em Jerônimo Monteiro-ES, durante o período de 21 de agosto de 2014 a 14 de outubro de 2014.



Fonte: o autor.

Figura 2 – Médias horárias de temperatura, umidade relativa do ar e déficit de pressão de vapor (DPV) no interior de casa de vegetação climatizada, em Jerônimo Monteiro-ES, durante o período de 21 de agosto de 2014 a 14 de outubro de 2014.



Fonte: o autor.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), empregando-se esquema fatorial 7x2, sendo sete durações de períodos de molhamento foliar - DPMF (0; 4; 8; 12; 16; 20; 24 horas) e dois clones. Empregou-se quatro repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída uma muda clonal de eucalipto inoculada, totalizando 56 mudas.

Para a análise da severidade da doença utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcelas subdivididas no tempo. Considerando-se na parcela o fatorial 7x2 entre as DPMF e clones, descritos anteriormente, e nas subparcelas o fator tempo (7; 10; 13; e 16 dias após a inoculação).

4.3 MATERIAL VEGETAL

Foram utilizados dois clones de eucalipto: C1 - xx66 (*E. urophylla* x *E. grandis*) e C2 - xx18 (*E. grandis* x *E. grandis*), ambos classificados como suscetíveis à ferrugem (JUNGHANS; ALFENAS; MAFFIA, 2003). As mudas, produzidas em tubetes de 50 cm³ com substrato composto de casca de arroz (35%), fibra de coco (30%) e vermiculita (35%), foram transplantadas com 80 dias de idade para vasos de dimensões 25x30x22cm (altura x diâmetro superior x diâmetro inferior) de capacidade de 12 litros preenchidos com substrato comercial.

As plantas foram adubadas aos 12 dias após o transplante com fertilizante de liberação lenta (NPK 19-06-10) na concentração de 7,8 g por planta. A cada 13 dias as mudas foram adubadas com 50 mL de uma solução de NPK 20-05-18 na concentração 60 g L⁻¹. A irrigação foi realizada manualmente, quando e conforme necessário, disponibilizando a mesma quantidade de água para cada planta, sempre mantendo o substrato próximo à capacidade de campo.

4.4 OBTENÇÃO, MULTIPLICAÇÃO E MANUTENÇÃO DO ISOLADO DE *P. psidii*

O inóculo de *P. psidii*, raça 1, comum em várias regiões do Brasil (MAFIA; MARCHESI; AUN, 2012), foi cedido pelo Laboratório de Patologia Florestal da Universidade Federal de Viçosa e mantido em ultrafreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a sua utilização.

Por ser um patógeno biotrófico, para a manutenção e multiplicação do inóculo, o fungo, na forma de uredíniosporos, foi mantido *in vivo* em mudas de jambeiro (*Syzygium jambos*) por meio de reinoculações periódicas a cada 20 dias (FONSECA et al., 2010). A inoculação das mudas de jambeiro foi realizada pincelando os uredíniosporos do fungo sobre ambas as faces das folhas jovens, sendo em seguida efetuada aspersão de água nas mesmas para garantir condição adequada de umidade. Posteriormente, as mudas foram envoltas em saco plástico preto borrifado internamente com água, para manter a umidade, e levadas às câmaras de crescimento tipo *Phytotron*, com umidade relativa variando de $84 \pm 2,7\%$, temperatura de $20,5 \pm 0,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas em condições de escuro para favorecer a infecção. Decorrido este período as plantas foram transferidas para casa de vegetação onde permaneceram em definitivo à temperatura média diária de $19,8 \pm 1,05\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade relativa média de $92 \pm 3,2\%$ e DPV de $0,18 \pm 0,07\text{ kPa}$.

Os uredíniosporos originados desta infecção foram removidos das folhas de jambeiro com um pincel nº 4 amparados por uma folha de papel tipo couchê e depositados em um *eppendorf*.

Parte do inóculo obtido foi utilizado para reinoculações em plantas de jambeiro e, posteriormente, para a inoculação nas mudas de eucalipto. O inóculo remanescente foi desidratado em dessecador com sílica gel por 48 h em geladeira a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e posteriormente armazenado em refrigerador à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (GARCIA et al., 2007).

4.5 INOCULAÇÃO DE MUDAS DE EUCALIPTO

As mudas foram retiradas da casa de vegetação, após 25 dias de aclimação ao ambiente, e levadas às câmaras de crescimento tipo *Phytotron*, onde foi possível controlar as condições climáticas ideais para a infecção e propícias à manutenção do molhamento foliar.

Urediniosporos foram coletados de folhas jambeiro, como descrito anteriormente, e utilizados em seguida para o preparo da suspensão do inóculo. A suspensão foi preparada em um béquer, onde foi adicionada água destilada e Tween 80 a 0,05%, homogeneizada em agitador magnético. Em seguida, a suspensão foi ajustada à concentração de 2×10^4 urediniosporos mL^{-1} por meio de um hemacitômetro (câmara de Neubauer) com o auxílio de um microscópio óptico, segundo a metodologia proposta por Ruiz et al. (1989b), com as seguintes modificações: utilização de borrifador para aspersão do inóculo e saco plástico preto para manutenção do molhamento foliar. Logo após a inoculação, as mudas dos tratamentos de 4-24 h foram colocadas numa câmara à temperatura de $22 \pm 1,1$ °C e umidade relativa de $84,5 \pm 3\%$ para manter a condição do molhamento foliar. Ao se atingir a duração do período de molhamento foliar pré-determinado, as mudas, sem os sacos plásticos, eram transferidas para outra câmara do *Phytotron* mantida à temperatura de $22,6 \pm 0,4$ °C e umidade relativa de $54,6 \pm 2,7\%$ que permitia a secagem rápida das folhas. Nas duas situações as mudas foram mantidas na ausência de luz. Independente do tratamento testado (diferentes DPMF), todas as mudas permaneceram no *Phytotron* pelo mesmo tempo (24 h), a fim de garantir uniformização do experimento e assegurar que somente haveria influência da duração do período de molhamento foliar.

No tratamento com 0 h de molhamento foliar, as mudas não foram envoltas em sacos plásticos e, após a inoculação, foram colocadas diretamente na câmara onde a umidade relativa era baixa para que as folhas secassem rapidamente.

Transcorrido o período de 24 h no escuro, as mudas foram retiradas do *Phytotron* e levadas à casa de vegetação onde foram mantidas até o término do experimento.

4.6 DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA

4.6.1 Determinação dos períodos de incubação e latente de *P. psidii*

A determinação dos períodos de incubação e latente do patógeno foi feita em quatro folhas novas marcadas previamente antes da inoculação, no segundo ou terceiro par de folhas. Como período de incubação considerou-se o intervalo de tempo entre a inoculação e o aparecimento dos sintomas em 50% das folhas avaliadas (VALE; JESUS JUNIOR; ZAMBOLIM, 2004b).

O período latente compreendeu o intervalo de tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das folhas marcadas com lesões esporuladas (com uredíniosporos do patógeno) (FURTADO, CASTRO; POZZA, 2005).

4.6.2 Quantificação da intensidade da doença

A incidência e a severidade da doença foram quantificadas nas quatro folhas novas marcadas, em avaliações não destrutivas.

A incidência foi determinada a partir da relação do número de folhas marcadas com sintomas da doença até aos 30 dias após a inoculação (d.a.i.) pelo número total de folhas marcadas.

A severidade da doença foi quantificada aos 7, 10, 13 e 16 d.a.i. Para determinação da área foliar lesionada, foram feitas fotografias das folhas com resolução de 16 Megapixels e posteriormente foi utilizado o software Quant (VALE; FERNANDES FILHO; LIBERATO, 2003).

4.6.3 Cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença

Os valores médios de severidade da doença por avaliação para cada tratamento foram plotados em relação ao tempo e posteriormente calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AUDPC – *Area Under Disease Progress Curve*), por integração trapezoidal (SHANER; FINNEY, 1977), a saber:

$$AUDPC = \sum_i^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i) \quad (1)$$

em que:

n: número de avaliações;

y: proporção de doença (severidade/100);

t: intervalo de tempo entre as avaliações da severidade (dias).

4.7 RESPOSTAS FISIOLÓGICAS

4.7.1 Avaliação dos teores de pigmentos foliares

Os teores dos pigmentos clorofila a, clorofila b, clorofilas *a+b* e carotenoides foram obtidos aos 16 d.a.i. por meio da avaliação do terceiro par de folhas no terço superior de cada planta, constituindo-se quatro repetições por tratamento. As folhas foram coletadas, postas em saco de papel alumínio identificado e imediatamente resfriadas em caixa de isopor com gelo e armazenadas em freezer até a análise. Foram extraídos os pigmentos das folhas conforme metodologia proposta por Lichtenthaler (1987). Os pigmentos foram extraídos de 80 mg de folhas macerando-as com CaCO₃ e uma solução de acetona 80%. O extrato foi filtrado em balão volumétrico de 50 mL e envolto em papel alumínio para proteger o conteúdo da ação da luz. Uma alíquota dos extratos foi analisada por meio de um espectrofotômetro de

luz nos comprimentos de onda de 470 nm, 646,8 nm e 663,2 nm com valores obtidos expressos em absorvância de luz (A).

Os valores das concentrações dos pigmentos (g kg^{-1}) foram calculados por meio das fórmulas abaixo, ajustadas posteriormente de acordo com o peso da amostra fresca e da alíquota analisada:

Clorofila a :

$$C_a = 12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8} \quad (2)$$

Clorofila b :

$$C_b = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2} \quad (3)$$

Clorofilas $a+b$:

$$C_{(a+b)} = 7,15 A_{663,2} + 18,71 A_{646,8} \quad (4)$$

Carotenoides:

$$C_{(\text{xantofilas} + \text{carotenos})} = (1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,02 C_b) / 198 \quad (5)$$

4.7.2 Avaliação das trocas gasosas

Aos 16 d.a.i. foi realizada a avaliação de trocas gasosas, sendo quantificada a taxa de assimilação líquida de CO_2 (A), taxa de transpiração (E), condutância estomática (g_s) e a concentração intercelular de CO_2 (C_i) por meio de um analisador de gás a infravermelho portátil – IRGA (marca Li-COR, modelo Li 6400), empregando-se intensidade luminosa de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração externa de CO_2 de 377 ± 8 ppm. A avaliação foi feita entre 9 às 11 horas do dia em uma folha do terceiro par de folhas de cada planta, considerando-se quatro plantas (repetições) por tratamento.

4.7.3 Área foliar

Para obtenção da área foliar, todas as folhas de cada planta foram destacadas e passadas pelo aparelho medidor de área foliar (LI-3100 Area Meter) aos 30 d.a.i. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de período latente, período de incubação, incidência e área abaixo da curva de progresso da doença foram analisados com o teste pareado não paramétrico de Wilcoxon ($\alpha = 0,05$) para duas amostras independentes, comparando-se os clones em cada nível de duração do período de molhamento foliar e pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0,05$) para confrontamento de k amostras independentes entre os períodos de molhamento foliar, por não atenderem os pressupostos da análise de variância de normalidade e homocedasticidade.

Os dados de severidade foram transformados em \sqrt{x} e submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F ($\alpha = 0,05$). Foram testados os modelos tridimensionais não lineares *plainer*, Gaussian, parabólica e Lorentzian para verificar qual o que melhor descreve o comportamento da severidade em relação à duração do período de molhamento foliar e tempo. A escolha do modelo mais adequado para descrever o referido comportamento foi feita com base nos valores de R^2 , distribuição dos resíduos, normalidade e igualdade de variância (MILLES et al., 2013).

Os dados fisiológicos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F ($\alpha = 0,05$). Realizou-se a análise de regressão a fim de determinar a relação entre a severidade da doença aos 13 d.a.i., que constitui a época com os maiores valores observados, e as características fisiológicas avaliadas de cada clone. Os dados de clorofila *a*, clorofilas *a+b* e área foliar foram transformados em \log_{10} , para atender os pressupostos da análise de variância.

Foram utilizados os softwares SISVAR 5.4[®] (FERREIRA, 2011) e SigmaPlot[®] versão 13 (Systat Software) para o processamento dos dados de severidade. Para as demais análises empregou-se o programa ASSISTAT 7.7[®] (SILVA; AZEVEDO, 2002).

5 RESULTADOS

5.1 DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA

5.1.1 Períodos de incubação e latente de *P. psidii*

A doença não foi observada na ausência de molhamento foliar em ambos os clones. Plantas inoculadas e mantidas por 4 h com molhamento foliar apresentaram maiores períodos de incubação e latente, aproximadamente cinco e sete dias, respectivamente, para ambos os clones. Os períodos de incubação e latente não diferiram estatisticamente entre 8 a 24 h, apresentando valores de quatro e seis dias, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 – Médias dos valores dos períodos de incubação e latente de *Puccinia psidii* em dois clones de eucalipto (C1 e C2), submetidos à diferentes durações do período de molhamento foliar (DPMF)

DPMF	Período de incubação (dias)		Período latente (dias)	
	C1	C2	C1	C2
0	-	-	-	-
4	5,25 aA*	5,50 aA	7,50 aA	7,00 aA
8	3,75 bA	4,00 bA	6,00 bA	6,00 bA
12	3,75 bA	4,00 bA	6,25 abA	6,00 bA
16	3,75 bA	4,00 bA	6,00 bA	6,00 bA
20	4,00 abA	4,00 bA	6,00 bA	6,00 bA
24	4,00 abA	4,00 bA	6,00 bA	6,00 bA
CV (%)	15,1		9,5	

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Wilcoxon ao nível de 5% de probabilidade. C1= clone 1; C2= clone 2; CV= coeficiente de variação. Fonte: o autor

5.1.2 Intensidade da doença

Entre os clones não houve diferenças quanto a incidência da doença em cada DPMF. Com a ausência do molhamento foliar (0 h) não houve a incidência da doença nas mudas. Em ambos os clones, o tratamento de 4 h apresentou elevada incidência da ferrugem, entretanto diferindo dos tratamentos submetidos a 8-24 h de DPMF os quais alcançaram o máximo percentual desta variável (Tabela 2).

Tabela 2 – Médias dos valores de incidência de *Puccinia psidii*, em dois clones de eucalipto (C1 e C2), submetidos à diferentes durações do período de molhamento foliar (DPMF)

DPMF	Incidência (%)	
	C1	C2
0	-	-
4	69 bA	81 bA
8	100 aA	100 aA
12	100 aA	100 aA
16	100 aA	100 aA
20	100 aA	100 aA
24	100 aA	100 aA
CV (%)	13,54	

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Wilcoxon ao nível de 5% de probabilidade. C1= clone 1; C2 = clone 2; CV= coeficiente de variação. Fonte: o autor.

Houve interação significativa entre as durações do período de molhamento foliar, clones e períodos de avaliação. Comparando os clones em cada dia de avaliação após a inoculação, observa-se que a severidade no clone 1, em geral, foi maior que no clone 2, exceto no 7 d.a.i (Tabela 3). Dentro das diferentes DPMF os clones apresentaram severidades similares, divergindo somente nas durações de 8 e 16 h, onde observou-se os maiores valores para o clone 1 e clone 2, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 3 – Comparação entre os clones da severidade (%) da ferrugem do eucalipto (*Puccinia psidii*) em função dos dias após a inoculação

Clone	Dias após a inoculação			
	7	10	13	16
C1	0,87 b*	6,48 a	9,64 a	6,77 a
C2	1,72 a	5,02 b	8,93 b	4,54 b
CV%	18,40			

*Dados originais não transformados. Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. C1= clone1; C2= clone 2; CV= coeficiente de variação. Fonte: o autor.

Tabela 4 – Comparação entre os clones da severidade (%) da ferrugem do eucalipto (*Puccinia psidii*) em função da duração do período de molhamento foliar

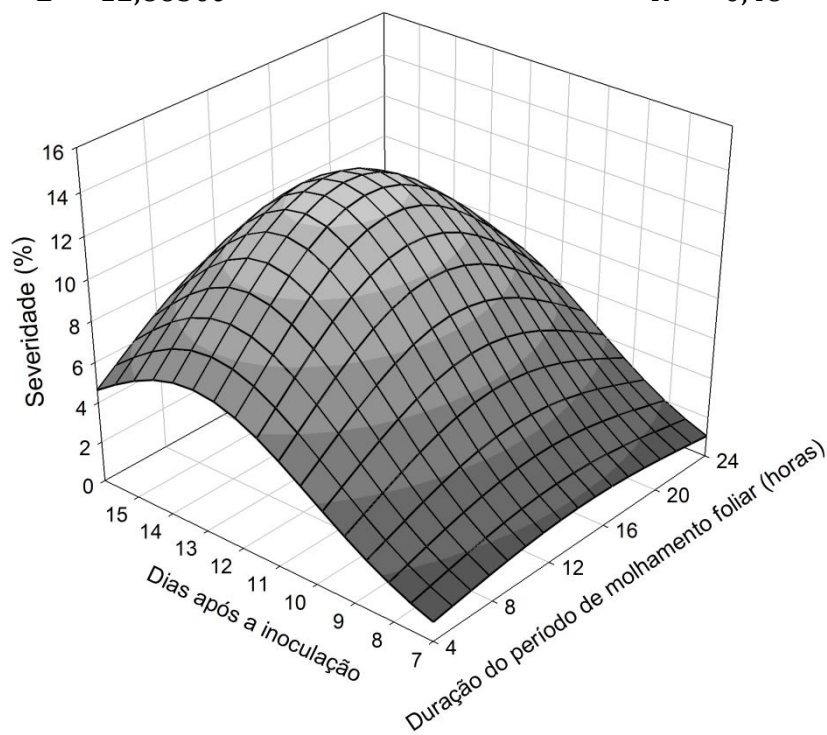
Clone	Duração do período de molhamento foliar (horas)					
	4	8	12	16	20	24
C1	0,24 a*	11,30 a	6,75 a	5,84 b	5,20 a	6,29 a
C2	0,16 a	6,72 b	6,31 a	6,73 a	4,87 a	5,54 a
CV%	14,47					

*Dados originais não transformados. Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. C1= clone1; C2= clone 2; CV= coeficiente de variação. Fonte: o autor.

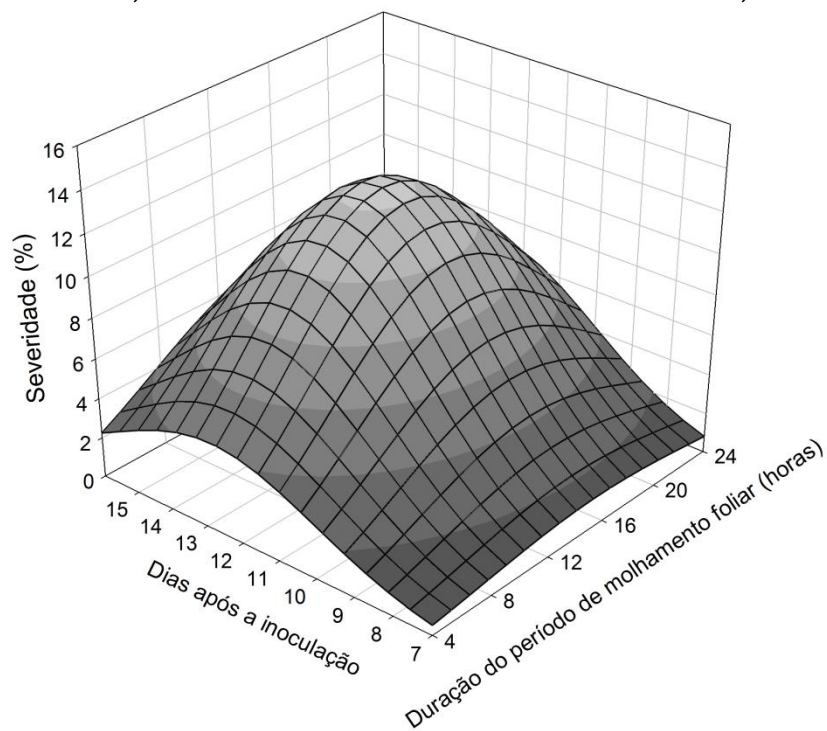
O modelo de Gaussian foi o que melhor descreveu a resposta da severidade em função do tempo e da duração do período de molhamento foliar para ambos os clones (Figura 3). O aumento da severidade foi favorecido pelo aumento da duração do período de molhamento foliar até 12-18 h e 13,5-18 h, sendo que a maior intensidade da doença ocorreu aos 12-14,5 d.a.i. e 12-13,5 d.a.i., para os clones 1 e 2, respectivamente. Acima destes valores foi observado decréscimo da severidade.

Figura 3 – Efeito simultâneo da duração do período de molhamento foliar e dos dias após a inoculação na severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*), em dois clones de eucalipto, descrito pelo Modelo de Gaussian

A
$$Z = 12,8630e^{-0,5\left[\left(\frac{x-14,3076}{-9,1865}\right)^2 + \left(\frac{y-13,2192}{3,1408}\right)^2\right]} \quad R^2 = 0,48 \quad (6)$$



B
$$Z = 12,4769e^{-0,5\left[\left(\frac{x-15,4045}{7,8837}\right)^2 + \left(\frac{y-12,7811}{2,7871}\right)^2\right]} \quad R^2 = 0,70 \quad (7)$$



A - clone 1; B - clone 2. As faixas da escala de cor correspondem a variação da porcentagem de severidade a cada 2% a partir do zero. Dados originais não transformados. Fonte: o autor

5.1.3 Área abaixo da curva de progresso da doença

Verificou-se que a AUDPC foi afetada pela duração do período de molhamento foliar, sendo que os maiores valores foram obtidos nos tratamentos com 8, 12, 16 e 24 h de molhamento foliar para os dois clones. Não houve diferenças entre os clones em cada nível de molhamento foliar pelo teste não paramétrico utilizado (Tabela 6).

Tabela 6 – Médias dos valores de área abaixo da curva do progresso da ferrugem do eucalipto (*Puccinia psidii*) (AUDPC) em dois clones submetidos à diferentes durações do período de molhamento foliar

DPMF	AUDPC	
	C1	C2
0	-	-
4	2,59 cA	1,31 cA
8	120,95 aA	65,79 abA
12	68,02 abA	61,60 abcA
16	60,16 abcA	73,41 aA
20	47,00 bcA	50,18 bcA
24	63,22 abcA	54,14 abcA
CV (%)	3,70	

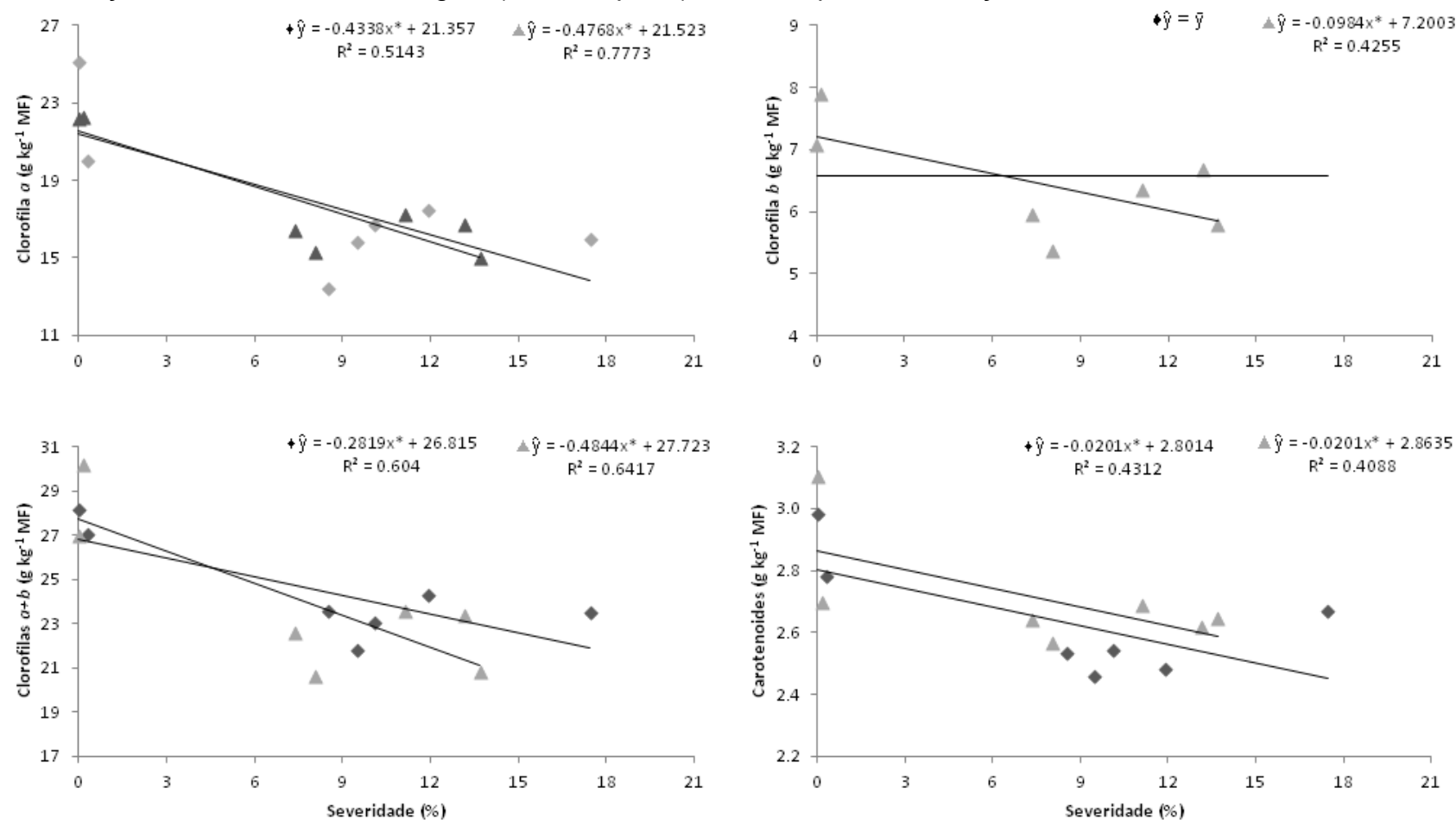
*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Wilcoxon ao nível de 5% de probabilidade. DPMF – duração do período de molhamento foliar; C1= clone 1; C2= clone 2; CV= coeficiente de variação. Fonte: o autor

5.2 RESPOSTAS FISIOLÓGICAS

Em geral, observa-se que as respostas fisiológicas foram negativamente afetadas pela doença.

Com o aumento da severidade da doença observa-se decréscimo linear, em ambos os clones, dos teores de clorofila *a*, clorofilas *a+b* e carotenoides. O mesmo comportamento foi verificado no conteúdo de clorofila *b* apenas nas mudas do clone 2 (Figura 4).

Figura 4 – Variação dos teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas *a+b* e carotenoides de folhas de dois clones de eucalipto em função da severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*), 16 dias após a inoculação

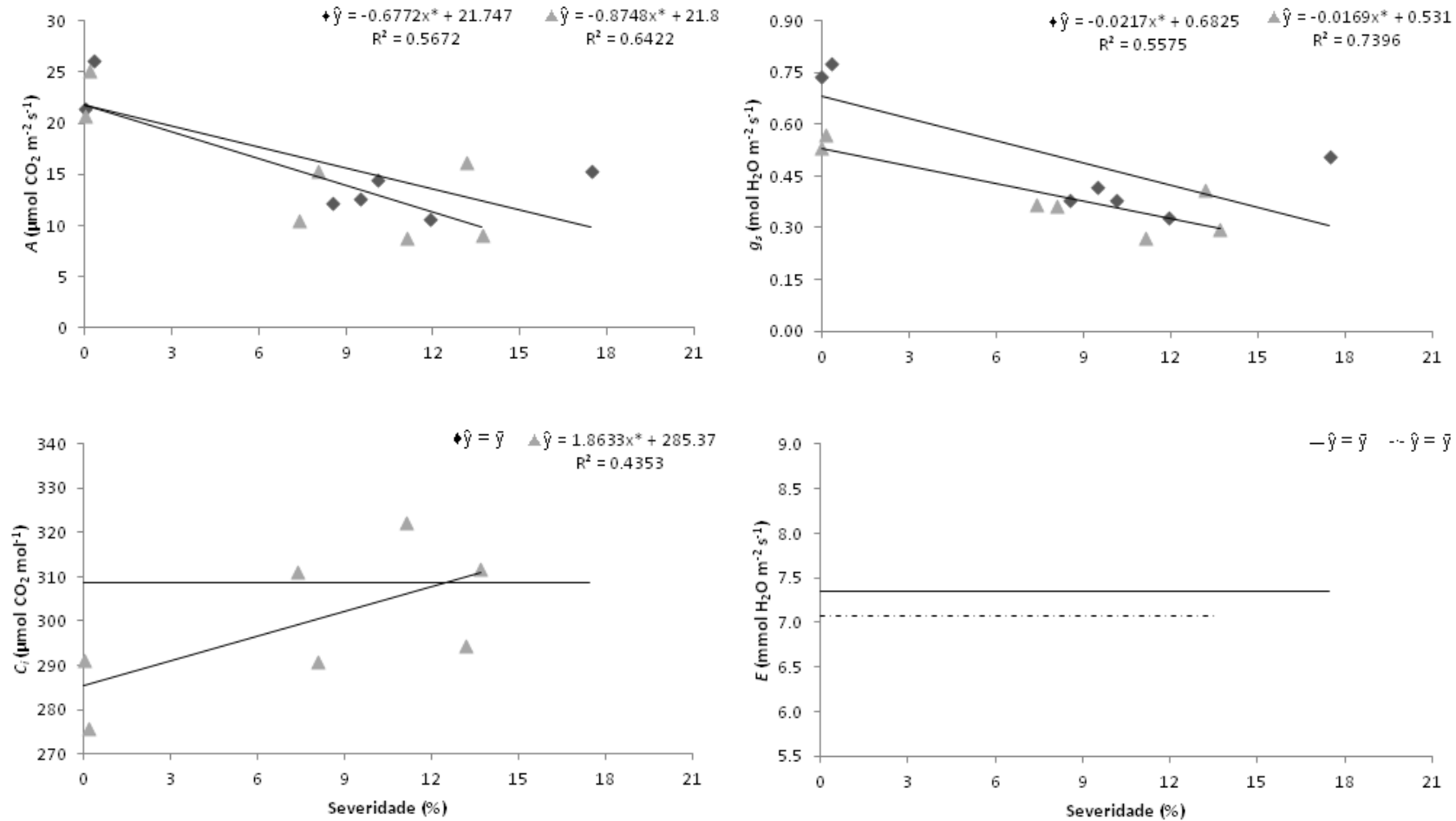


◆ Clone 1; ▲ Clone 2; MF: matéria fresca; * Significativo a 5% de probabilidade; Dados originais não transformados. Fonte: o autor.

A variação nos valores da taxa de assimilação líquida de CO_2 (A) e condutância estomática (g_s), em ambos os clones, foi inversamente proporcional a severidade da doença. A mesma relação foi observada para a concentração intercelular de CO_2 (C_i) em mudas do clone 2. Entretanto, não houve influência significativa da severidade da doença sobre a taxa de transpiração (E) (Figura 5).

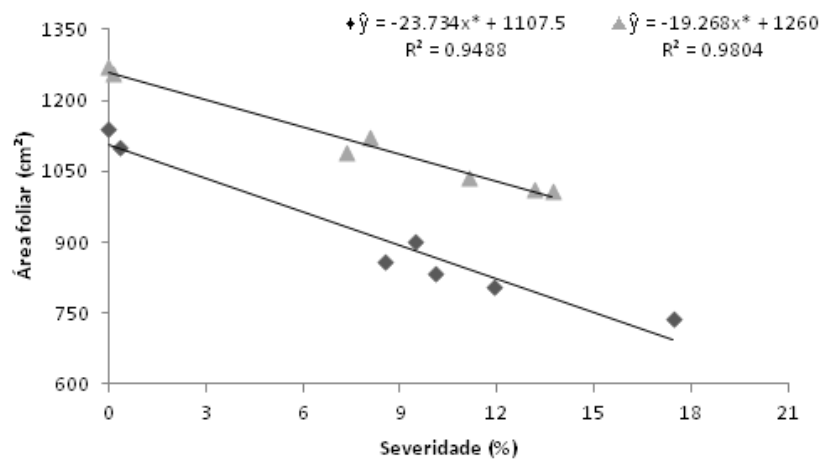
Quanto à área foliar, foi observada redução proporcional ao aumento da intensidade da doença nos dois clones estudados (Figura 6).

Figura 5 – Variação da taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO₂ (C_i) e taxa de transpiração (E) de folhas de clones de eucalipto em função da severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*), aos 16 dias após a inoculação



◆ – Clone 1; ▲ – Clone 2; * Significativo a 5% de probabilidade. Fonte: o autor.

Figura 6 – Variação da área foliar de clones de eucalipto em função da severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*), aos 30 dias após a inoculação



◆ Clone 1; ▲ Clone 2.; * Significativo a 5% de probabilidade. Dados originais não transformados.
Fonte: o autor.

6 DISCUSSÃO

6.1 DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA

A doença não ocorreu na ausência de molhamento foliar (0 h), corroborando com resultados obtidos em outros trabalhos, que comprovam a necessidade de um período mínimo de molhamento foliar, condicionada à alta umidade relativa ou formação de orvalho no campo, para que ocorra o processo de infecção de *P. psidii* (FERREIRA, 1983; RUIZ et al., 1989a, 1989b). Considerando os pressupostos do triângulo de doença, ou seja hospedeiro suscetível, patógeno virulento e/ou agressivo e ambiente favorável, o não atendimento de algum destes quesitos resulta no insucesso no estabelecimento da doença (VALE; JESUS JUNIOR; ZAMBOLIM, 2004b).

Ao retirar a condição de restrição, pequenos incrementos na duração do período de molhamento foliar propiciaram a manifestação da doença, embora retardando o aparecimento dos sintomas da doença e sinais do patógeno. Observa-se, portanto, uma relação inversa entre os períodos latentes e de incubação e a duração do período de molhamento foliar. Nota-se ainda que há certa proporcionalidade entre os períodos de incubação e latente com uma diferença aproximada de dois dias do aparecimento dos sintomas e a evidenciação dos sinais do patógeno. Nos tratamentos nos quais foram observados a infecção pelo patógeno, o período para surgimento dos primeiros sintomas variou de 3-5 dias após a inoculação, valores estes similares aos relatados por Xavier et al. (2001), em estudo com *P. psidii* em condições controladas.

O período latente indica como os fatores ambientais e do hospedeiro, de maneira conjunta, afetam os diversos subprocessos como a infecção inicial, seguida da expansão do patógeno dentro das células do hospedeiro e iniciação da esporulação (XU, 1999). O período latente de *P. psidii* pode variar dependendo do material genético do hospedeiro e da origem do inóculo. Aparecido, Camilo e Furtado (2013) avaliando a variabilidade patogênica deste fungo utilizando várias espécies de mirtáceas e inóculo de diferentes origens em inoculações cruzadas

observaram um período latente de 11 dias. Outros autores relatam que o período latente médio deste patógeno pode variar de 6 a 12 dias, tendo casos de 4 à 7 dias para o surgimento das primeiras pústulas (CASTRO, 1983; MAFIA; MARCHESI; AUN, 2012; RUIZ et al., 1989b). Gilles et al. (2000) observaram que o período latente de *Pyrenopeziza brassicae* infectando plantas de *Brassica napus* diminuiu a medida que aumentou a duração do período de molhamento foliar na infecção. Estes estudos corroboram com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Com o estabelecimento da doença a partir de uma duração mínima de molhamento foliar, a incidência e a severidade aumentaram e, conseqüentemente, o progresso da ferrugem ao longo do tempo foi favorecido pelo prolongamento da condição de água livre sob a superfície foliar na fase de infecção do *P. psidii*, até o limite de 18 h. A diminuição da severidade da doença observado acima deste valor de DPMF pode estar relacionada com a interação do inóculo de *P. psidii* com microorganismos antagonistas presentes no filopiano que desfavoreceram a infecção nos níveis mais elevados de DPMF (AGRIOS, 2004) como também pode-se pressupor que tenha ocorrido o efeito de autoinibidores na germinação de uredíniosporos do patógeno, uma vez que a existência dessas substâncias no gênero *Puccinia* são relatadas na literatura (ALLEN, 1972; MACKO et al., 1972; SALUSTIANO et al., 2008). Considerando a severidade ao longo do tempo, a diminuição da intensidade da doença observada aos 16 d.a.i. teve relação com o desfolhamento sucedido nas plantas com perda de folhas marcadas e a inserção de outras folhas infectadas de igual posição no ramo na amostra analisada.

Observa-se que a disponibilidade de água livre sobre a superfície da folha por um período de tempo maior pode favorecer a formação de maior quantidade de apressórios do patógeno sobre o tecido foliar garantindo maior probabilidade de sucesso da infecção e maior expressão da doença (MILLES et al., 2013). Angelotti et al. (2014) estudaram a ferrugem da videira (*Phakopsora euvitis*) e verificaram que houve aumento da intensidade da doença com o aumento da duração do período de molhamento foliar de 6 a 12 h após a inoculação, porém não observou-se este comportamento quando a DPMF aumentou de 12 para 24 h.

Segundo Xavier et al. (2001), de modo geral, para o caso da ferrugem do eucalipto, a germinação e formação dos apressórios de uredíniosporos acontecem com 12 e 18 h após a inoculação, respectivamente, com posterior formação de

haustório 18 e 24 h após a inoculação para genótipos suscetíveis e resistentes, respectivamente.

Para outros patossistemas também foram verificadas correlação direta entre severidade e a DPMF. Andrade et al. (2007), avaliando a severidade da mancha foliar de *Quambalaria eucalypti* em clone de eucalipto sob diferentes condições de temperatura, luminosidade e molhamento foliar, verificaram uma resposta exponencial para a intensidade da doença em relação à DPMF. Costa et al. (2007) observaram aumento significativo da infecção e severidade de *P. substriata* var. *penicillariae* em cultivares de milho (*Pennisetum glaucum*) com o aumento da DPMF, com diferentes intensidades dependendo da cultivar. Os autores ressaltaram que para este patógeno 45 minutos de molhamento foliar foram suficientes para ocorrer a infecção, sugerindo que períodos curtos de favorabilidade climática podem ser suficientes para ocorrência da doença. A severidade da ferrugem marrom (*Puccinia melanocephala*) em cana-de-açúcar foi progressivamente maior quando aumentou a DPMF de 7 para 10 h, à 17 e 19 °C, entretanto não houve infecção com 4 h de DPMF independentemente da temperatura (BARRERA; HOY; LI, 2012).

Autores relatam que para *P. psidii* há necessidade de um período mínimo de molhamento foliar de 6 a 8 horas, a temperatura de 18 a 25 °C, para ocorrência da infecção (Ruiz et al., 1989a; 1989b; CASTRO, 1983). Tessmann et al. (2001) observaram uma dependência entre duração do período de molhamento foliar de pelo menos 6 h com temperaturas noturnas favoráveis de 18 a 20 °C para ocorrência da doença.

Contudo, observou-se neste trabalho que a infecção e reprodução do patógeno ocorreram quando considerado pelo menos 4 h de DPMF. Mesmo que em baixa intensidade os uredíniosporos produzidos podem servir como fonte de inóculo para infectar outras plantas ou reinoculações na mesma planta, gerando, em ciclos posteriores, uma intensidade maior ou menor da doença dependendo da ocorrência de condições climáticas favoráveis no ambiente (MORAES et al., 1982).

Entretanto, quando se realiza o zoneamento da ferrugem empregando-se o índice de infecção proposto por Ruiz et al. (1989b), verifica-se a ocorrência de divergências entre a favorabilidade climática simulada pelo modelo e o aparecimento da doença no campo. Silva (2013) avaliou a intensidade da ferrugem em plantios de eucalipto em localidades do extremo sul da Bahia e relacionou os valores obtidos

com o índice de infecção. O autor verificou que ocorreram inconsistências, uma vez que para meses considerados desfavoráveis à doença com base no índice de infecção, o autor detectou alta severidade da ferrugem. Além disso, o oposto também foi observado, ou seja, para meses considerados favoráveis à doença com base no índice de infecção, foi detectada baixa intensidade da doença no campo. O autor inferiu que curtos períodos de tempo com condições climáticas favoráveis à doença, podem ter efeitos compensatórios em relação a períodos desfavoráveis, como também que a DPMF não necessita ser igual ou superior à 6 horas para provocar a doença. Bora (2013) afirma que a DPMF de 4 horas foi a condição mais favorável à ocorrência da ferrugem em plantios de eucalipto no estado do Paraná. Deste modo, os resultados obtidos neste trabalho corroboram com os trabalhos anteriores demonstrando que o molhamento foliar é um fator climático extremamente importante e que a DPMF de 4 h é suficiente para ocasionar a infecção do patógeno.

De forma geral, o clone 1 foi mais suscetível à doença. Diante do exposto pode-se inferir que dependendo do nível de resistência do material genético do hospedeiro, o patógeno pode requerer um período de molhamento foliar maior para atingir uma máxima intensidade da doença. Neves et al. (2014) observando o estabelecimento e desenvolvimento da mancha foliar do eucalipto causada pela bactéria *Xantomonas axonopodis* em diferentes DPMF, sugerem que o comportamento dos sintomas pode diferir entre clones ou espécies de eucaliptos, como também um clone pode possuir características mais suscetíveis em folhas mais novas em um clone do que em outro. Tal fato também pode explicar as divergências encontradas neste estudo com o fungo *P. psidii* entre os materiais vegetais analisados.

O comportamento da doença nas diferentes DPMF pode ter sido influenciado pelas condições ambientais simuladas no experimento. É certo que no campo, dependendo da região de determinado plantio de eucalipto, outros fatores climáticos tendem a afetar a infecção do patógeno e subsequente desenvolvimento da doença como temperatura e precipitação, que podem conjuntamente com a DPMF propiciar a ocorrência ou não da ferrugem no campo (SILVA, 2013; TESSMANN et al., 2001; ZAUZA et al., 2010).

Diante disso, considerando-se as condições climáticas propícias a ocorrência da ferrugem de temperatura e umidade descritas na literatura e uma DPMF mínima

de 4 h para a infecção do patógeno encontradas neste trabalho, observa-se que essas situações podem acontecer muitas vezes durante o período noturno, assim, favorecendo a manutenção de uredíniosporos no campo de forma endêmica, o que implica na intensificação do monitoramento desta doença nos plantios.

6.2 RESPOSTAS FISIOLÓGICAS

A doença influenciou negativamente as respostas fisiológicas avaliadas nos dois clones de eucalipto estudados. O molhamento foliar pode ter propiciado, com a duração adequada, uma condição que estimulou a germinação de esporos e a formação e penetração dos apressórios sobre a folha, assim como também relatado por Milles et al. (2013) em frutos de mirtilo infectados com *Colletotrichum acutatum*. As consequentes alterações nas respostas fisiológicas encontradas relacionam-se ao modo de infecção e desenvolvimento do fungo. *Puccinia psidii* é um organismo biotrófico e sua relação obrigatória com as células vivas dos hospedeiros para se nutrir, sobreviver e reproduzir causa o consequente lesionamento dos tecidos vegetais (APARECIDO; CAMILO; FURTADO, 2013; XAVIER et al., 2001).

Deste modo, os teores de clorofilas e carotenoides foram comprometidos em decorrência dos danos causados pelas estruturas de infecção de *P. psidii* às células do mesofilo, onde estão contidos estes pigmentos fotossintetizantes. A diminuição dos pigmentos frente à infecções fúngicas também foi observado em outros patossistemas de ferrugens como a do trigo causada por *P. triticina*, da soja por *Phakopsora pachyrhizi* e em salgueiro por *Melampsora* sp. (CARRETERO; BACAL; MIRALLES, 2011; ADB EL-GHANY; EMAN; EL-SHEIKH, 2009; KUMUDINI et al., 2006).

Os componentes das trocas gasosas taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (g_s) e concentração intercelular de CO₂ (C_i) foram afetados negativamente pela ferrugem do eucalipto. A infecção do patógeno limitou a abertura dos estômatos, evidenciada pela menor condutância estomática em níveis mais elevados de severidade, o que implica na redução ou cessamento da passagem de CO₂ para células do mesofilo.

Embora a condutância estomática tenha sido reduzida, houve aumento da concentração intercelular de CO₂ o que pode indicar que houve avaria da estrutura das células do mesofilo uma vez que as moléculas de dióxido de carbono difundidas podem não estar sendo fixadas pela enzima Rubisco na fase de carboxilação da fotossíntese, provocando deste modo, o acúmulo de CO₂ nos espaços intercelulares, além disto, pode ter ocorrido elevação do processo de respiração do patógeno (PINKARD; MOHAMMED, 2006; TATAGIBA, 2013; TATAGIBA; DAMATTA; RODRIGUES, 2015;). Deste modo, infere-se que a diminuição da taxa de assimilação líquida de CO₂ foi determinada por fatores não estomáticos, assim como observado em outros patossistemas (CARRETERO; BACAL; MIRALLES, 2011; DALLAGNOL et al., 2010; PINKARD; MOHAMMED, 2006; RIOS et al, 2014).

Alves et al. (2011) relatam que as trocas gasosas e parâmetros da fluorescência da clorofila *a* de plantas de eucalipto à ferrugem foram negativamente afetadas quando infectadas com *P. psidii*, diminuindo a eficiência fotoquímica máxima da PSII. Em plantas de cana-de-açúcar infectadas com *P. kuehni* também foi observado que nas áreas foliares lesionadas houve decréscimo linear na taxa fotossintética, condutância estomática e taxa de transpiração e aumento da concentração intercelular de CO₂ com a elevação da classificação da severidade da ferrugem alaranjada (ZHAO et al., 2011). Costa et al. (2009) observaram que folhas de milho infectadas por *P. substriata* var. *penicillariae* apresentaram valores mais baixos de potencial fotossintético do que folhas saudas, indicando que o processo de colonização do patógeno afetou a fotossíntese da planta.

A diminuição da área foliar foi ocasionada, principalmente, pelo desfolhamento observado nos maiores níveis de severidade da doença. Balmelli et al. (2013), estudando as doenças *Teratospharia nubilosa* e *P. psidii* incidindo conjuntamente em *E. globulus*, consideraram o valor de 40% de desfolhamento e 30% de manchas foliares como limites de tolerância da planta capaz de afetar significativamente seu crescimento.

Ambos os clones foram suscetíveis à ferrugem e na maioria dos aspectos fisiológicos analisados comportaram-se de forma semelhante na presença da doença. Assim, a intensidade da doença afetou as trocas gasosas, pigmentos foliares e área foliar, ocasionando alterações deletérias ao funcionamento fisiológico da planta.

7 CONCLUSÕES

A ausência de molhamento foliar não permitiu a manifestação da doença.

A duração mínima do período de molhamento foliar de 4 h foi suficiente para propiciar a infecção de *P. psidii* e desenvolvimento da ferrugem, embora em menor intensidade da doença.

Quatro e seis dias constituíram, respectivamente, os períodos de incubação e latente de *P. psidii* com DPMF acima ou igual a 8 h.

Durações a partir de 8 h de molhamento foliar proporcionam maior intensidade da doença.

A ferrugem comprometeu as respostas fisiológicas da planta com: (I) redução da taxa de assimilação líquida de CO₂ e da condutância estomática e aumento na concentração intercelular de CO₂; (II) diminuição dos teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas *a+b* e carotenoides; e (III) decréscimo da área foliar total da planta.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADB EL-GHANY, T. M.; EMAN, M. E. T.; EL-SHEIKH, H. H. Efficacy of fungal rust disease on willow plant in Egypt. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, [S.l.], v. 3, n. 3, p. 1527-1539, July-Sep. 2009.

AGRIOS, G. N. Effects of pathogens on plant physiological functions. In: _____. **Plant pathology**. 5th ed. Burlington, MA, USA: Academic Press, 2004. cap. 3, p. 105-123.

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; ASSIS, T. F. First record of *Puccinia psidii* on *Eucalyptus globulus* and *E. viminalis* in Brazil. **Australasian Plant Pathology**, [S.l.], v. 32, n. 2, p. 325–326, jun. 2003.

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, MG: UFV, 2009. 500 p.

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; WINGFIELD, M. J.; ROUX, J.; GLEN, M. *Heteropyxis natalensis*, a new host of *Puccinia psidii* rust. **Australasian Plant Pathology**, [S.l.], v. 34, n. 2, p. 285-286, June 2005.

ALLEN, P. J. Specificity of the cis-isomers of inhibitors of uredospore germination in the rust fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.69, n. 12, p. 3497-3500, Dec.1972.

ALVES, A. A.; GUIMARÃES, L. M. da S.; CHAVES, A. R. de M.; DAMATTA, F. M.; ALFENAS, A. C. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence of *Eucalyptus urophylla* in response to *Puccinia psidii* infection. **Acta Physiologiae Plantarum**, Kraków, v. 33, n. 5, p. 1831-1839, Set. 2011.

ANDRADE, G. C. G.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; ZAUZA, E. Â. V.; COUTO, M. M. F.; MAFFIA, L. A. Características culturais e severidade da mancha foliar de *Quambalaria eucalypti* sob diferentes regimes de temperatura, luz e período de molhamento foliar. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 4, p. 329-334, jul.-ago. 2007.

ANGELOTTI, F.; SCAPIN, C. R.; TESSMANN, D. J.; VIDA, J. B.; CANTERI, M. G. The effect of temperature, leaf wetness and light on development of grapevine rust. **Australasian Plant Pathology**, [S.l.], v. 43, n. 1, p.9-13, Jan. 2014.

APARECIDO, C. C.; CAMILO, C. M.; FURTADO, E. L. Preservação de urediniosporos de *Puccinia psidii* sob ultracongelamento (-80°C) e avaliação da variabilidade patogênica. **Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 1, p. 11-16, jan.-jun. 2013. Divulgação técnica.

BALMELLI, G.; SIMETO, S.; ALTIER, N.; MARRONI, V.; DIEZ, J. J. Long term losses caused by foliar diseases on growth and survival of *Eucalyptus globulus* in Uruguay. **New Forests**, [S.l.], v. 44, n. 2, p. 249-263, Mar. 2013.

BARRERA, W.; HOY, J.; LI, B. Temperature and leaf wetness effects on infection of sugarcane by *Puccinia melanocephala*. **Journal of Phytopathology**, [S.l.], v. 160, n. 6, p. 294-298, June 2012.

BOOTH, T. H. Eucalypt plantations and climate change. **Forest Ecology and Management**, [S.l.], v. 301, p. 28-34, Aug. 2013.

BORA, K. C. **Favorabilidade climática da ferrugem do eucalipto no estado do Paraná**. 2013. 59 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

CARNEGIE, A. J. First report of *Puccinia psidii* (myrtle rust) in *Eucalyptus* plantations in Australia. **Plant Disease**, [S.l.], v. 99, n.1, p. 161, Jan. 2015.

CARRETERO, R.; BANCAL, M. O.; MIRALLES, D. J. Effect of leaf rust (*Puccinia triticina*) on photosynthesis and related processes of leaves in wheat crops grown at two contrasting sites and with different nitrogen levels. **European Journal of Agronomy**, [S.l.], v. 35, n. 4, p. 237-246, Nov. 2011.

CARVALHO, A. de O de; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; CARMO M. G. F. do. Resistência de espécies, progênies e procedências de *Eucalyptus* à ferrugem, causada por *Puccinia psidii* Winter. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 139-147, fev. 1998.

CASTRO, H. A. de. **Padronização de metodologia de inoculação e avaliação de resistência de *Eucalyptus* sp. à ferrugem causada por *Puccinia psidii* Winter**. 1983. 116 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.

COSTA, A. C. T. DA; OLIVEIRA, L. B. DE; CARMO, M. G. F. DO; PIMENTEL, C. Avaliação visual e do potencial fotossintético para quantificação da ferrugem do milho pérola e correlações com a produção. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 5, Sep.-Oct., 2009.

COSTA, A. C. T.; CARVALHO, A. O.; SOARES, D. J.; CARMO, M. G. F.; PIMENTEL, C. Condições de ambiente favoráveis à germinação e à infecção de *Puccinia substriata* var. *penicillariae* em diferentes cultivares de milho pérola. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 5, p. 400-407, set.-out., 2007.

DALLA MARTA, A.; MAGAREY, R. D.; ORLANDINI, S. Modelling leaf wetness duration and downy mildew simulation on grapevine in Italy. **Agricultural and Forest Meteorology**, [S.l.], v. 132, n. 1-2, p. 84-95, Sept. 2005.

DALLAGNOL, L. J.; RODRIGUES, F. A.; MARTINS, S. C. V.; CAVATTE, P. C.; DAMATTA, F. M. Alterations on rice leaf physiology during infection by *Bipolaris oryzae*. **Australasian Plant Pathology**, [S.l.], v. 40, n. 4, p. 360-365, July, 2011.

- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov.-dez. 2011.
- 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 florestais no Brasil. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 1989. 570 p.
- FONSECA, S. M. da; RESENDE, M. D. V.; ALFENAS, A. C.; GUIMARÃES, L. M. da S.; ASSIS, T. F. de; GRATTAPAGLIA, D. **Manual prático de melhoramento genético do eucalipto**. Viçosa, MG: Ed. UFV, DFP, 2010. 200 p.
- FORZZA, R. C. et al. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. v. 1. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio/ Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. 2.v., 871 p.
- FURTADO, G. Q.; CASTRO, H. A. de; POZZA, E. A. Variabilidade fisiológica de *Puccinia psidii* Winter em *Eucalyptus grandis* e no híbrido urograndis. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 3, p. 227-231, jul.-set. 2005.
- GARCIA, E. O.; CASAGRANDE, M. V.; RAGO, A. M.; MASSOLA JUNIOR, N. S. Preservação de uredinósporos de *Puccinia melanocephala*, agente causal de ferrugem em cana-de-açúcar. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 2, p. 152-156, abr.-jun. 2007.
- GILLES, T.; FITT, B. D. L.; KENNEDY, R.; WELHAM, S. J.; JEGER, M. J. Effects of temperature and wetness duration on conidial infection, latent period and asexual sporulation of *Pyrenopeziza brassicae* on leaves of oilseed rape. **Plant Pathology**, [S.l.], v. 49, n. 4, 498-508, Aug. 2000.
- HUBER, L.; GILLESPIE, T. J. Modeling leaf wetness in relation to plant disease epidemiology. **Annual Review of Phytopathology**, [S.l.], v. 30, p. 553-77, Sep. 1992.
- INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES – IBÁ. **Ibá 2014**. Brasília: IBÁ, 2014. 100 p.
- JUNGHANS, D. T.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A. Escala de notas para a quantificação da ferrugem em *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 261-265, mar.-abr. 2003.
- KAWANISHI, T.; UEMATSU, S.; KAKISHIMA, M.; KAGIWADA, S.; HAMAMOTO, H.; HORIE, H.; NAMBA, S. First report of rust disease on ohia and the causal fungus, *Puccinia psidii*, in Japan. **Journal of General Plant Pathology**, [S.l.], v. 75, n. 6, p. 428-431, Dec. 2009.
- KUMUDINI, S.; PRIOR, E.; OMIELAN, J.; TOLLENAAR, M. Impact of *Phakopsora pachyrhizi* infection on soybean leaf photosynthesis and radiation absorption. **Crop Science**, [S.l.], v. 48, n. 6, p. 2343-2350, Nov.-Dec. 2008.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, San Diego, v. 148, p. 350-382, 1987.

MACKO, V.; STAPLES, R. C.; RENWICK, J. A. A.; PIRONE, J. Germination self-inhibitors of rust uredospores. **Physiological Plant Pathology**, [S.l.], v. 2, n. 4, p. 347-355, Oct. 1972.

MAFIA, R. G.; MARCHESI, H. P.; AUN, C. P. Avaliação de clones de eucalipto para resistência à ferrugem em condições de micropropagação. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 843-849, set.-out. 2012.

MARTINS, M. V. V.; SILVEIRA, S. F.; MAFFIA, L. A. Guava fruit loss caused by rust. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 2, p. 107-113, Apr.-June 2014.

MARTINS, M. V. V.; SERRANO, L. A. L.; LIMA, I. de M.; OLIVEIRA, E. B. de. Incidência e controle químico da ferrugem da goiabeira em diferentes épocas de poda na região norte do Espírito Santo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 2, p. 178-184, mar.-abr. 2012.

MARTINS, M. V. V.; SILVEIRA, S. F.; MAFFIA, L. A.; ROCABADO, J. M. A.; MUSSI-DIAS, V. Chemical control of guava rust (*Puccinia psidii*) in the Northern Region of Rio de Janeiro State, Brazil. **Australasian Plant Pathology**, [S.l.], v. 40, n. 1, p. 48-54, Jan. 2011.

MASSON, M. V. **Ferrugem do eucalipto**: planejamento evasivo, estimativa de dano e análise da viabilidade do controle químico. 2009. 167 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2009.

MASSON, M. V.; MORAES, W. B.; MATOS, W. C.; ALVES, J. M.; FURTADO, E. L. Eficiência e viabilidade econômica do controle químico da ferrugem do eucalipto em condições de campo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 2, p. 107-112, Apr.-June 2011.

MILES, T. D.; GILLETT, J. M.; JAROSZ, A. M.; SCHILDER, A. M. C. The effect of environmental factors on infection of blueberry fruit by *Colletotrichum acutatum*. **Plant Pathology**, [S.l.], v. 62, n. 6, p. 1238-1247, Dec. 2013.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. **Agrofit**. Disponível em:

<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 4 mar. 2015.

MORAES, T. S. de A; GONÇALVES, E. L.; REZENDE, G. C. de; MENDES, C. J.; SUITER FILHO, W. **Evolução da ferrugem causada pela *Puccinia psidii* Winter em *Eucalyptus* spp.**: Dados preliminares. Piracicaba: IPEF, Circular Técnica 144, p.1-12, 1982.

- MORAES, W. B. **Ferrugem do eucalipto**: favorabilidade climática e métodos de aplicação de fungicida para controle. 2013. 71 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho. Botucatu: UNESP, 2013.
- MORAES, W. B.; JESUS JÚNIOR, W. C.; MAFIA, R. G.; MORAES, W. B.; CECÍLIO, R. A. Mapeamento de áreas de risco para ocorrência da ferrugem do eucalipto no Espírito Santo e extremo sul da Bahia. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 2, p.147-155, Apr.-June. 2014.
- MORIN, L.; AVEYARD, R.; LIDBETTER, J. R.; WILSON, P. G. Investigating the Host-Range of the Rust Fungus *Puccinia psidii* sensu lato across Tribes of the Family Myrtaceae Present in Australia. **Plos One**, [S.I.], v. 7, n. 4, p.1-7, abr. 2012.
- NEVES, D. A.; GUIMARÃES, L. M. S.; FERRAZ, H. G. M.; ALFENAS, A. C. Favorable conditions for *Xanthomonas axonopodis* infection in *Eucalyptus* spp. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 39, n. 6, p. 428-433 Nov.-Dec. 2014.
- OBANOR, F. O.; WALTER, M.; JONES, E. E.; JASPERS, M. V. Effects of temperature, inoculum concentration, leaf age, and continuous and interrupted wetness on infection of olive plants by *Spilocaea oleagina*. **Plant Pathology**, [S.I.], v. 60, n. 2, p. 190-199, Apr. 2011.
- PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. **Agrometeorologia: fundamentos e aplicações práticas**. 1. ed. Guaíba: Agropecuária, 2002.
- PIERI, C. de. **Caracterização de *Puccinia psidii*, identificação de mirtáceas diferenciadoras de raças fisiológicas e estudos anatômicos do limbo foliar relacionados à resistência**. 2012. 171 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho". Botucatu, 2012.
- PINKARD, E. A.; MOHAMMED, C. L. Photosynthesis of *Eucalyptus globulus* with *Mycosphaerella* leaf disease. **New Phytologist**, [S.I.], v. 170, n.1, p. 119-127, Mar. 2006.
- PIROVANI, D. B. **Cenários de mudanças climáticas e impacto no zoneamento agroclimático de espécies florestais no estado do Espírito Santo**. 2014. 120 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2014.
- RIOS, J. A.; RODRIGUES, F. de A.; DEBONA, D.; SILVA, L. C. Photosynthetic gas exchange in leaves of wheat plants supplied with silicon and infected with *Pyricularia oryzae*. **Acta Physiologiae Plantarum**, [S.I.], v. 36, n. 2, p. 371-379, Feb. 2014.
- RUIZ, R. A. R.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; VALE, F. X. R. do. 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, abr. 1989b.

RUIZ, R. A. R.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, A. L.; BARBOSA, M. de M. Progresso da ferrugem do eucalipto, causada por *Puccinia psidii*, em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 1, p. 73-81, abr. 1989a.

SALUSTIANO, M. E.; POZZA, E. A.; FERRAZ FILHO, A. C.; CASTRO, H. A. Viability of *Puccinia psidii* urediniospores stored in different environments. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 4, p.313-316, July-Aug. 2008.

SANTOS, C. A. G. dos. **Estudos epidemiológicos da ferrugem do eucalipto causado por *Puccinia psidii* em plantios irrigados**. 2006. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Botucatu, 2006.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effects of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, [S.l.], v. 67, p. 1051-1056, Aug. 1977.

SILVA, A. C. da; ANDRADE, P. M. T. de; ALFENAS, A. C.; GRAÇA, R. N.; CANNON, P.; HAUFF, R.; FERREIRA, D. C.; MORI, S. Virulence and Impact of Brazilian Strains of *Puccinia psidii* on Hawaiian 'Ōhi'a (*Metrosideros polymorpha*). **Pacific Science**, Mānoa, v. 68, n. 1, p. 47-56, Jan. 2014.

SILVA, F. de A. S. e.; AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.1, p. 71-78, 2002.

SILVA, L. G. da. **Planejamento evasivo para o manejo da ferrugem do eucalipto (*Puccinia psidii*)**. 2013. 68 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2013.

SILVA, P. H. M.; MIRANDA, A. C.; MORAES, M. L. T.; FURTADO, E. L.; STAPE, J. L.; ALVARES, C. A.; SENTELHAS, P. C.; MORI, E. S.; SEBBENN, A. M. Selecting for rust (*Puccinia psidii*) resistance in *Eucalyptus grandis* in São Paulo State, Brazil. **Forest Ecology and Management**, [S.l.], v. 303, p. 91-97, Set. 2013.

TAKAHASHI, S. S. **Ferrugem do eucalipto: índice de infecção, análise temporal e estimativas de danos relacionadas à intensidade da doença no campo**. 2002. 101 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Botucatu, 2002.

TATAGIBA, S. D. **Fotossíntese, metabolismo antioxidativo e respostas de defesa de plantas de arroz infectadas por *Microdochium oryzae* e supridas com silício**. 2013. 126 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

TATAGIBA, S. D.; DAMATTA, F. M.; RODRIGUES, F. A. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence imaging of rice leaves infected with *Monographella albescens*. **Phytopathology**, [S.l.], v. 105, n. 2, p. 180-188, Feb. 2015

TEIXEIRA, J. E. C.; GUEDES, F. T. P.; DIAS, D. C.; BONINE, C. A. V.; CAMARGO, L. E. A. Análise da herança da resistência a *Puccinia psidii* em progênies de híbridos interespecíficos de eucalipto avaliadas sob condições naturais de infecção. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 203-210, July-Aug. 2009.

TESSMANN, D. J.; DIANESE, J. C.; MIRANDA, A. C.; CASTRO, L. H. R. Epidemiology of a Neotropical rust (*Puccinia psidii*): periodical analysis of the temporal progress in a perennial host (*Syzygium jambos*). **Plant Pathology**, [S.l.], v. 50, n. 6, p. 725-731, Dec. 2001.

TOMMERUP, I. C.; ALFENAS, A. C.; OLD, K. M. Guava rust in Brazil - a threat to *Eucalyptus* and other Myrtaceae. **New Zealand Journal of Forestry Science**, [S.l.], v. 33, n. 3, p. 420-428, Jan. 2003.

UCHIDA, J.; ZHONG, S.; KILLGORE, E. First report of a rust disease on ohia caused by *Puccinia psidii* in Hawaii. **Plant Disease**, [S.l.], v. 90, n. 4, p. 524-524, Apr. 2006.

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

VALE, F. X. R.; JESUS JUNIOR, W. C.; ZAMBOLIM, L. Natureza das epidemias. In: VALE, F. X. R.; JESUS JUNIOR, W. C.; ZAMBOLIM, L. (Eds.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfíl, 2004b. p. 19-46.

VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, L. C.; LIBERATO, J. R.; DIAS, A. P. da S. Influência do clima no desenvolvimento de doenças de plantas. In: VALE, F. X. R.; JESUS JUNIOR, W. C.; ZAMBOLIM, L. (Eds.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfíl, 2004a. p. 47-87.

XAVIER, A. A.; ALFENAS, A. C.; MATSUOKA, K.; HODGES, C. S. Infection of resistant and susceptible *Eucalyptus grandis* genotypes by urediniospores of *Puccinia psidii*. **Australasian Plant Pathology**, [S.l.], v. 30, n. 3, p. 277-281, Sep. 2001.

XU, X.-M. Effects of temperature on the latent period of the rose powdery mildew pathogen, *Sphaerotheca pannosa*. **Plant Pathology**, [S.l.], v. 48, n. 5, p. 662-667, Oct. 1999.

ZAMBINO, P. J.; NOLAN, P. A. First report of rust caused by *Puccinia psidii* on Paperbark, *Melaleuca quinquenervia*, in California. **Plant Disease**, [S.l.], v. 95, n. 10, p. 1314-1314, Oct. 2011.

ZAMBOLIM, L.; JESUS JÚNIOR, W. C. de; PEREIRA, O. L. **O essencial da Fitopatologia**: Agentes causais. v.1. Viçosa, MG, UFV, 2012. 364 p.

ZAUZA, E. A. V.; COUTO, M. M. F.; LANA, V. M.; MAFFIA, L. A.; ALFENAS, A. C. Vertical spread of *Puccinia psidii* urediniospores and development of eucalyptus rust

at different heights. **Australasian Plant Pathology**, [S.I.], v. 39, n. 2, p. 141-145, Mar. 2010.

ZHAO, D.; GLYNN, N. C.; GLAZ, B.; COMSTOCK, J. C.; SOOD, S. Orange rust effects on leaf photosynthesis and related characters of sugarcane. **Plant Disease**, [S.I.], v. 95, n. 6, p. 640-647, Jun. 2011.