

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

**PRODUÇÃO DE BASIDIOSPOROS, INIBIDORES DA GERMINAÇÃO E  
PATOGENICIDADE DE *Puccinia pampeana* SPEG. A *Capsicum* spp.**

**MARTHA MARIA PASSADOR**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agronômicas da UNESP –  
Campus de Botucatu, para obtenção do  
título de Mestre em Agronomia  
(Proteção de Plantas)

BOTUCATU-SP

Maio - 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

**PRODUÇÃO DE BASIDIOSPOROS, INIBIDORES DA GERMINAÇÃO E  
PATOGENICIDADE DE *Puccinia pampeana* SPEG. A *Capsicum* spp.**

**MARTHA MARIA PASSADOR**

Bióloga

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Furtado

Co-orientador: Dr. Mário Barreto Figueiredo

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agronômicas da UNESP –  
Campus de Botucatu, para obtenção do  
título de Mestre em Agronomia  
(Proteção de Plantas)

BOTUCATU-SP

Maio – 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO  
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

P285p Passador, Martha Maria, 1979-  
Produção de basidiosporos, inibidores da germinação e patogenicidade de *Puccinia pampeana* Speg. a *Capsicum* spp. / Martha Maria Passador. - Botucatu : [s.n.], 2007.  
iiv, 80 f. : il. color., gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2007  
Orientador: Edson Luiz Furtado  
Co-orientador: Mário Barreto Figueiredo  
Inclui bibliografia

1. Fungos-da-ferrugem. 2. Pimentão. 3. Basidiomiceto. 4. Patogenicidade. 5. Fitopatologia. I. Furtado, Edson Luiz. II. Figueiredo, Mário Barreto. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. VI. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “PRODUÇÃO DE BASIDIOSPOROS, INIBIDORES DA GERMINAÇÃO E  
PATOGENICIDADE DE *Puccinia pampeana* SPEG. A *Capsicum* spp.”

ALUNA: MARTHA MARIA PASSADOR

ORIENTADOR: PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO

CO-ORIENTADOR: DR. MÁRIO BARRETO FIGUEIREDO

Aprovado pela Comissão Examinadora

---

PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO

---

PROF. DR. NILTON LUIZ DE SOUZA.

---

DR. RÔMULO FUJITO KOBORI

Data da Realização: 10 de maio de 2007.

**Ao meu pai, Ozair**

**À minha mãe, Maria Conceta**

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por sua presença em minha vida.

À Faculdade de Ciências agrônômicas – FCA/UNESP – Universidade Estadual Paulista do Campus de Botucatu, pela oportunidade de realizar o Curso de Mestrado.

Ao Dr. Mário Barreto Figueiredo, do Instituto Biológico, que devido ao seu apoio e confiança, despertou meu interesse pela pesquisa. Agradeço pela paciência, incentivo, apoio científico, ensinamentos, generosidade, compreensão e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Edson Luiz Furtado, Professor da UNESP – Botucatu, pela orientação, oportunidade concedida, pelo apoio oferecido durante a realização da Dissertação, pelas sugestões fornecidas, ensinamentos, pela paciência e pela amizade.

Ao Prof Dr. Nilton Luiz de Souza, Professor da UNESP – Botucatu, e ex-coordenador do curso de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni, Professor da UNESP – Botucatu, coordenador do curso de pós-graduação e a todos os demais e a todos os demais Professores e funcionários da UNESP – Botucatu – Departamento de Produção vegetal (DDF), da Biblioteca e da Seção de pós-graduação, pelo apoio que nunca nos faltou.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Dr. Alexandre Mori, da Sakata Seeds, e a Dra. Arlete Marchi Tavares de Melo, Pesquisadora Científica do Instituto Agronômico de Campinas – Centro de Horticultura, pelo envio de sementes que foram utilizadas nesta dissertação.

Ao meu pai Ozair e à minha mãe Maria Conceta pelo exemplo de seriedade, honestidade, perseverança, carinho e amor que me tem acompanhado, pela luz da busca que acenderam em minha vida, e pela oportunidade de estudo.

À minha irmã Fabiana e aos meus tios Salete e João pelo incentivo, amor, carinho e colaboração. À minha avó Maria Francisca e ao meu tio Luiz, agradeço de coração.

À Dra. Christiane Ceriani Aparecido, Pesquisadora Científica do Instituto Biológico de São Paulo, pela amizade, paciência e apoio sempre presente.

Às Biólogas e amigas Marcela Castilho Boro e Cylmara Terturiano Mourão, às estudantes de Biologia Daniele Finatti, Dulce Sachito Yamamoto Figueiredo e Gabrielle

Ribeiro de Andrade, e ao Engenheiro Agrônomo Silvio Tamashiro pelo auxílio em algumas fases dos experimentos.

Aos amigos Julio, André, Caroline, Priscila, Kelly, Renata, Márcia, Priscila da Silva, Juliana e Cristina, pelo apoio e estímulo.

Aos colegas do Instituto Biológico de São Paulo e da Faculdade de Ciências agronômicas – FCA/UNESP – Universidade Estadual Paulista do Campus de Botucatu, pelo apoio.

Aos professores e funcionários do Departamento de Produção Vegetal/Defesa Fitossanitária, pelos ensinamentos e amizade.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta dissertação.

## SUMÁRIO

1	RESUMO.....	1
2	SUMMARY.....	3
3	INTRODUÇÃO.....	5
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	8
	CAPÍTULO I.....	16
	Capacidade de Produção de Basidiosporos por Teliossoros Telióides de <i>Puccinia pampeana</i> Speg., agente causal da ferrugem em <i>Capsicum</i> spp.....	17
	RESUMO.....	17
	ABSTRACT.....	18
	INTRODUÇÃO.....	19
	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
	Obtenção dos teliossoros telióides de <i>Puccinia pampeana</i> .....	20
	Preparo das micro-câmaras úmidas (germinatélio).....	21
	Produção de basidiosporos por teliossoros telióides submetidos a choques de temperaturas.....	21
	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
	CAPÍTULO II.....	34
	Efeito inibidor do extrato aquoso de esporos preparados a partir de teliosporos telióides de <i>Puccinia pampeana</i> Speg., sobre agentes causais de ferrugens.....	35
	RESUMO.....	35
	ABSTRACT.....	36
	INTRODUÇÃO.....	37
	MATERIAL E MÉTODOS.....	38
	Obtenção dos teliosporos telióides de <i>Puccinia pampeana</i> .....	38



Preparação dos extratos.....	39
Patógenos utilizadas nos estudos com extrato aquoso de esporos (EAE).....	39
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
Ensaio sobre a influência dos extratos (EAE) na germinação de esporos de ferrugens.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
CAPÍTULO III.....	54
Especificidade de <i>Puccinia pampeana</i> a cultivares de <i>Capsicum</i> spp. e Outras Solanáceas.....	55
RESUMO.....	55
ABSTRACT.....	56
INTRODUÇÃO.....	56
MATERIAL E MÉTODOS.....	58
Obtenção dos Hospedeiros.....	58
Obtenção do inóculo.....	58
Inoculação em cultivares de <i>Capsicum</i> e outras solanáceas.....	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
Inoculação em cultivares de <i>Capsicum</i> e outras solanáceas.....	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
5 CONCLUSÕES GERAIS.....	71
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

## 1 RESUMO

No presente trabalho, verificou-se a capacidade de produção de basidiosporos produzidos pelos teliossoros telióides de *Puccinia pampeana*. Avaliou-se a inibição da germinação de esporos de três agentes causais de ferrugem pelas substâncias auto-inibidoras, presentes nas paredes dos teliosporos telióides, e a suscetibilidade de espécies de *Capsicum* e também outras solanáceas, como jiló e berinjela. Foi constatado, que choques de temperatura (35°C e 8°C) por 3 horas, em seguida temperatura continua de 12°C, não inviabilizam os teliossoros telióides, apenas provocam diferenças no início da produção de basidiosporos. Quando mantidos a 12°C, e com lavagens diárias dos soros, são capazes de produzir basidiosporos por um período de até 5 meses. Extratos aquosos de esporos (EAE<sub>1</sub>, EAE<sub>2</sub>, EAE<sub>3</sub>, EAE<sub>4</sub>) preparados com 20 mg de teliosporos telióides, continham quantidades de auto-inibidor capazes de inibir teliosporos aecidióides de *P. pampeana*, e uredíniosporos de *Coleosporium plumierae* e de *Hemileia vastatrix*, sendo este efeito inibidor na germinação, comprovado mesmo após 6 horas em contato com os extratos. Nos testes de inoculação observou-se, que nem todas as espécies dentro do gênero *Capsicum*, são suscetíveis, pois algumas apresentaram reação de hipersensibilidade. Como é o caso de *C. annuum* (pimenta

cayenne) e *C. chinense* (pimenta habañero), que após a formação dos espermogônios (11 dias), aos 15 dias da inoculação, apresentou manchas necróticas na região periférica aos espermogônios, interrompendo a infecção. Também foi observada reação de hipersensibilidade, de forma mais moderada em *C. annuum* (pimenta serrano) e *C. baccatum* (chapéu-de-frade) nas folhas, as hastes de ambas as espécies apresentavam estruturas do fungo. Nas outras solanáceas inoculadas: *Solanum gillo* (jiló) e *Solanum melongena* (berinjela), não foram observados os sintomas e sinais da infecção, o que demonstra especificidade desta ferrugem à *Capsicum* spp.

---

Palavras chave: esporulação, inibição da germinação, resistência, especialização fisiológica

BASIDIOSPORES PRODUCTION, GERMINATION INHIBITORS AND PATHOGENICITY OF *Puccinia pampeana* SPEG. TO *Capsicum* spp. Botucatu, 2007. 80p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: MARTHA MARIA PASSADOR

Adviser: EDSON LUIZ FURTADO

Co-adviser: MÁRIO BARRETO FIGUEIREDO

## **2 SUMMARY**

In the present work, we studied the basidiospore production capacity of teloid teliosori of *Puccinia pampeana*. We evaluated the spore germination inhibition of three rust causal agents by self-inhibiting substances present in the walls of teloid teliospores, as well as the susceptibility of *Capsicum* species and other solanaceous plants, such as jiló and eggplant. It was observed that teloid teliosori submitted to temperature shocks (35°C and 8°C) for 3 hours and then maintained at 12°C did not become unviable. The shocks only caused differences in the beginning of basidiospore production. When maintained at 12°C, with the sori washed

daily, they were capable of producing basidiospores for a period of up to 5 months. With regard to spore aqueous extracts (EAE<sub>1</sub>, EAE<sub>2</sub>, EAE<sub>3</sub>, EAE<sub>4</sub>) prepared with 20 mg of teloid teliospores, they contained quantities of the self-inhibitor that were capable of inhibiting *P. pampeana* aecidioid teliospores and *Coleosporium plumierae* and *Hemileia vastatrix* urediniospores. This inhibiting effect on germination was demonstrated even after 6 hours of contact with the extracts. In inoculation tests, it was observed that not all species within the genus *Capsicum* are susceptible, since some of them showed a hypersensitivity reaction, such as *C. chinense* (datil pepper), which, after spermogonia formation (11 days), showed necrotic spots in the peripheral region of the spermogonia at 15 days from inoculation, interrupting the infection. A milder hypersensitivity reaction was also observed in leaves of *C. annuum* (chili pepper) and *C. baccatum* (chapéu-de-frade); the stalks of both species showed structures of the fungus. No symptoms or signs of infection were observed in other solanaceous plants inoculated - *Solanum gillo* (jiló) and *Solanum melongena* (eggplant) - which demonstrates the specificity of this rust to *Capsicum* spp.

---

Key words: sporulation, germination inhibition, resistance, physiology specialization

### 3 INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum* spp. possui de 20 a 25 espécies, normalmente classificadas de acordo com o nível de domesticação. A palavra *Capsicum* vem do termo grego Kapto, que significa morder, picar. O nome foi associado à pungência ou ardor provocado pelo consumo das pimentas, representantes deste gênero (Reifschneider, 2000). Os táxons que compõem este gênero apresentam importância econômica nas áreas de alimentação e medicina. O gênero *Capsicum* é americano com apenas um táxon ocorrendo fora das Américas, é composto por 5 táxons domesticados e 15 a 20 nas categorias semidomesticados e silvestres. A distribuição natural dos táxons americanos restringe-se a duas zonas: zona andina e zona litorânea brasileira (Bianchetti, 1999).

Além do pimentão (*Capsicum annuum* var. *annuum*), são cultivados no Brasil diferentes tipos de pimentas pertencentes às quatro espécies domesticadas: *C. annuum* (jalapeño), *C. baccatum* (dedo-de-moça), *C. frutescens* (malagueta) e *C. chinense* (de-cheiro, bode, cumari-do-Pará). Diferente do pimentão, as pimentas apresentam certa rusticidade em campo e um ciclo mais longo, onde o período de colheita pode estender-se por mais de um ano (Reifschneider, 2000).

O cultivo de pimentas ocorre praticamente em todas as regiões do país e é um dos melhores exemplos de agricultura familiar e de integração pequeno agricultor-agroindústria. A área anual cultivada é de cerca de dois mil hectares e os principais estados produtores são Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Ceará e Rio Grande do Sul. A crescente demanda do mercado, estimado em 80 milhões de reais ao ano, tem impulsionado o aumento da área cultivada e o estabelecimento de agroindústrias, tornando o agronegócio de pimentas (doces e picantes) um dos mais importantes do país (Reifschneider & Ribeiro, 2003).

O fungo *Puccinia pampeana*, agente causal de ferrugem em plantas do gênero *Capsicum*, tem um ciclo de vida muito complexo e raro. Na fase inicial, após a infecção pelos basidiosporos, apresenta espermogônios e espermácias. Após a espermatização desenvolvem-se dois tipos morfológicamente distintos, de teliomorfos: um do tipo *Endophyllum*, semelhante ao gênero *Aecidium*, com perídio, esporos unicelulares catenulados (teliosporos aecidióides). Estes esporos quando germinam, produzem o metabasídio, o basídio e 4 basidiosporos. Em uma segunda fase o patógeno produz, também, outro do tipo de teleomorfo, *Puccinia*, com soros pulvinados e esporos bicelulares (teliosporos telióides). O teliosporo do tipo *Endophyllum* se manifesta primeiro e não apresenta dormência, germinando assim que as condições ambientais estejam favoráveis. O teliosporo do tipo *Puccinia* aparece após, aproximadamente, vinte e dois dias da manifestação dos soros do tipo aecidióide, apresenta dormência, e provavelmente é o responsável pela sobrevivência desta ferrugem nos períodos quentes, que são desfavoráveis ao seu desenvolvimento. O esporo infectivo é o basidiosporo, proveniente da germinação dos dois tipos de teliosporos, ou seja, dos teliosporos aecidióides e teliosporos telióides.

Nas teorias sobre processos evolutivos que envolvem Uredinales, existe o modelo referente ao estado telial de certas ferrugens, quando espécies de ciclo longo se tornam microcíclicas, esse modelo denomina-se “Lei de Tranzschel”. Lindquist (1963, 1982) sugeriu que os dois estados esporíferos devessem ser considerados como espécies distintas, porém o Código Nacional de nomenclatura Botânica não provê orientação segura para a determinação do nome legítimo (*Puccinia* ou *Endophyllum*). Uma vez que as duas formas são produzidas pelo mesmo talo, não devem ser consideradas como duas espécies distintas, sendo que o binômio *Puccinia pampeana*, descrito em 1880, tem prioridade sobre o binômio *Endophyllum pampeanum*, descrito em 1963 (Figueiredo et al., 1987).

Trata-se, então, de uma ferrugem biteliomórfica (Lopez-Franco et al., 1990), o que a torna um excelente modelo biológico para estudo de uma das possíveis variações dos ciclos vitais de ferrugens. A realização de testes para comparar a infectividade de *P. pampeana*, é importante por ser uma ferrugem que tem como hospedeiro, além da pimenta, também o pimentão. Pouco se sabe sobre a existência de cultivares de *Capsicum* ou resistentes a essa ferrugem, para um futuro programa de melhoramento para resistência a esta doença.

Nas plantas de *Capsicum*, esta doença afeta todos os órgãos jovens da parte aérea. As folhas, frutos, caule e brotos infectados sofrem hipertrofia, encarquilhamento, distorções, fasciação e superbrotamento das gemas apicais e laterais. Os sintomas se manifestam predominantemente nas folhas, mas também em outras partes vegetais como bainhas, flores e frutos em início de desenvolvimento.

O nosso propósito foi estudar alguns detalhes da biologia e ecologia do agente causal da ferrugem da pimenta e pimentão (*Capsicum* spp.), *Puccinia pampeana* Speg. Essa ferrugem ocorre na região sul e sudeste do Brasil, com maior frequência no outono e inverno, quando predominam temperaturas amenas ao redor de 18°C a 21°C e alta umidade. Afeta todos os órgãos novos da parte aérea: folhas, frutos, caule e brotos, podendo causar perdas totais das culturas.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivos: a) verificar a capacidade de produção e dispersão de basidiosporos; b) verificar a ação do extrato aquoso obtido dos teliosporos telióides (EAE) de *P. pampeana*, sobre a germinação dos teliosporos aecidióides desta ferrugem, e também sobre agentes causais de outras ferrugens; c) verificar a suscetibilidade de diferentes cultivares de *Capsicum* spp. a *P. pampeana* e sua capacidade de infecção sobre outras solanáceas cultivadas.



#### 4 REVISÃO DE LITERATURA

As ferrugens são doenças causadas por fungos pertencentes ao Phylum Basidiomycota, ordem Uredinales. Tais patógeno comprometem um número grande de culturas de interesse econômico. Os danos causados pelas ferrugens podem ser elevados, principalmente quando as condições climáticas são favoráveis, como exemplo, podem ser citadas as ferrugens: do café (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.), do trigo (*Puccinia graminis-tritici* Heriks. & Henn.), da soja (*Phakopsora pachyrhizi* Sidow, *P. meibomiae* Arth.), do amendoim (*Puccinia arachidis* Speg.), entre outras, que infectam culturas de interesse econômico e são consideradas como de distribuição mundial.

Os fungos pertencentes a esta ordem, consistem em aproximadamente 6900 espécies, distribuídas em 163 gêneros e 14 famílias, compreendendo aproximadamente 10% dos microrganismos descritos no reino dos Fungos (Kirk, et al., 2001) e constituindo uma das maiores ordens naturais de fungos (Ainsworth, 1983). Estudos realizados no Brasil permitiram estimar a existência de, pelo menos, 3000 espécies de ferrugens no País (Hennen et al., 1982), sendo conhecidas apenas 800, sendo que muito pouco se sabe sobre a biologia e ciclos vitais destes importantes patógenos. É um grupo de organismos fitopatogênicos que apresenta a

capacidade de comprometer um número muito grande de culturas de plantas de interesse econômico (Lindquist, 1982).

Como são considerados organismos ecologicamente obrigados, existe a necessidade de inoculações experimentais em seus hospedeiros, para o estudo de seus ciclos vitais e manutenção de ferrugens em casa de vegetação. Também podem ser preservadas em laboratório por meio de seus esporos. Estudos comprovaram a viabilidade de uredíniosporos de *Puccinia arachidis* e *Phakopsora pachirhyzi* quando preservados a temperaturas entre 8°C e 9°C e ausência de umidade, por 9 meses e 2 meses, respectivamente (Passador & Figueiredo, 2005; Boro & Figueiredo, 2004).

As ferrugens ocorrem sobre cerca de 200 famílias de plantas, infectando um grande número de espécies de plantas vasculares, cultivadas ou silvestres, e, apresentando alta especificidade em relação a seus hospedeiros. Devido a esta especificidade, a maior parte dos agentes causais de ferrugens parasitam apenas uma ou poucas espécies de plantas hospedeiras. Como, por exemplo, a ferrugem do café (*Hemileia vastatrix*) que infecta apenas o gênero *Coffea*. Por outro lado, *Puccinia psidii* Winter, infecta um grande número de membros da família Myrtaceae, e a ferrugem de *Capsicum* spp., causada por *Puccinia pampeana* Speg, que também infecta várias espécies dentro deste gênero.

Os agentes causais das ferrugens estão entre os microrganismos de ciclo biológico mais complexo. Até os dias de hoje, poucos ciclos de vida de ferrugens tropicais foram demonstrados, devido ao pleomorfismo que torna seus ciclos vitais, muitas vezes, complicados e confusos. Alguns puderam ser demonstrados por meio de estudos utilizando inoculações experimentais com esporos dos diferentes estágios cíclicos. Este é o caso, por exemplo, das ferrugens, do café (*Hemileia vastatrix*) (Hennen & Figueiredo, 1983), milho (*Puccinia sorghi* Schw.), trigo (*Puccinia graminis*), feijão (*Uromyces appendiculatus* Persoon), pêssogo (*Transschelia discolor* (Fuckel) Transschel & Litvinor), a ferrugem de *Capsicum* spp. (*Puccinia pampeana*) e as ferrugens de muitas outras plantas cultivadas ou não. Mas é provável que todas as variações dos ciclos vitais de ferrugens ainda não tenham sido descobertas.

Algumas espécies de ferrugens necessitam de dois hospedeiros não relacionados entre si para que seus ciclos vitais sejam completados, sendo chamadas de

heteroécias. Outras espécies são capazes de completar o seu ciclo vital em um único hospedeiro, e são denominadas autoécias. Em um grande número de ferrugens, a morfologia dos soros não coincide com as funções normalmente desempenhadas no ciclo vital, comuns em alguns dos modelos biológicos mais bem estudados.

Certas particularidades sobre a biologia destes fungos são desconhecidas ou pouco conhecidas. Isto é devido à dificuldade de cultivá-los em laboratório e, também à falta de metodologias adequadas ao desenvolvimento das pesquisas. A partir de 1950, com o desenvolvimento de trabalhos relacionados a culturas axênicas, com o auxílio de meios de cultura enriquecidos, extratos vegetais e compostos suplementares de crescimento, foram obtidas informações importantes sobre os fatores responsáveis pelo parasitismo obrigatório das Uredinales (Cutter Jr., 1959; Katsuhiko & Katsuya, 1985). No Brasil, estudos permitiram a obtenção de culturas axênicas de *Melampsora epitea* Thüm., agente causal da ferrugem que ocorre em chorão (*Salix babilonica* L.) (Martins et al., 1995a; Carvalho Jr. et al., 1998).

Com relação à alta especificidade aos seus hospedeiros, algumas famílias botânicas como, Polypodiaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Poaceae, Malpighiaceae, Fabaceae, Pinaceae e Solanaceae são ricas em hospedeiros para numerosos gêneros e espécies de ferrugens (Cummins, 1959, 1978; Cummins & Hiratsuka, 2003).

Além das diferenças morfológicas entre as ferrugens, também existem diferenças fisiológicas, que são resultado da ação de fatores ambientais sobre as espécies. Desta forma, as ferrugens de regiões de clima temperado ou tropical possuem as paredes de seus teliosporos extremamente espessas, com elevada concentração de substâncias auto-inibidoras da germinação. Devido a estas substâncias, os esporos permanecem em dormência durante os períodos desfavoráveis à infecção. Os auto-inibidores presentes nas paredes dos esporos impedem a germinação rápida de todos os esporos ao mesmo tempo e também possibilitam a sobrevivência do patógeno na ausência do hospedeiro. Tais substâncias são hidrossolúveis e, durante os períodos chuvosos, ao final do verão, são removidas, possibilitando a infecção de novos hospedeiros (Figueiredo & Carvalho Jr., 1994a, 1995). Estas substâncias são, sem dúvida, fatores importantes que previnem a germinação prematura, como também contribuem para uma eficiente dispersão dos esporos (Wolf, 1982).

Ensaio em laboratório comprovaram a relação entre a lavagem dos soros e a germinação de teliosporos de ferrugens (Figueiredo & Carvalho Jr., 1994a; Figueiredo &

Coutinho, 1984). Isto porque a lavagem promove lenta solubilização dos auto-inibidores, assim o esporo germina normalmente.

A primeira evidência sobre esta substância extraída em água foi feita por Allen (1955), utilizando uredíniosporos de *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, e seus componentes identificados após 15 anos. Musumeci et al. (1974) constaram a presença de um auto-inibidor da germinação em uredíniosporos de *Hemileia vastatrix*. Em uredíniosporos de *Melampsora lini* (Ehrenb.) Lév foi constatado por Aylife et al. (1997). Estas substâncias também podem estar presentes nas paredes dos teliosporos, como nos teliosporos telióides (*Puccinia*) de *Puccinia pampeana* Speg. (Figueiredo & Carvalho Jr., 1995) e teliosporos de *Puccinia cnicoleracei* Persoon & Desmazières (Figueiredo et al., 1990). E de outras espécies do gênero *Puccinia*, em *P. psidii* também existe o auto-inibidor.

Com relação à natureza dos inibidores da germinação, algumas substâncias ativas têm sido isoladas, caracterizadas, e a natureza química de alguns poucos inibidores foram estabelecidas (Staples & Macko, 1984). Esses compostos agem em concentrações extremamente baixas, e a caracterização dos componentes ativos foi, portanto, difícil e demorada (Wolf, 1982). Como exemplos poderiam ser citadas: a ferrugem do feijão (*Uromyces phaseoli* (Pers.) Wint.), a ferrugem do milho (*Puccinia polysora* Underw) e a ferrugem do amendoim (*Puccinia arachidis* Speg.), cujo auto-inibidor foi determinado como metil cis 3,4 dimetoxicinamato, e o da ferrugem do colmo do trigo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) identificado como metil cis-4 hidróxi-3-metoxicinamato (metil cis-ferulato) (Macko et al., 1971b; Foundin & Macko, 1974; Macko et al., 1976).

Com relação aos aspectos fitopatológico, morfológico e dos ciclos de vida, atualmente a maior parte do conhecimento a cerca destes patógenos, está baseada no que se sabe sobre ferrugens de clima temperado, provenientes, na grande maioria, do Hemisfério Norte (Hennen & Buriticá, 1980). Desta forma, as características estudadas nas ferrugens de clima temperado são transferidas para as ferrugens de clima tropical, o que promove falhas na interpretação do estudo dos seus ciclos vitais. Poucos ciclos vitais das ferrugens verdadeiramente tropicais foram demonstrados até os dias de hoje por meio de germinação de esporos. Para tanto, é importante a procura de bons modelos biológicos, para um melhor conhecimento das variações existentes nos ciclos vitais destes fungos (Figueiredo et al., 1987).

Um importante patógeno para estudos destas variações é o fungo *Puccinia pampeana*, causador da ferrugem de pimenta e pimentão (*Capsicum* spp.) (Martins et al., 1995b). Este fungo foi descrito pela primeira vez no Brasil sobre *Capsicum* sp. por Rangel no ano de 1899, citado por Lopez-Franco et al. (1990). Agentes causais de ferrugens morfológicamente semelhantes a *P. pampeana*, foram descritos em outras solanáceas, desta forma esta ferrugem recebeu nove sinonímias binomiais nas diferentes regiões geográficas em que foi constatada (Figura 01): *Aecidium pampeanum* Spegazzini em *Salpichroa* sp. (Argentina); *Puccinia araucana* Dietel & Neger em *Solanum* sp. (Chile); *Dicaeoma pampeana* (Spegazzini) Kunze em *Salpichroa* sp. (Argentina); *Puccinia capsici* Mayor em *Capsicum* sp. (Colômbia); *Puccinia gonzalezii* Mayor em *Capsicum* sp. (Colômbia); *Puccinia capsici* Avena em *Capsicum* sp. (Brasil); *Puccinia paulensis* Rangel em *Capsicum* sp. (Brasil); *Aecidium capsici* Kern & Whetzel em *Capsicum* sp. (Colômbia); *Puccinia capsicola* Kern & Thurston em *Capsicum* sp. (Colômbia). No passado, este fungo era mais conhecido como *P. paulensis* Rangel (Lopez-Franco et al., 1990).

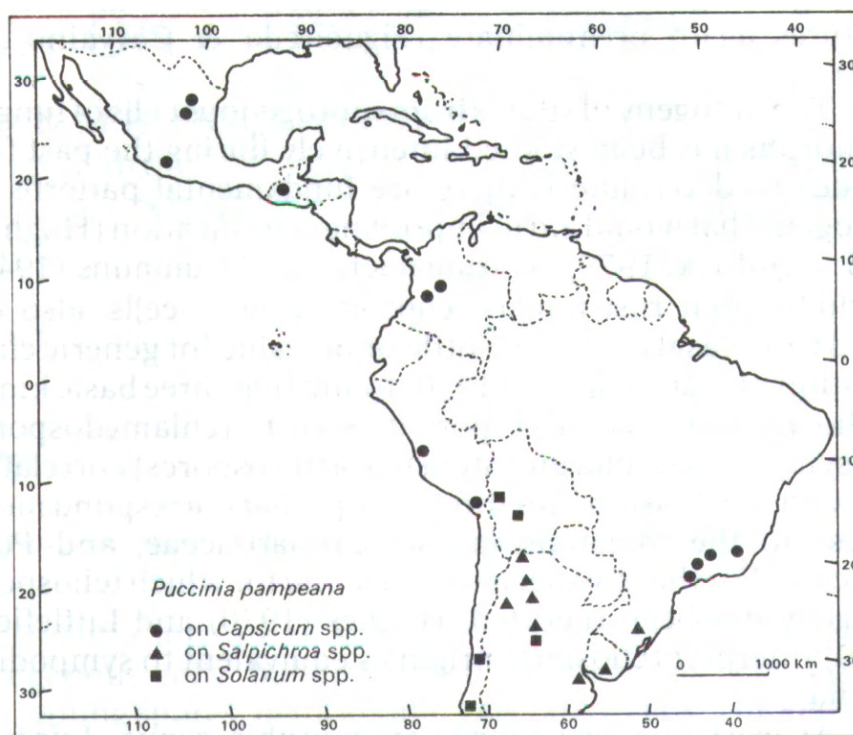


Figura 01: Distribuição geográfica de ferrugens morfológicamente semelhantes a *Puccinia pampeana* na América Central e América do Sul (Lopez-Franco et al., 1990)

Spegazzini (1880), citado por Lopez-Franco et al. (1990), foi o primeiro a reconhecer a possível conexão entre os diferentes estágios destes fungos pleomórficos causadores de ferrugens. Lindquist (1963, 1982) determinou que *Aecidium pampeanum* Spegazzini era na verdade uma ferrugem pertencente ao gênero *Endophyllum*, porque encontrou esporos que quando germinados produziam metabasídios e basidiosporos. Então determinou como *Endophyllum pampeanum* (Spegazzini) Lindquist..

Esta ferrugem ocorre na região sul e sudeste do Brasil, com maior frequência no outono e inverno, quando predominam as temperaturas amenas ao redor de 18 e 21°C e alta umidade, podendo causar perdas totais das culturas. Afeta todos os órgãos jovens da parte aérea. As folhas, frutos, caule e brotos infectados sofrem hipertrofia, encarquilhamento, distorções, fasciação e superbrotamento das gemas apicais e laterais dando origem a estruturas ou ramos laterais que crescem de forma mais ou menos indefinida, do tipo “vassoura de bruxa”. Os sintomas se manifestam predominantemente nas folhas, mas também em outras partes vegetais como bainhas, flores e frutos em início de desenvolvimento (Figueiredo et.al, 1987). Sabe-se que estes superbrotamentos, do tipo “vassoura de bruxa”, resultam de um desequilíbrio hormonal, e podem acumular uma quantidade significativa de um indutor de crescimento, provavelmente o ácido-indol-acético (AIA), hormônio vegetal que é a principal auxina de ocorrência natural (Bitancourt, 1962; Naqvi, 1994; Raven, 1999).

O fungo *Puccinia pampeana*, tem um ciclo de vida muito raro. Na fase inicial após a penetração e desenvolvimento do talo monocariótico, apresenta espermogônios e espermásias, ocorrendo num só hospedeiro, sendo por esse motivo chamada de ferrugem autoécia. A única estrutura infectiva do microrganismo é o basidiosporo, produzido em decorrência da germinação de qualquer dos dois estados teleomórficos, originados pelo talo dicariótico (N+N): o tipo *Puccinia* ou, o tipo *Endophyllum* (Hennen et al., 1984).

Devido à existência desses dois estados teleomórficos, *P. pampeana* é caracterizado como um microrganismo biteleomórfico (Hennen et al., 1984; Figueiredo & Carvalho Jr., 1994a). Os soros do tipo *Endophyllum* apresentam morfologia semelhante à do anamorfo *Aecidium* e produzem teliosporos ecióides (III<sup>I</sup>) unicelulares, catenulados, de coloração amarelo-ouro, sem pedicelo e envoltos por uma membrana denominada perídio. Os soros do tipo *Puccinia* surgem ao final do ciclo da doença e são constituídos pelos teliosporos

telióides (III) bicelulares, pedicelados e que apresentam intensa coloração marrom (Lopez-Franco et al., 1990). Os teliosporos telióides são os responsáveis pela sobrevivência do fungo, quando submetido a temperaturas extremas, durante o verão. Isto porque apresentam parede espessa, com grande concentração de substância auto-inibidora da germinação, cuja função é impedir que todos os esporos germinem quando as condições ambientais são desfavoráveis, possibilitando a permanência dessas estruturas na planta de uma estação para outra (Figueiredo et al., 1987; Figueiredo & Carvalho Jr., 1995).

Sob condições ambientais favoráveis, os teliosporos do tipo *Endophyllum* germinam prontamente produzindo, cada um, quatro basidiosporos. Estes são disseminados por agentes físicos, principalmente água e ventos. Quando encontram a planta hospedeira suscetível germinam, desenvolvendo pequenos apressórios na extremidade dos tubos germinativos (Martins et al., 1995b). A hifa de penetração rompe a cutícula e invade os espaços intercelulares e não diretamente as células epidérmicas. A porção final da hifa de penetração alarga-se, dando origem a uma vesícula a partir da qual as hifas de infecção chegam aos espaços intercelulares (Martins et al., 1995b). Origina-se, dessa forma o talo monocariótico (N) que é responsável pelo crescimento vegetativo do fungo, acúmulo de nutrientes e produção de espermogônios, visíveis apenas nas lesões mais jovens, e espermásias (Figueiredo et al., 1987). Cada espermogônio produz espermásias com “mating type” distinto (+ ou -), sendo que a espermatização somente irá ocorrer quando talos geneticamente compatíveis se encontrarem. Ainda, com relação à espermatização, esta pode ocorrer pela ação de insetos, devido à produção do néctar espermogonial ou, pela ação de outros agentes físicos, principalmente água (Martins et al., 1995b). Observa-se, portanto, que estas estruturas são responsáveis pela rápida disseminação do patógeno e pelas epifitias, em períodos frios e úmidos, mais favoráveis ao desenvolvimento da doença e da planta hospedeira, que apresenta maior desenvolvimento vegetativo (Figueiredo et al., 1987; Martins et al., 1995b).

Ao final do ciclo, os teliosporos ecióides são substituídos pelos teliosporos telióides que germinam lentamente, mesmo sob condições favoráveis. Fazendo um paralelo com o fungo *Puccinia graminis* Pers., a ferrugem do colmo do trigo, o teliosporo é responsável pela sobrevivência da espécie durante períodos frios de inverno nas áreas de clima temperado do Hemisfério Norte. No caso de *P. pampeana*, o teliosporo tem uma função

inversa, ou seja, é responsável pela sobrevivência nos períodos mais quentes do verão (Figueiredo & Carvalho Jr, 1994a).

Com relação às medidas de controle, ainda não existem formas eficazes para controlar esta doença. Algumas medidas utilizadas para controle de outras ferrugens podem ser testadas para a ferrugem da pimenta e pimentão. Como por exemplo, no caso da ferrugem do café, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix*, além do controle preventivo, são utilizados fungicidas sistêmicos e também a obtenção cultivares resistentes (Godoy et al.,1997).



## **CAPÍTULO I**

**Capacidade de produção de basidiosporos por teliossoros telióides de *Puccinia pampeana* Speg., agente causal da ferrugem em *Capsicum* spp.**

**Capacidade de produção de basidiosporos por teliossoros telióides de *Puccinia pampeana* Speg., agente causal da ferrugem em *Capsicum* spp.**

Martha Maria Passador<sup>1,2\*</sup>, Mário Barreto Figueiredo<sup>2</sup>, Edson Luiz Furtado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP, CEP-18.610-307, Botucatu-SP, e-mail:marthamaria\_p@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Instituto Biológico de São Paulo, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, Laboratório de Micologia Fitopatológica

\*Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor: Bolsista do CNPq

Aceito para publicação em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

**RESUMO**

Passador, M.M.; Figueiredo, M.B; Furtado, E.L. **Capacidade de produção de basidiosporos por teliossoros telióides de *Puccinia pampeana* Speg., agente causal da ferrugem em *Capsicum* spp.** *Summa Phytopathologica*, 2007

*Puccinia pampeana*, agente causal da ferrugem que ocorre em *Capsicum* sp. (pimenta e pimentão), apresenta dois tipos de teliosporos, um do tipo *Endophyllum* (aecidióides) e outro do tipo *Puccinia* (telióides), estes possuem uma substância auto-inibidora da germinação, que pode ser removida por meio de lavagens sucessivas dos soros. Com a utilização do aparato denominado germinatélío, foi demonstrado que os teliossoros telióides (soros pulvinados) de *Puccinia pampeana*, são capazes de produzir basidiosporos por um período de tempo significativo, quando mantidos a 12°C e sendo lavados diariamente. Choques de temperatura a 8°C e 35°C por 3 horas e em seguida manutenção a 12°C, não inviabilizaram a população de teliosporos dos teliossoros telióides, apenas provocaram alterações no tempo do início da produção de basidiosporos. Este fenômeno está ligado à

sobrevivência do patógeno quando exposto a períodos desfavoráveis em seu ecossistema. Os primeiros teliossoros a produzir basidiosporos, e os primeiros a encerrar a produção, foram os coletados de pimenta tomate (isolado Botucatu) logo após a primeira lavagem. Os últimos que encerraram a produção foram os teliossoros coletados da variedade dedo-de-moça, isolado de Piedade-SP, mantidos somente a 12°C. Foi observado que as amostras tratadas com choque de 35°C apresentaram um pico de produção de basidiosporos bem depois das amostras tratadas com choque de 8°C e a 12°C.

Palavras chave: teliossoros telióides; temperatura, auto inibidor

---

#### ABSTRACT

Passador, M.M.; Figueiredo, M.B; Furtado, E.L. **Basidiospore Production Capacity by Telioid Teliospores of *Puccinia pampeana* Speg., the *Capsicum* spp. Rust Fungus.** *Summa Phytopathologica*, 2007

*Puccinia pampeana*, the causal agent of a rust that occurs in *Capsicum* sp. (pepper and green pepper), has two types of teliospores, one of the *Endophylum* type (aecidioid) and the other of the *Puccinia* type (telioid). The teliospores contain a germination self-inhibiting substance, which can be removed by successively washing the sori. By using a device called *germinatelium*, it was demonstrated that the telioid teliosori (pulvinate sori) of *Puccinia pampeana* are capable of producing basidiospores for a significant period of time, when maintained at 12°C and washed daily. The teliospore population of the telioid teliosori did not become unviable when the teliospores were submitted to temperature shocks at 8°C and 35°C for 3 hours and then maintained at 12°C, but just caused changes in the time at which basidiospores began to be produced. This phenomenon is associated with the pathogen's survival when exposed to unfavorable periods in its ecosystem. The teliosori that first produced basidiospores and those that finished production last were collected from tomato pimento (Botucatu isolate) right after the first wash. Those that finished production last were teliosori collected from the dedo-de-moça pepper variety, Piedade-SP isolate, only maintained

at 12°C. It was observed that samples treated with a thermal shock at 35°C showed a basidiospore production peak much later than samples treated with a shock at 8°C and at 12°C.

Key words: telioid teliosori, temperature, self-inhitor

## INTRODUÇÃO

Os agentes causais das ferrugens (Uredinales) estão entre os microrganismos de ciclo biológico mais complexo, atualmente poucos ciclos de vida de ferrugens tropicais foram demonstrados, devido ao pleomorfismo que torna seus ciclos vitais, muitas vezes, complicados e confusos. Alguns ciclos puderam ser demonstrados por meio de estudos realizando-se inoculações experimentais com esporos dos diferentes estágios cíclicos. Este é o caso, por exemplo, das ferrugens, *Puccinia graminis* (heteroécia) (3) e *Puccinia heliantii* (autoécia) (15), em geral, ferrugens de regiões temperadas do hemisfério Norte. Outras a exemplo da ferrugem do café (*Hemileia vastatrix*) foram teoricamente interpretadas por meio de análises morfológicas (12,13). Com relação à alta especificidade aos seus hospedeiros, algumas famílias botânicas como, Polyodiaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Poaceae, Malpighiaceae, Fabaceae, Pinaceae e Solanaceae são ricas em hospedeiros para numerosos gêneros e espécies de ferrugens (4,5,6).

A ferrugem que ocorre em *Capsicum* sp., causada por *Puccinia pampeana*, ocorre em algumas regiões da América do Sul e, com certa frequência, nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. A infecção aparece mais frequentemente a temperaturas inferiores a 23°C (9).

O fungo *Puccinia pampeana* tem um ciclo de vida muito raro, após a infecção na fase inicial, apresenta espermogônios e espermacias. Após a espermatização desenvolve dois tipos de teliomorfos morfologicamente distintos: um do tipo *Endophyllum*, semelhante ao gênero anamórfico *Aecidium*, com perídio, esporos unicelulares catenulados (teliosporos aecidióides), e outro do tipo *Puccinia*, com soros pulvinados e esporos bicelulares (teliosporos telióides) (12,14).

O teliosoro do tipo *Endophyllum* (com perídio e teliosporos catenulados) se manifesta primeiro. Não apresenta dormência, germinando assim que liberados dos perídios,

desde que as condições ambientais estejam favoráveis e na presença de água livre. O teliossoro do tipo *Puccinia* (soros pulvinados) aparece no final do ciclo da planta, apresenta dormência e, provavelmente, é o responsável pela sobrevivência desta ferrugem nos períodos quentes, que são desfavoráveis ao seu desenvolvimento. O esporo infectivo é o basidiosporo, proveniente da germinação tanto dos teliosporos ecióides como dos teliosporos telióides (14).

Agentes causais de ferrugens morfológicamente idênticos ao fungo *Puccinia pampeana* têm sido constatadas sobre alguns gêneros da família Solanaceae. Tais ferrugens apresentam sintomas similares, e aparentemente, o mesmo ciclo de vida, como exemplo podem ser citadas *Aecidium pampeanum* Spegazzini e *Puccinia araucana* (16).

Na natureza, a influência da temperatura na germinação contribui para a sobrevivência da espécie na ausência do hospedeiro, pois evita, por exemplo, o ressecamento das estruturas responsáveis pela infecção, como tubos germinativos, metabasídios e basidiosporos.

O objetivo deste trabalho foi estudar a capacidade de produção de basidiosporos pelos teliossoros telióides.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Obtenção dos teliossoros telióides de *Puccinia pampeana***

Para este experimento teliossoros telióides (pulvinados) das plantas de pimenta dedo-de-moça (*Capsicum bacattum* L.), previamente inoculadas, com isolado de ferrugem proveniente de Piedade-SP. Estas plantas infectadas já vinham sendo mantidas na câmara de crescimento com temperatura e fotoperíodo controlados. Também foram coletados teliossoros de pimenta dedo-de-moça (*Capsicum bacattum* L.) e de pimenta tomate (red ruffled - *Capsicum annuum* L.), previamente inoculadas com isolado de *Puccinia pampeana*, coletado de pimenta Bode (*Capsicum chinense*), proveniente de Botucatu-SP (FCA-UNESP, Campus da Fazenda Lageado). Estas pimenteiras estavam plantadas em vasos de 10 cm de diâmetro e 10 cm de altura, mantidas em casa de vegetação. Para a realização das inoculações foram transferidas para câmara com temperatura controlada para aproximadamente 18 e 20°C, e fotoperíodo de 14 horas de luz e 10 horas de escuro., onde permaneceram.

A coleta dos teliossoros pulvinados foi realizada sob estereomicroscópio e com o auxílio de uma agulha histológica. Os teliossoros foram medidos sob microscópio óptico com ocular graduada, apresentando média de 0,9 mm de diâmetro. O valor da área foi determinado através da fórmula  $A=\pi \times R^2$  e correspondeu, em média, a 0,64 mm<sup>2</sup>.

#### **Preparo das micro-câmaras úmidas (germinatélio)**

Foi utilizado o aparato denominado germinatélio, que funciona como uma micro-câmara úmida (10). Os materiais foram assentados sobre algodão umedecido contido nas cavidades dos germinatélios (Figura 1), que posteriormente foram invertidos sobre lâminas de microscopia contendo discos de agar-água (AA). O conjunto foi colocado em cristalizadores, com 20 cm de diâmetro por 4 cm de altura, forrados com espuma de nylon umedecida (Figura 2).

**Inserir Figura 1**

**Inserir Figura 2**

#### **Produção de basidiosporos por teliossoros telióides de submetidos a choques de temperaturas**

Os cristalizadores contendo os germinatélios com os teliossoros telióides de *Puccinia pampeana* foram submetidos a choques térmicos em câmaras com temperaturas controladas a 8°C, 12°C e 35°C. Para cada temperatura foram realizadas 4 repetições, num total de 36 teliossoros coletados. Os materiais permaneceram nestas temperaturas por um período de três horas, no escuro. Depois foram agrupados em única câmara de temperatura a 12°C, e fotoperíodo de 14 horas de luz e 10 horas de escuro, onde permaneceram até o final do estudo. O tratamento controle correspondeu aos teliossoros que permaneceram a 12°C desde o início do experimento.

Após 24 horas, os discos de AA foram observados sob microscópio óptico, para verificar o número de basidiosporos, que foram contados com o auxílio de um contador manual. Para facilitar a contagem dos basidiosporos, que algumas vezes eram bastante numerosos, os discos de AA foram quadriculados com o auxílio de um feixe de lâminas de

barbear, com cada segmento medindo  $1\text{mm}^2$  (8), de forma que a superfície dos discos ficasse semelhante a um hemocitômetro (câmara de Newbauer) (Figura 3). Após a contagem, os discos eram diariamente substituídos e os resultados da produção dos soros anotada. A cada lavagem foram contados os números de quedas (produção de basidiosporos contidos nos algodões dos germinatélios, que se depositavam nos discos de AA), e ao final do experimento foi obtido o número total de quedas para cada conjunto de teliosporos coletados dos diferentes hospedeiros.

Diariamente, os discos de algodão contidos nos germinatélios eram colocados sobre papel filtro para lavagem dos soros, realizada através do gotejamento de água destilada estéril sobre os teliosporos telióides de *Puccinia pampeana*. Com o auxílio de uma pipeta do tipo Pasteur, para manutenção da câmara úmida e remoção das substâncias auto-inibidoras da germinação, presentes nas paredes dos teliosporos. A cada lavagem eram gotejadas cerca de cinco gotas sobre cada soro. Após a lavagem os algodões permaneceram alguns segundos sobre o papel filtro para absorção da umidade, em seguida foram recolocados nos germinatélios e umedecidos novamente com água destilada estéril. Em seguida os germinatélios foram invertidos sobre lâminas contendo novos discos de AA, e o conjunto foi devolvido aos cristalizadores que foram levados para a câmara de temperatura controlada.

### **Inserir Figura 3**

O experimento seguiu até que a produção de basidiosporos paralisasse por completo, em todas as amostras utilizadas. Ao final foi obtida a capacidade média de produção para cada tratamento.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

De acordo com as observações e contagens, os teliosporos provenientes tanto da pimenta dedo-de-moça como da variedade pimenta tomate (red ruffled), isolados coletados em Botucatu-SP, submetidos a choque de temperatura a  $35^{\circ}\text{C}$ , iniciaram a produção de basidiosporos após 72 horas, ou seja, após 3 lavagens dos soros. Já aqueles submetidos a

choque de temperatura a 8°C iniciaram a produção de basidiosporos após 48 horas, ou seja, após 2 lavagens. Corroborando com resultados obtidos por Figueiredo *et al.* (12).

Os teliossoros provenientes da pimenta dedo-de-moça, isolado coletado em Piedade-SP apresentaram diferença no início da produção: os que foram submetidos ao choque de temperatura a 35°C e 8°C iniciaram a sua produção após 48 horas, após 2 lavagens dos soros. Os teliossoros mantidos a 12°C iniciaram a produção de basidiosporos após 72 horas, ou seja, após 3 lavagens.

Até a sexagésima lavagem, todos os teliossoros amostrados produziram basidiosporos continuamente.

Observou-se a paralisação na produção de basidiosporos, após 101 quedas (basidiosporos depositados nos discos de AA), por dia de lavagem dos soros, na variedade dedo-de-moça, isolado de Piedade-SP, mantidos somente a 12°C. Os primeiros que deixaram de produzir basidiosporos, foram os coletados de pimenta tomate, mantidos a 12°C, após 67 quedas por dia de lavagem dos soros. Com relação aos teliossoros coletados de dedo-de-moça, isolado de Botucatu-SP, os soros que foram tratados com choque de temperatura a 8°C, foram os que encerraram produção de basidiosporos primeiro: depois 89 quedas por dia de lavagem dos soros.

O experimento foi realizado durante 184 dias, ou seja, pouco mais de 5 meses, até que a produção de basidiosporos se encerrasse por completo. As Tabelas 1 a 12 apresentam as análises estatísticas da produção de basidiosporos em 11 semanas, com o número de basidiosporos produzidos a cada sete dias, avaliando o intervalo onde houve maiores produções de basidiosporos.

Na Tabela 1, verifica-se que o choque térmico de 8°C/3h, entre o 1º dia ao 7º, a produção de basidiosporos aumentou e que o isolado de dedo-de-moça de Botucatu apresentou a maior produção nas três temperaturas. Entre o 15º dia ao 21º, foi possível observar que a ausência do choque térmico foi melhor. Havendo uma oscilação entre os isolados com relação ao choque térmico. O choque de 8°C/3h se igualou com 35°C/3h.

Entre o 29º dia ao 35º, observa-se um aumento na produção de basidiosporos em relação à Tabela anterior, e também aumento na produção de basidiosporos tratados com 35°C/3h.



Entre o 43º dia ao 49º, os teliossoros coletados de dedo-de-moça (isolado Botucatu) mantidos a 12°C, ainda produziram maior quantidade de basidiosporos em relação aos outros tratamentos. No período do 57º dia ao 63º, foi observada a diminuição na produção de basidiosporos em todas as amostras, porém nas mantidas a 12°C e com choque de 35°C/3h o número de basidiosporos ainda é grande. Entre o 71º dia ao 77º, a produção pelos teliossoros mantidos a 8°C/3h diminuiu significativamente, chegando a encerrar para os teliossoros coletados de dedo-de-moça (isolado Botucatu). Nos tratamento a 12°C e choque de 35°C/3h, ainda havia produção de basidiosporos.

### **Inserir Tabela 1**

A produção média de basidiosporos em cada tratamento encontra-se registrada e ilustrada pela Figura 4.

### **Inserir Figura 4**

De acordo com a Figura 4, em todas as amostras, o tratamento que possibilitou maior queda de basidiosporos foi a temperatura de 12°C, e o que proporcionou menor queda foi a 35°C, apesar das diferenças no início e encerramento da produção dos basidiosporos. Como se verifica, os choques de temperatura provocaram uma alteração na produção de basidiosporos, antecipando (8°C) ou postergando (35°C) a liberação dos mesmos, e não inviabilizaram os teliossoros telióides. Estes resultados apresentam-se próximos daqueles obtidos por Figueiredo *et al.* (12), que obtiveram uma maior porcentagem de germinação dos teliosporos telióides quando estes foram submetidos a temperaturas entre 12°C e 18°C. Em ensaios comparando temperaturas entre 15°C e 18°C, Aparecido & Figueiredo (1997) (2), obtiveram maior germinação dos teliosporos e como consequência, maior produção de basiosporos, quando os teliossoros telióides foram submetidos a 15°C. Estes dados estão apresentados com maiores detalhes na Figura 5.

O gráfico A da Figura 5, demonstra que os teliossoros coletados de *C. annuum* (pimenta tomate) apresentou produção significativa de basidiosporos. É importante ressaltar, de acordo com os gráficos B e C da Figura 5, que houve diferença no comportamento dos

teliosoros coletados *Capsicum baccatum* (dedo-de-moça). Mesmo sendo provenientes da mesma variedade, o fato de ser de lugares diferentes pode ter contribuído para este resultado. É possível observar no gráfico B mais de um pico de produção de basidiosporos e também maior quantidade destes em relação às outras amostras. Isto não ocorre no gráfico C, que apresenta somente um pico de produção.

### **Inserir Figura 5**

Com relação às temperaturas utilizadas, testes preliminares comparando as temperaturas 12°C e 18°C permitiram verificar maior número produção de basidiosporos número de quedas pelos teliosoros mantidos a 12°C e fotoperíodo de 14 horas de luz e 10 horas de escuro. Esta produção se apresentou maior que a dos outros teliosoros mantidos nesta mesma temperatura no escuro, e os mantidos a 18°C com fotoperíodo e somente no escuro. Isto porque, a substância inibidora da germinação é solúvel em água, e, se a temperatura é menor, a solubilidade provavelmente é menor, permitindo maior número de quedas por mais tempo.

Este experimento permitiu saber por quanto tempo um teliosoro é capaz de produzir basidiosporos, e também, de acordo com as contagens, foi possível fazer uma estimativa de quantos teliosporos podem estar contidos em um teliosoro, e quantos basidiosporos são produzidos por mm<sup>2</sup> de área soral, ou seja, em torno de 2200 basidiosporos.

O número de basidiosporos é importante neste estudo, mas isto depende da quantidade de teliosporos telióides (*Puccinia*) presentes em cada teliosoro. Também é importante o número de quedas (deposição de basidiosporos nos discos de meio de cultura agar-água) e a temperatura ideal para maior liberação de basidiosporos, correspondendo a uma maior ocorrência da doença. É importante ressaltar que *Puccinia pampeana* possui teliosoros classificados como de “longa duração”. Outras ferrugens foram estudadas e também apresentaram esta característica de acordo com o número de quedas de basidiosporos. Em estudos realizados com soros teliais de *Puccinia mogiphanes* Arthur, Figueiredo e Coutinho (11), registraram até 18 liberações de basidiosporos com uma produção média de 1250 basidiosporos por mm<sup>2</sup>. Para *Puccinia cnici-oleracei* Pers. e *Puccinia heterospora* Berkeley & Curtis foram registradas de quatro a dez liberações de basidiosporos por um período de 14

dias, mas devido ao elevado número de basidiosporos produzidos a contagem por  $\text{mm}^2$  se torna difícil (17).

Com relação às ferrugens que apresentam teliossoros considerados de “curta duração”, um importante exemplo é o agente causal da ferrugem das Mirtáceas, *Puccinia psidii*. Aparecido (1) registrou de duas a cinco quedas de basidiosporos em até 7 dias consecutivos, produzindo em média 44.673 basidiosporos por  $\text{mm}^2$  sob a temperatura de 21°C. É importante ressaltar que teliossoros pulvinados como os de *P. pampeana* são considerados de longa duração, enquanto que os teliossoros pulverulentos são de curta duração. Outro exemplo de ferrugem com teliossoros de curta duração, é *Puccinia arachidis* Speg. , ferrugem que ocorre em amendoim (7).

Em temperaturas mais baixas a probabilidade de ocorrência de contaminação por fungos hiperparasitas e bactérias é menor. Desta forma, não ocorre interferência na germinação dos teliosporos resultando em maior produção de basidiosporos.

O experimento seguiu até que a produção de basidiosporos se encerrasse por completo, por todas as amostras utilizadas. Ao final foi obtida a capacidade média de produção, para cada tratamento por  $\text{mm}^2$ .

As amostras tratadas com choque de 35°C apresentaram um pico de produção de basidiosporos bem depois das amostras tratadas com choque de 8°C e a 12°C. Choques de temperatura (35°C e 8°C) por 3 horas, em seguida mantidos a 12°C, não inviabilizam os teliossoros telióides. Apenas provocam diferenças no início da produção de basidiosporos. Quando mantidos a 12°C, e com lavagens diárias dos soros, são capazes de produzir basidiosporos por um período de até 5 meses, sendo este um resultado surpreendente.

Sementes originárias de frutos da própria planta mãe (planta infectada) podem cair no solo e produzir mudas que serão infectadas por basidiosporos presentes no ambiente. Em se tratando de um organismo biotrófico isto contribui para o encontro de hospedeiros no ambiente.

O controle químico desta ferrugem deve ser realizado na presença de água livre e temperatura amena, pois estas condições favorecem o patógeno, e possibilitando a ocorrência da doença.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aparecido, C.C. Estudos ecológicos sobre *Puccinia psidii* Winter – ferrugem das Mirtáceas. Botucatu, 2001, 66p., Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Dissertação, Mestrado.
2. Aparecido, C.C.; Figueiredo, M.B. Influência e temperatura na produção de basidiosporos pelos soros teliais de *Puccinia pampeana*. **Arquivos do Instituto Biológico**, vol 64 (supl.), p.61, 1997.
3. Craigie, J. H. An experimental investigation of sex in the rust fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v.21, n.11, p.1001-1040, 1931.
4. Cummins, G.E. **Illustrated genera of rust fungi**. Minneapolis. Burgess Publ. Co., 1959, 131p.
5. Cummins, G.E. Rust Fungi on Legumes and Compositae in North America. **Univ. Arizona Press**, Tucson, 1978, 424p.
6. Cummins, G.E. & Hiratsuka, Y. Illustrated genera rust fungi. Revised Edition. Ed. the Am. **Phytopathology**. Soc. St. Paul. Minnesota: 1983, 152p.
7. Figueiredo, M.B & Aparecido, C.C. Capacidade de produção de basidiosporos por diferentes espécies de *Puccinia*. **Summa Phytopathologica**, v. 24 (supl.), p. 61, 1998.
8. Figueiredo, M.B. & Carvalho Jr., A.A. Efeito da lavagem dos soros na germinação dos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu: v. 20, p. 101-104, 1994.

9. Figueiredo, M.B. & Carvalho Jr., A.A. Presença de um auto-inibidor nos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* e o seu papel na sobrevivência da espécie. **Summa Phytopatologica**, Botucatu.: v. 21, p. 200-5, 1995.
10. Figueiredo, M.B. & Coutinho, L.N. A germination chamber obtaining pure basidiospores of rust fungi. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGENS DO CAFEEIRO, Oeiras, Portugal, 17-20, Outubro, 1983. **Comunicações**, Oeiras, Centro Invest. Ferrugens Cafeeiro. p.61-65, 1984.
11. Figueiredo, M.B. & Coutinho, L.N. Avaliação da capacidade de produção de basidiosporos pelos soros teliais de *Puccinia mogiphanes* Arthur. **Arquivos do Instituto Biológico. Resumos**, São Paulo: p.26, 1994.
12. Figueiredo, M.B., Pimentel, C.P.V., Russomano, O.M.R., Coutinho, L.N. Biologia da espécie biteliomórfica de *Puccinia pampeana* Speg.- *Endophyllum pampeanum* (Speg.) Lindq. ferrugem da pimenta e do pimentão (*Capsicum* spp.). **Arquivos do Instituto Biológico.**, São Paulo, v. 54 (Supl.), p. 1-10, 1987.
13. Hennen, J.F. & Figueiredo, M.B. - 1983. The Life Cycle of *Hemileia vastatrix*. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGENS DO CAFEEIRO, Oeiras, Portugal de 17 a 20 de outubro de 1983. p. 48-55. **Resumos**. Sumário das Comunicações, p. 7, 1983.
14. Hennen, J. F.; Figueiredo, M.B.; Pimentel, C.P.V.; Russomano, O.M.R. The life cycle and taxonomy of *Puccinia pampeana* (Speg.) Lindq. on *Capsicum* spp. and other Solanaceae. **Rep. Tottori Mycol. Inst.**, 22:209-220, 1984.
15. Laundon, G.F.; Waterston, J.M. *Puccinia helianthi*. **Commonwealth Mycological Institute – Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria**, London, n.55, 1965.

16. Lopez-Franco, R.M.; Hennen, J.F. & Figueiredo, M.B. Development and sporogeny of the biteleomorphic species *Puccinia pampeana* on *Capsicum* spp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília: v. 15, p. 68-72, 1990.
  
17. Passador, M.M.; Aparecido, C.C.; Figueiredo, M.B.; Coutinho, L.N. Metodologia para estudos biológicos em uredinales. **15ª Reunião do Conselho Regional de Biologia**, Anais, p. 131-132, 2004.

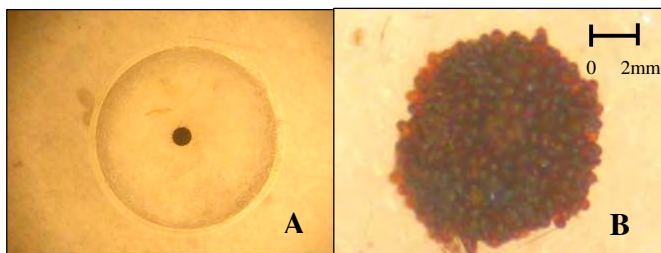


Figura 1: Teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* (A e B) assentados sobre pequena porção de algodão em cavidades dos germinatélios.

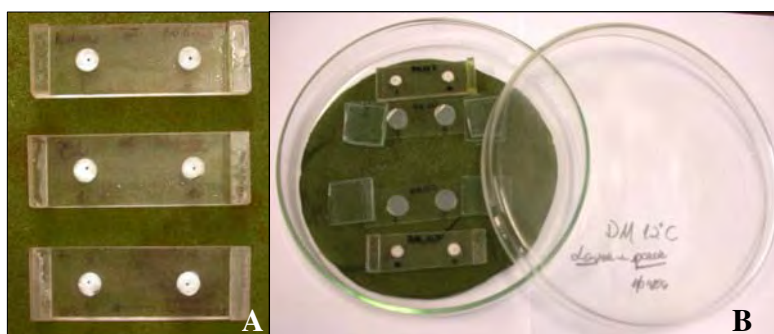


Figura 2: Germinatélios com teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* (A). Germinatélios sobre espuma de nylon umedecida em cristalizador (B).

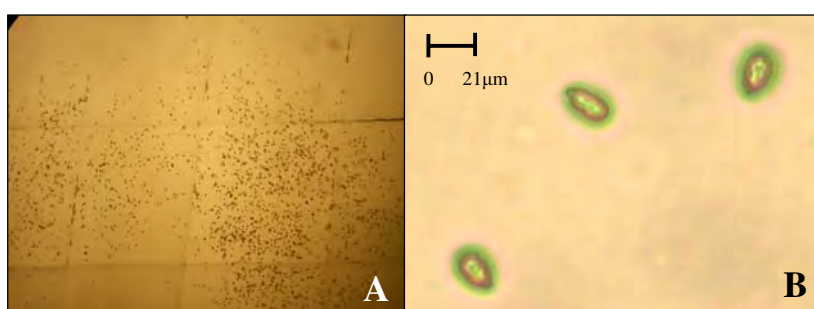


Figura 3: Disco de agar-água (AA) quadriculado com feixe de lâminas apresentando grande número e basidiosporos (A). Detalhe de basidiosporos produzido por teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* nos germinatélios (B).

Tabela 1: Análises estatísticas do número de basidiosporos de *Puccinia pampeana* produzidos em períodos de 7 dias.

		Período de 7 dias					
Teliossoros telióides	1º ao 7º dia			15º ao 21º dia			
	8°C/3h	12°C	35°C/3h	8°C/3h	12°C	35°C/3h	
<b>PTbot</b>	44,51 b	38,79 b	13,25 b	17,06 a	24,94 b	20,25 a	
<b>DMbot</b>	60,15 a	48,48 a	34,7 a	11,98 b	29,16 a	16,06 b	
<b>DMpi</b>	15,55 c	25,77 c	10,83 b	15,91 a	23,64 b	13,61 b	
<b>Total</b>	120,22 A	113,05 B	58,79 C	44,97 B	77,75 A	49,92 B	
		29º ao 35º dia			43º ao 49º		
Teliossoros telióides	8°C/3h	12°C	35°C/3h	8°C/3h	12°C	35°C/3h	
	<b>PTbot</b>	7,88 b	9,43 b	10,59 b	8,23 a	20,52 a	11,24 b
<b>DMbot</b>	5,12 c	20,35 a	12,86 a	5,31 b	18,90 ab	14,12 a	
<b>DMpi</b>	11,62 a	18,35 a	13,43 a	7,99 a	16,34 b	12,76 ab	
<b>Total</b>	24,62 C	48,14 A	36,9 B	21,54 C	55,77 A	38,13 B	
		57º ao 63º dia			71º ao 77º dia		
Teliossoros telióides	8°C/3h	12°C	35°C/3h	8°C/3h	12°C	35°C/3h	
	<b>PTbot</b>	6,22 a	10,64 b	9,58 b	2,31 a	14,74 a	9,04 a
<b>DMbot</b>	3,7 a	17,5 a	16,3 a	0,7 a	8,45 b	11,88 a	
<b>DMpi</b>	3,61 a	13,71 b	12,5 b	3,49 a	9,81 b	10,31 a	
<b>Total</b>	13,54 C	41,86 A	39,39 B	6,52 C	33,01 A	31,25 AB	

Ptbot: Pimenta tomate (isolado Botucatu)/ DMbot: Pimenta dedo-de-moça (isolado Botucatu)/ DMpi: Pimenta dedo-de-moça (isolado Piedade). Para a análise estatística os dados foram transformados em  $\sqrt{x+0,50}$ . Coeficientes de variação: 8,15 (1º ao 7º dia); 10,8 (15º ao 21º dia); 9,40 (29º ao 35º dia); 11,45 (43º ao 49º); 18,55 (57º ao 63º dia); 23,13 (71º ao 77º dia). Médias seguidas das mesmas letras minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, não diferem entre si.



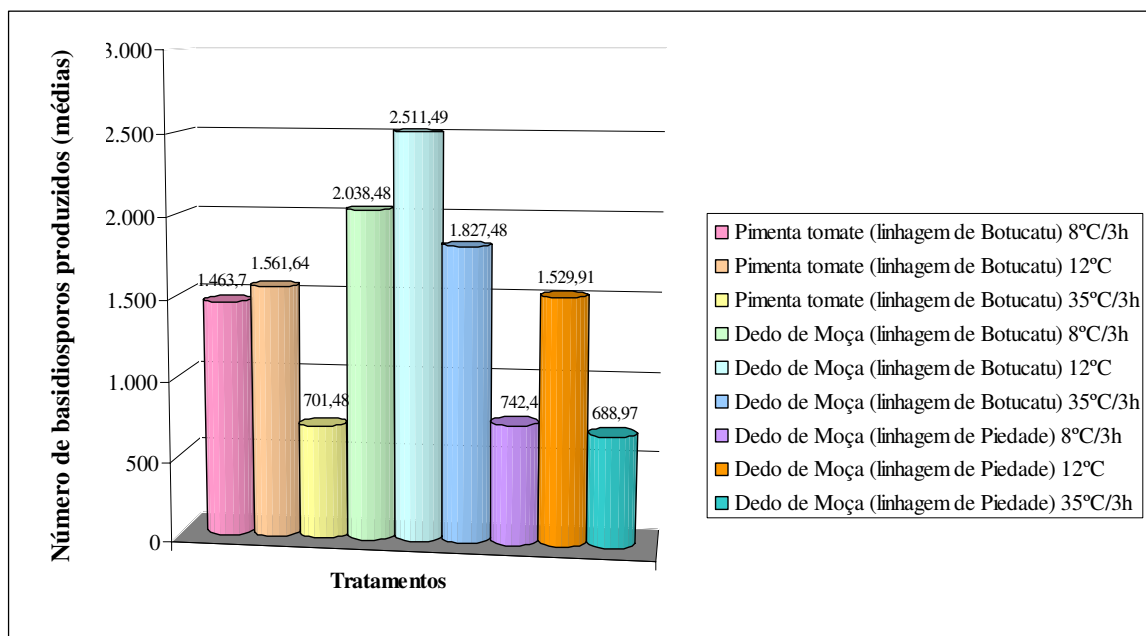


Figura 4: Produção e basidiosporos pelos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* submetidos a choques de temperaturas.

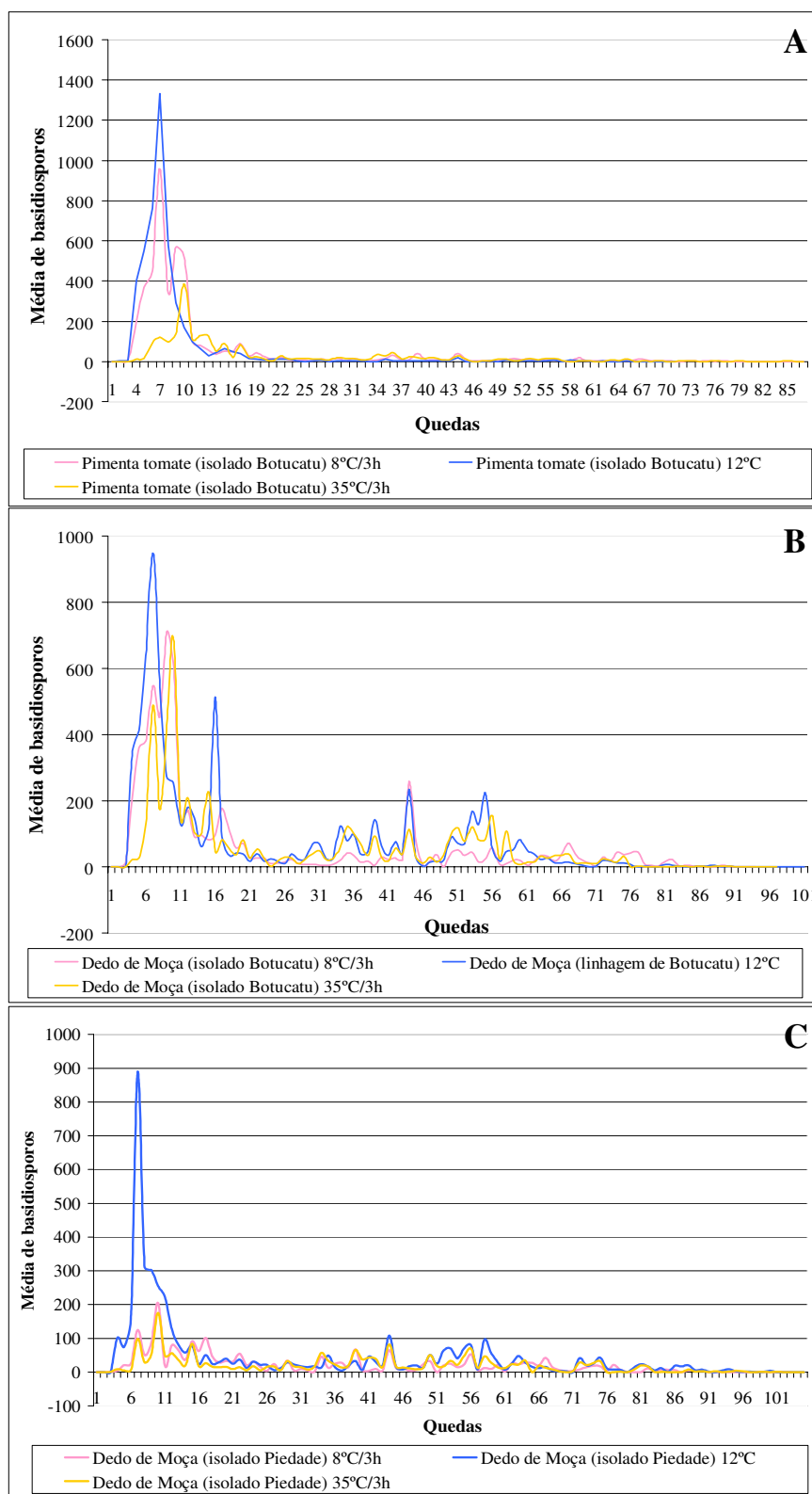


Figura 5: Basidiosporos de *Puccinia pampeana* produzidos após cada lavagem. Gráfico A: Telióssoros coletados de red ruffled (isolado proveniente de Botucatu). Gráfico B: Telióssoros coletados de dedo-de-moça (isolado proveniente de Botucatu). Gráfico C: Telióssoros coletados de dedo-de-moça (isolado proveniente de Piedade).

## **CAPÍTULO II**

**Efeito inibidor do extrato aquoso de esporos preparados a partir de teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* Speg., sobre agentes causais de ferrugens**

## **Efeito inibidor do extrato aquoso de esporos preparados a partir de teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* Speg., sobre agentes causais de ferrugens**

Martha Maria Passador<sup>1,2\*</sup>, Mário Barreto Figueiredo<sup>2</sup>, Edson Luiz Furtado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP, CEP-18.610-307, Botucatu-SP, e-mail: marthamaria\_p@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Instituto Biológico de São Paulo, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, Laboratório de Micologia Fitopatológica

\*Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor: Bolsista do CNPq

Aceito para publicação em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

### **RESUMO**

Passador, M.M.; Figueiredo, M.B; Furtado, E.L. **Efeito inibidor do extrato aquoso de esporos preparados a partir de teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* Speg., sobre agentes causais de ferrugens.** *Fitopatologia Brasileira*, 2007.

A ferrugem da pimenta (*Capsicum* spp.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.), é causada pelo fungo *Puccinia pampeana*. Este fungo apresenta duas formas teliais distintas, sendo então uma ferrugem biteliomórfica. A primeira se manifesta no início da doença com os teliosporos aecidióides, catenulados de coloração amarelo-ouro, envoltos por um perídio. A segunda se manifesta no final do ciclo do fungo no hospedeiro, com os teliosporos telióides pulvinados, bicelulares, pedicelados de coloração marrom escuro. Estes teliosporos bicelulares contêm em suas paredes substâncias auto-inibidoras da germinação que podem ser removidas por meio de lavagens dos esporos. Extratos aquosos de esporos (EAE) preparados com 20 mg de teliosporos telióides de *Puccinia pampeana*, contêm quantidades de auto-inibidores capazes de inibir a germinação de teliosporos aecidióides da mesma ferrugem, e uredíniosporos de *Coleosporium plumierae* e de *Hemileia vastatrix*. O efeito inibidor foi demonstrado por meio

da medida do comprimento dos metabasídios (teliosporos aecidióides de *P. pampeana*) e dos tubos germinativos de *C. plumierae* e de *H. vastatrix*. O efeito inibidor foi comprovado após 4 e 6 horas do contato dos esporos com os extratos.

Palavras-chave adicionais: auto-inibidor, germinação, metabasídio, tubo germinativo

---

## ABSTRACT

Passador, M.M.; Figueiredo, M.B; Furtado, E.L **Inhibiting Effect of Aqueous Extract of Spores Prepared From Telioid Teliospores of *Puccinia pampeana* Speg., On Rust Causal Agents.** *Fitopatologia Brasileira*, 2007.

The pepper (*Capsicum* spp.) and green pepper (*Capsicum annuum* L.) rust is caused by the fungus *Puccinia pampeana*. This fungus has two distinct telial forms, i.e., it is a biteliomorphic rust. The first form manifests itself in the beginning of the disease, with aecidioid, golden-yellow, catenulate teliospores, surrounded by a peridium. The second form manifests itself at the end of the fungus cycle in the host, with dark brown, pulvinate, bicellular, pedicellate telioid teliospores. These bicellular teliospores contain germination self-inhibiting substances in their walls, which can be removed by washing the spores. Aqueous extracts prepared with 20 mg of *Puccinia pampeana* telioid teliospores contain self-inhibitor amounts capable of inhibiting the germination of aecidioid teliospores of the same rust and of urediniospores of *Coleosporium plumierae* and *Hemileia vastatrix*. The inhibiting effect was demonstrated by measuring metabasidial length (aecidioid teliospores of *P. pampeana*) and germ tube length of *C. plumierae* and *H. vastatrix*. The inhibiting effect was verified after 4 and 6 hours of contact of the spores with the extracts.

Additional key words: self-inhibitor, germination, metabasidium, germinative tube

## INTRODUÇÃO

A ferrugem da pimenta e do pimentão (*Puccinia pampeana*) é dita biteliomorfica (Lopez-Franco et al., 1990) pois apresenta 2 estados sexuais (teleomorfos) provenientes do mesmo micélio, sendo um aecidióide (catenulado e pulverulento) do tipo *Endophyllum*, e outro telióide (pulvinado) do tipo *Puccinia* (Hennen et al., 1987, Linnik, 1963). Esta característica faz com que seja um importante patógeno para estudos de possíveis variações dos ciclos vitais de ferrugens (Martins, 1995).

Nos teliosporos telióides (pulvinados), por meio de ensaios biológicos foi comprovada a existência de substâncias auto-inibidoras da germinação. Isto permite que os esporos permaneçam em dormência durante os períodos desfavoráveis à infecção, pois impedem a germinação rápida de todos os esporos ao mesmo tempo e, também, possibilitam a sobrevivência do patógeno na ausência do hospedeiro. Tais substâncias são hidrossolúveis e são removidas durante os períodos chuvosos, ao final do verão, possibilitando a infecção de novos hospedeiros (Figueiredo & Carvalho Jr., 1994a, 1995). Os auto-inibidores de esporos de ferrugens são, sem dúvida, fatores importantes que previnem a germinação prematura, como também contribuem para uma eficiente dispersão dos esporos (Wolf, 1982).

Ensaio em laboratório comprovaram a relação entre a lavagem dos soros e a germinação de teliosporos de ferrugens (Figueiredo & Carvalho Jr., 1994a; Figueiredo & Coutinho, 1994). Isto porque a lavagem promove lenta solubilização dos auto-inibidores, onde após, os esporos germinam normalmente.

Extratos aquosos utilizando outras estruturas fúngicas têm sido estudados para algumas doenças. Piero (2003), em estudos com extratos obtidos a partir de pó seco de basidiocarpos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei*, comprovou que apresentam compostos que ativam as respostas de defesa em plantas e podem auxiliar no controle de doenças vegetais, dependendo da natureza do agente causal, como a antracnose em pepino. Tonucci & Pascholati (2004), verificaram em ensaios *in vitro* e comprovaram a ação inibitória de extratos preparados com *L. edodes* sobre o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* e *Colletotrichum sublineolum*. Ainda utilizando extratos de *L. edodes* e *A. blazei*, Silva et al. (2006), demonstraram o potencial destes no controle da murcha bacteriana causada por *Ralsonia solanacearum*.

Diversos trabalhos mostraram o potencial de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen em controlar doenças de plantas. Foi constatada por Piccinin et al. (2005) a ação protetora da levedura, formulada como Fermento Biológico Fleischmann<sup>®</sup>, em sorgo, contra antracnose, causada por *Colletotrichum sublineolum* e mancha foliar, provocada por *Exserohilum turcicum*. Em experimento conduzido em campo, por meio de aplicações semanais de *S. cerevisiae*, houve redução significativa da antracnose em sorgo. E também, uma única aplicação com a levedura foi suficiente para reduzir o progresso da mancha foliar. A levedura, *S. cerevisiae* apresenta um bom desempenho no campo para o controle de doenças foliares em sorgo. Utilizando extratos com *S. cerevisiae*, Bonaldo e Pascholati (2007), obtiveram inibição da formação de apressórios em *Colletotrichum lagenarium* e *C. sublineolum*. Segundo Martins et al. (1986), a aplicação do filtrado de cultivo de *S. cerevisiae* em folhas de café (*Coffea arabica* L.), 72 h antes da inoculação com *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., agente causal da ferrugem, induziu resistência ao patógeno. Sem afetar a germinação, e formação de apressórios dos uredíniosporos do fungo.

Este trabalho teve como objetivo realizar testes com extratos aquosos de esporos (EAE) preparados a partir de teliosporos telióides, e avaliar sua ação sobre a geminação dos teliosporos aecidióides de *Puccinia pampeana*, e também, sobre uredíniosporos de *Coleosporium plumierae* Pat., agente causal da ferrugem do jasmim-manga, e de *Hemileia vastatrix*, agente causal da ferrugem do café.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Obtenção dos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana***

Os teliosporos telióides, tipo *Puccinia*, foram obtidos a partir de plantas de pimenta dedo-de-moça (*C. bacatum*), previamente inoculadas com isolado de *P. pampeana*, coletada de pimenta Bode (*Capsicum chinense*), proveniente de Botucatu-SP (FCA-UNESP, Campus da Fazenda Lageado). Estas pimenteiras com a ferrugem, foram plantadas em vasos de 10 cm de diâmetro e 10 cm de altura, mantidas em casa de vegetação até a realização da inoculação, quando foram transferidas para câmara com temperatura controlada para aproximadamente 18 e 20°C, e fotoperíodo de 14 horas de luz e 10 horas de escuro.

Depois de, aproximadamente, 65 dias da inoculação, quando a doença já chegava ao final de seu ciclo, os teliosporos foram coletados sob lupa com auxílio de uma agulha histológica. Em seguida foram acondicionados em criotubos com capacidade para 1,5 mL, os quais foram armazenados a 9°C, até a sua utilização.

### **Preparação dos extratos**

A preparação dos extratos foi realizada segundo a técnica de Figueiredo & Carvalho Jr. (1995), com algumas modificações. Amostras de 20 mg de teliosporos telióides foram colocadas em tubos de PVC com capacidade para 12 mL. A estes tubos foram acrescentados 1,5mL de água destilada estéril contendo tween a 0,01%. Os tubos foram fechados, e os teliosporos permaneceram a 9°C, por 24h. Após esse período, foram centrifugados por 10 minutos a 3.500 rpm, em uma centrífuga Tominaga de mesa, modelo TD65, que possui um rotor com aproximadamente 19,8 cm de diâmetro. Em seguida o sobrenadante foi recolhido em criotubos e estes foram armazenados em congelador a -5°C até a utilização em bioensaios de germinação. Este processo foi repetido por mais 3 dias, reutilizando os resíduos dos teliosporos da lavagem anterior, constituindo assim 4 amostras do extrato aquoso de esporos, denominadas EAE<sub>1</sub>, EAE<sub>2</sub>, EAE<sub>3</sub>, EAE<sub>4</sub>. Deve-se ressaltar que a cada repetição, o produto final era diluído.

Para a avaliação do efeito dos extratos aquosos de teliosporos telióides sobre a germinação de esporos de ferrugens, foi realizada a medição do comprimento do tubo germinativo para uredíniosporos, ou do metabásídio para teliosporos aecidióides.

### **Patógenos utilizados nos estudos com extrato aquoso de esporos (EAE)**

Para estes ensaios foram utilizados teliosporos aecidióides (tipo *Endophyllum*) de *Puccinia pampeana* (= *Endophyllum pampeanum*), coletados de plantas de pimenta da cultivar dedo-de-moça, previamente inoculadas com um isolado de *P. pampeana*, coletada de pimenta Bode (*Capsicum chinense*), proveniente de Botucatu-SP, como já referido.

Também foram utilizados uredíniosporos de *Coleosporium plumierae*, agente causal da ferrugem do jasmim-rosa (*Plumeria* spp.) e de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br., agente causal da ferrugem do cafeeiro, coletados de plantas naturalmente infectadas existentes na área pertencente ao Instituto Biológico de São Paulo, SP.



Os testes foram realizados em lâminas escavadas com uma a três cavidades. Para cada tipo de esporo e tratamento (EAE) foram feitas 4 repetições. Os metabasídios de *P. pampeana* e os tubos germinativos de *C. plumierae* e *H. vastatrix*, foram medidos em microscópio óptico com ocular graduada utilizando-se 20 esporos escolhidos ao acaso. As leituras foram realizadas após 4 e 6 horas (Figueiredo & Carvalho Jr, 1995), para cada tipo de esporo e extrato.

Os teliosporos aecidióides de *Puccinia pampeana* e os uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* foram coletados com uma agulha histológica, para em seguida ser preparada a suspensão de esporos. Para *Coleosporium plumierae*, de acordo com a técnica de Figueiredo & Carvalho Jr. (1994b), as folhas de jasmim-rosa com os soros da ferrugem, foram coletadas e raspadas, com um pincel de pêlos ásperos, sob água corrente. Em seguida, essas folhas foram colocadas em caixa plástica com tampa de 35x30 cm e 12 cm de altura, forradas com espuma de nylon umedecida. Após 24 horas os uredíniosporos que se desenvolveram, foram coletados, como já referido anteriormente, para o preparo da suspensão. Esse procedimento foi realizado porque estudos preliminares demonstraram que uredíniosporos recém-produzidos têm capacidade de germinação de 80% a 90%, enquanto que os mais velhos apresentam porcentagem de germinação redor de, apenas, 45%.

Para as três ferrugens utilizadas nos experimentos, foram preparadas uma suspensões em água destilada, na concentração de  $10^4$  esporos por  $\text{mL}^{-1}$  e tween a 0,01%. Em seguida foram distribuídos 50  $\mu\text{L}$  desta suspensão nas cavidades das lâminas, e a estas foram acrescentados 50  $\mu\text{L}$  do extrato aquoso, na proporção de 1:1. O tratamento controle foi constituído, apenas, de 100  $\mu\text{L}$  da suspensão de esporos.

As lâminas escavadas foram colocadas em cristalizadores com espuma de nylon umedecida para evitar desidratação, e então foram mantidas no escuro, em câmara de temperatura controlada a 12°C (para *P. pampeana*), a 21°C (para *C. plumierae*) e 24°C (para *H. vastatrix*).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Ensaio sobre a influência dos extratos aquosos de esporos (EAE) na germinação de esporos de ferrugens

Após o preparo, os extratos apresentaram coloração amarelo-palha, que se tornou mais clara conforme foram feitas as diluições (EAE<sub>1</sub> para EAE<sub>4</sub>).

Para os testes com teliosporos aecidióides de *Puccinia pampeana*, nas leituras para EAE<sub>1</sub> (extrato aquoso concentrado), tanto após 4 horas como após 6 horas, não houve germinação. Estes teliosporos não têm dormência e germinam prontamente sob condições apropriadas (Figueiredo & Carvalho Jr., 1995). Com os extratos aquosos diluídos EAE<sub>2</sub>, EAE<sub>3</sub> e EAE<sub>4</sub> os metabasídios puderam ser medidos, e houve um aumento nas medidas correspondentes com a diluição do extrato, tanto nos EAE como após 4 e 6 horas. Para o tratamento controle, foi verificada total germinação, e os metabasídios apresentaram um comprimento muito maior que nos outros ensaios. Sabe-se que estes extratos não provocam a morte dos esporos, mas somente provocam um atraso na germinação (Figueiredo & Carvalho Jr., 1995).

Nos ensaios realizados com uredíniosporos de *Coleosporium plumierae*, também houve correlação entre a germinação e os tratamentos com EAE, em relação ao controle, este apresentando um maior comprimento do tubo germinativo. Uredíniosporos recém-produzidos desta ferrugem, quando colocados em água destilada e temperatura entre 18 a 21°C, apresentam germinação ao redor de 90%, após 4 horas, produzindo de 1 a 2 tubos germinativos, confirmando os resultados de Figueiredo & Carvalho Jr. (1994b).

Esporos de um grande número de fungos causadores de ferrugens contêm auto-inibidores da germinação (Figueiredo & Carvalho Jr. 1994a). Isto evita que todos os esporos germinem ao mesmo tempo, mesmo em presença de água e temperatura adequada. Este mecanismo impede a extinção do patógeno, evitando a germinação dos esporos na ausência do hospedeiro. Assim a porcentagem de germinação de uma população pode variar entre 30% a 40%. Nos trabalhos com uredíniosporos de *H. vastatrix* as porcentagens de germinação destes ficaram dentro desta faixa, sendo que foram utilizados uredíniosporos de folhas recém-coletadas, e naturalmente infectadas no ambiente. Nestes ensaios, também houve correlação entre a germinação e os tratamentos com EAE. Os uredíniosporos desta ferrugem são capazes

de germinar dentro de seis horas a temperaturas entre 23°C a 24°C , na presença de água , sob condições de baixa luminosidade e alta umidade (Zambolim, 1973, Guzzo, 2004, Godoy, 1997).

Há ainda a considerar que a presença destas substâncias nos uredíniosporos de *H. vastatrix* foi estudada por Musumeci et al. (1974), por meio da lavagem dos uredíniosporos em água destilada. Os autores também observaram que em suspensões com o mesmo volume de água, mas com quantidades crescentes de uredíniosporos, a porcentagem de germinação dos mesmos diminui gradativamente. Aylife et al. (1997) constataram a presença de substâncias auto-inibidoras da germinação em uredíniosporos de *Melampsora lini* (Ehrenb.).

Este efeito na germinação também foi observado para uredíniosporos de outras ferrugens (Allen, 1955; Bell & Daly, 1962, Staples & Macko, 1984), e algumas substâncias ativas puderam ser isoladas, para identificação da natureza química de alguns inibidores. Como exemplos, pode-se citar: ferrugem do feijão (*Uromyces phaseoli* (Pers.) Wint.), a ferrugem do milho (*Puccinia polysora* Underw), a ferrugem do amendoim (*Puccinia arachidis* Speg.), a ferrugem da planta ornamental popularmente conhecida como boca de leão (*Puccinia antirrhini* Diet.) e a ferrugem do girassol (*Puccinia helianthi* Schw.), cujo auto-inibidor foi determinado como metil cis 3,4 dimetoxicinamato , e o da ferrugem do colmo do trigo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) identificado como metil cis-4 hidroxí-3-metoxicinamato (metil cis-ferulato) (Macko et al., 1971a; Macko et al., 1971b; Foundin & Macko, 1974; Macko et al., 1976; Macko et al., 1977). Também foram encontrados resultados positivos em ensaios com extratos de fungos e leveduras (Piero, 2003; Martins et al. 1986).

Os resultados completos das leituras podem ser observados nas Tabelas 1, 2 e 3, sendo ilustrados pela Figura 01 que apresenta a média do comprimento dos metabasídios (*P. pampeana*) e tubos germinativos (*C. plumierae* e *H. vastatrix*) de 20 esporos escolhidos ao acaso. A Figura 01 apresenta as diferenças entre estas medidas e os resultados dos tratamentos realizados.

Nas três tabelas observa-se que para as três estruturas de agentes causais de ferrugem, houve aumento no comprimento dos metabasídios (Tabela 1) e tubos germinativos (Tabelas 2 e 3), à medida que foram tratados com os extratos (EAE<sub>1</sub> a EAE<sub>4</sub>). E nos tratamentos controle os comprimentos foram bem maiores.

**Inserir Tabela 1**

**Inserir Tabela 2**

**Inserir Tabela 3**

As medidas apresentadas nas Tabelas 1 a 3, estão comparadas na Figura 01.

**Inserir Figura 1**

Como pode ser observado no gráfico A da Figura 1, nas duas primeiras colunas que correspondem ao controle, os metabasídios dos teliosporos apresentaram-se bem mais desenvolvidos do que nos outros tratamentos, e após 6 seis horas já havia formação de esterigma e aparecimento dos basidiosporos. A coluna seguinte ao controle corresponde ao EAE<sub>1</sub>, este extrato inibiu totalmente a germinação, mesmo após 6 horas. Nas colunas seguintes estão apresentados os resultados para os tratamentos com EAE<sub>2</sub>, EAE<sub>3</sub> e EAE<sub>4</sub>. Nota-se a coerência e a consistência no comprimento do tubo germinativo com a diluição dos extratos, nas leituras após 4 e 6 horas.

No gráfico B, os uredíniosporos de *C. plumiearae* utilizados para o controle, germinaram perfeitamente produzindo um tubo germinativo significativamente longo, principalmente após 6 horas. As duas colunas seguintes correspondem ao EAE<sub>1</sub>, que ao contrário do ensaio com teliosporos de *P. pampeana*, não houve inibição total. Para os outros tratamentos as medidas do comprimento dos tubos germinativos foram coerentes, sendo cada vez maior conforme a seqüência da diluição dos extratos.

O gráfico C apresenta o resultado dos ensaios com uredíniosporos de *Hemileia vastatrix*. Os uredíniosporos utilizados para o controle, germinaram perfeitamente como os controles dos ensaios anteriores, sendo que com esta ferrugem, foram observados tubos germinativos muito longos na leitura realizada após 6 horas. O comprimento dos tubos germinativos dos uredíniosporos tratados com os extratos mostrou-se muito menor em relação ao tratamento controle. Para EAE<sub>1</sub>, após 4 horas ainda não havia sido observada germinação. As diferenças entre os extratos podem ser observadas até o EAE<sub>4</sub>, ou seja, a água de lavagem do 4º dia de extração, e as leituras realizadas em 4 e 6 horas.

Convém ressaltar, que o auto-inibidor presente nos extratos provoca atraso na germinação de esporos, porém nos ensaios com teliosporos aecidióides de *Puccinia pampeana* tratados com EAE<sub>1</sub>, não houve germinação mesmo após 6 horas do contato dos esporos com os extratos. Isto pode ser devido ao fato de tratar-se de esporos da mesma ferrugem, sendo esta mais sensível ao seu próprio auto-inibidor, neste caso é possível que seja ocorra a inviabilidade destes teliosporos.

Os resultados obtidos estão de acordo com Figueiredo & Carvalho Jr. (1994a), que além de teliosporos de *P. pampeana* também utilizaram uredíniosporos de *C. plumierae*. para estudo semelhante. A quantidade de teliosporos telióides utilizada para a extração do EAE foi menor (20 mg) do que a quantidade utilizada pelos autores (35 mg), mesmo assim, os resultados foram semelhantes. Está claro que houve um aumento crescente no comprimento das estruturas medidas (metabasídio e tubo germinativo) a partir do EAE<sub>2</sub> para o EAE<sub>4</sub>, sendo este aumento maior ainda nas leituras após 6 horas. Isto comprova que as substâncias auto-inibidoras da germinação presentes nas paredes dos teliosporos telióides promovem um atraso na germinação, e não a morte total dos teliosporos. Embora, para os teliosporos aecidióides de *P. pampeana* em contato com EAE<sub>1</sub> não foi observada germinação, mesmo depois de 6 horas. Mas no tratamento com EAE<sub>2</sub> houve germinação, isto pode ser porque na primeira lavagem dos teliosporos (EAE<sub>1</sub>) é possível obter um extrato com uma maior concentração da substância inibidora, o que diminui nas lavagens subseqüentes.

Este atraso na germinação de estruturas de ferrugens, no habitat do fungo, deverá interferir na ocorrência da doença. Pois, sendo necessário um período de temperatura favorável e água livre, ocorre um atraso na germinação dos esporos de uma determinada ferrugem impedindo a infecção e a ocorrência da doença. No caso da ferrugem do café, os uredíniosporos de *H. vastatrix*, para penetrarem no hospedeiro, necessitam da abertura dos estômatos, e isto ocorre no período da noite. Se houver um atraso na germinação dos uredíniosporos, os estômatos se fecham sob a luz do dia e os tubos germinativos podem sofrer ressecamento sob a luz do sol, e os uredíniosporos se tornam inviáveis.

As diferenças na germinação das três estruturas de ferrugens utilizadas nos experimentos estão ilustradas e comparadas na Figura 2.

**Inserir Figura 2**

Existe um comportamento diferenciado das estruturas de cada espécie de ferrugem utilizadas no estudo, frente aos extratos. Os teliosporos aecidióides de *P. pampeana* parecem ser mais sensíveis à ação da substância inibidora presente nos teliosporos telióides, não mostrando qualquer germinação mesmo após 6 horas. Por se tratar de estruturas diferentes de uma mesma ferrugem, este fenômeno está provavelmente relacionado com a sua sobrevivência.

A presença de substâncias auto-inibidoras da germinação em teliosporos de outra ferrugem foi constatada por Figueiredo et al. (1990). Os autores comprovaram a presença destas substâncias em teliosporos de *Puccinia cnici-oleracei* Persoon & Desmazières, ferrugem que ocorre na falsa-serralha (*Emilia sonchifolia* L.), por meio de lavagens sucessivas, utilizando o aparato denominado germinatélío (Figueiredo & Coutinho, 1984).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AYLIFFE, M.A.; LAWRENCE, G.J.; ELLIS, J.G.; PRYOR, A.J. Production of a self-inhibitor of urediospore germination in *Melampsora lini* (flax rust) segregates as a recessive, single gene trait. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.75(1), p. 74-76, 1997. Resumo disponível em: <<http://www.portaldapesquisa.com.br>> Acesso em: 23/06/2006

BELL, A.A.; DALY, J.M. Assay and partial purification of self-inhibitor of spore germination from urediosporoes of the bean rust fungus. **Phytopathology**, St. Paul, v. 52, p.261-266, 1962.

BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F. Efeito de frações parcialmente purificadas de *Saccharomyces cerevisiae* na germinação de conídios e formação de apressórios por

*Colletotrichum sublineorum* e *Colletotrichum lagenarium*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu (no prelo).

FIGUEIREDO, M.B. & CARVALHO JR., A.A. Efeito da lavagem dos soros na germinação dos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu: v. 20, p. 101-104, 1994a.

FIGUEIREDO, M.B. & CARVALHO JR., A.A. O emprego de *Coleosporium plumierae* em bioensaios envolvendo germinação de esporos de ferrugens. **Summa Phytopathologica**, Botucatu: v. 20, p. 127-129, 1994b.

FIGUEIREDO, M.B. & CARVALHO JR., A.A. Presença de um auto-inibidor nos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* e o seu papel na sobrevivência da espécie. **Summa Phytopatologica**, Botucatu.: v. 21, p. 200-5, 1995.

FIGUEIREDO, M.B.; CARVALHO JR., A. A.; HENNEN, J.F. Basidiospore production by *Puccinia cnici-oleracei* (Uredinales), a microcyclic lepto-form. **Reports of the Tottori Mycological Institute**. Tottori: Japan Kinoko Research Centre Foundation, p.89-94, 1990.

FIGUEIREDO, M.B. & COUTINHO, L.N. A germination chamber obtaining pure basidiospores of rust fungi. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGENS DO CAFEEIRO, Oeiras, Portugal, 17-20, Outubro, 1983. **Comunicações**, Oeiras, Centro Invest. Ferrugens Cafeeiro. p.61-65, 1984.

FIGUEIREDO, M.B. & COUTINHO, L.N. Avaliação da capacidade de produção de basidiosporos pelos soros teliais de *Puccinia mogiphanes* Arthur. **Arquivos do Instituto Biológico. Resumos**, São Paulo: p.26, 1994.

FOUNDIN, A.S.; MACKO, V. Identification of the self-inhibitor and some germination characteristics rusts urediniospores. **Phytopathology**, St. Paul, v.64, p. 900-903, 1974.

GODOY, C. V., BERGAMIN FILHO, A., SALGADO C.L. Doenças do cafeeiro. **Manual de Fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo:Ceres, v.2, 1997, p.185-189.

GUZZO, S.D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. 236p. Tese de Doutorado, Piracicaba-SP, Escola Superior de Agronomia Luís de Queiros, Universidade de São Paulo, 2004.

HENNEN, J.F.; SUBRAHMANYAM.; FIGUEIREDO, M.B. The Taxonomy, life history, and evolution of *Puccinia arachidis* Speg. In: **Discussion Group Meeting on Groundnut Rust Disease**, 24-28, Spet. 1984. Proc. Patancheru, India, Internacional Crops Research Institute for the Semi-Ard Tropics, ICRISAT, p.145-155, 1987.

LINDQUIST, J.C. La roya del huevo de gallo (*Salpichroa organifolia*) *Endophyllum pampeanum* Speg. nov. comb. y *Puccinia pampeana* Speg. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**. Buenos Aires, v.10, p.113-116, 1963.

LOPEZ-FRANCO, R.M.; HENNEN, J.F. & FIGUEIREDO, M.B. Development and sporogeny of the biteleomorphic species *Puccinia pampeana* on *Capsicum* spp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília: v. 15, p. 68-72, 1990.

MACKO, V.; STAPLES, R.C.; RENWICK, J. A. Germination self-inhibitor of sun flower and snapdragon rust urediniospores. **Phytopathology**, St. Paul, v.61, p. 902, 1971a.

MACKO, V.; STAPLES, R.C.; ALLEN, P.J.; RENWICK, J.A. Identification of the self-inhibitor from wheat stem urediniospores. **Science**, v.173, p. 835-836, 1971b.

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



MACKO, V. STAPLES, R.C.; YANIV, A.; GRANADOS, R.R. Self-inhibitors and of fungal spore germination. In: Weber, P.J.; Hess, W.M.(ed). **The fungal spore**. New York, Academic Press, 1976, p. 73-100.

MARTINS, E.M.F.; CARVALHO JR., A.A. & FIGUEIREDO, M.B. Relação entre *Capsicum frutescens* e os micélios mono e dicarióticos de *Puccinia pampeana*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília: v. 20, p. 613-7, 1995.

MARTINS, E.M.F., DE MARIA, A.C., STOCKER, G.G. & MORAES, W.B.C. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat-treatment. **Fitopatologia Brasileira**: v.11, p.899-909, 1986.

MUSUMECI, M.R., MORAES, W.B.C.; STAPLES, R.C. A self-inhibitor in urediosporoes of coffee rust fungus. **Phytopathology**, St.Paul, v. 64, p. 71-73, 1974.

PICCININ, E.; DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na produtividade de sorgo e na severidade de doenças foliares no campo. **Fitopatologia Brasileira**, 2005, vol.30, no.1, p.5-9.

PIERO, R. M. Di. **Potencial dos cogumelos *Lentinula edodes* (Shiitake) e *Agaricus blazei* (cogumelo-do-sol) no controle de doenças em plantas de pepino, maracujá e tomate, e a purificação parcial de compostos biologicamente ativos**. 171p. Tese de Doutorado, Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), 2003.

SILVA, R. F.; MACIEL, S. da C.; PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P.. Indução de resistência em plantas de beringela à *Ralstonia solanacearum* por extratos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei*. In: XXIX Congresso Paulista de Fitopatologia, 2006, Botucatu-SP. **Summa Phytopathologica (supl.)**. Botucatu, 2006. v. 32. p. 45-45.

STAPLES, R. C.; MACKO, V. Germination of urediniospores and differentiation of infection structures. In: Bushnell, W.R.; Roelfs, A.P. (ed.). **The cereal rusts**. New York: Academic Press, v.1, 1984, p.255-289.

TONUCCI, N. M.; PASCHOLATI, S. F. Frações de extratos aquosos de basidiocarpos de *Lentinula edodes* (Shiitake) inibem o crescimento in vitro de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e *Colletotrichum sublineolum*. In: XXVII Congresso Paulista de Fitopatologia, Summa Phytopathologica. Botucatu, v. 30, 2004, p. 91-91.

WOLF, G. Physiology and Biochemistry of Spore Germination. In: Scott, K.J.; Chakravorty, A.K. (ed.). **The Rust Fungi**. Queensland: Academic Press, 1982, p.151-178.

ZAMBOLIM, L. **Efeito de baixas temperaturas e do binomio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk et Br. e *Uromyces phaseoli typica* Arth.** 52p., Dissertação de Mestrado, Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa, 1973.

Tabela 1: Comprimento ( $\mu\text{m}$ ) dos metabasídios de teliosporos acidióides de *Puccinia pampeana* e análise estatística dos resultados.

Tratamentos	Medidas em $\mu\text{m}$		Análise estatística dos resultados	
	4 h	6 h	4 h	6h
Controle	117,66	139,67	10,86 Ab	11,83 Aa
EAE <sub>1</sub>	0	0	0,7 Ea	0,7 Ea
EAE <sub>2</sub>	15,76	24,99	4,02 Db	5,04 Da
EAE <sub>3</sub>	33,91	38,08	5,86 Cb	6,2 Ca
EAE <sub>4</sub>	56,52	69,91	7,52 Bb	8,36 Ba

Para a análise estatística os dados foram transformados em  $\sqrt{x+0,50}$ . Coeficiente de variação 4,93. Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si.

Tabela 2: Comprimento ( $\mu\text{m}$ ) dos tubos germinativos de urediniosporos de *Coleosporium plumierae* e análise estatística dos resultados.

Tratamentos	Medidas em $\mu\text{m}$		Análise estatística dos resultados	
	4 h	6 h	4 h	6h
Controle	129,65	171,2	11,41 Ab	13,1 Aa
EAE <sub>1</sub>	10,99	16,22	3,38 Db	4,08 Da
EAE <sub>2</sub>	13,66	25,13	3,76 Db	5,05 Ca
EAE <sub>3</sub>	35,83	63,21	6,01 Cb	8,28 Ba
EAE <sub>4</sub>	46,84	72,21	6,87 Bb	8,51 Ba

Para a análise estatística os dados foram transformados em  $\sqrt{x+0,50}$ . Coeficiente de variação 5,10. Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si.

Tabela 3: Comprimento ( $\mu\text{m}$ ) dos tubos germinativos de uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* e análise estatística dos resultados.

Tratamentos	Medidas em $\mu\text{m}$		Análise estatística dos resultados	
	4 h	6 h	4 h	6h
<b>Controle</b>	147,5	219,55	12,16 Ab	14,79 Aa
<b>EAE<sub>1</sub></b>	0	16	0,7 Db	4,05 Da
<b>EAE<sub>2</sub></b>	28,26	41,94	5,31 Cb	6,5 Ca
<b>EAE<sub>3</sub></b>	35,7	66,93	5,97 Cb	8,2 Ba
<b>EAE<sub>4</sub></b>	58,31	80,62	7,66 Bb	9 Ba

Para a análise estatística os dados foram transformados em  $\sqrt{x+0,50}$ . Coeficiente de variação 7,62. Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si.

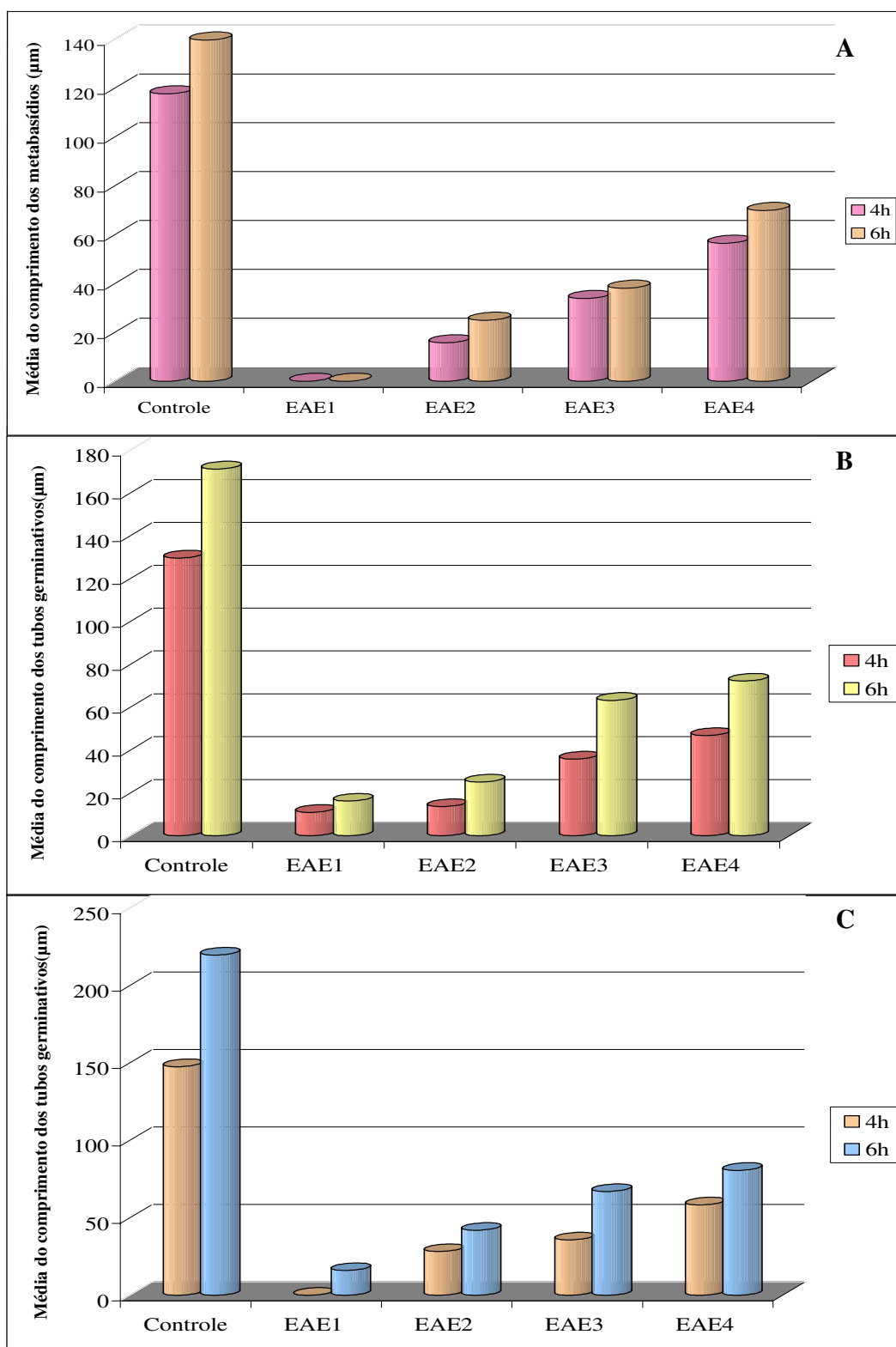


Figura 1: Esporos de ferrugens em contato com EAE<sub>1</sub>, EAE<sub>2</sub>, EAE<sub>3</sub>, EAE<sub>4</sub>, e sem contato (controle). Gráfico A: *Puccinia pampeana*. Gráfico B: *Coleosporium plumierae*. Gráfico C: *Hemileia vastatrix*.

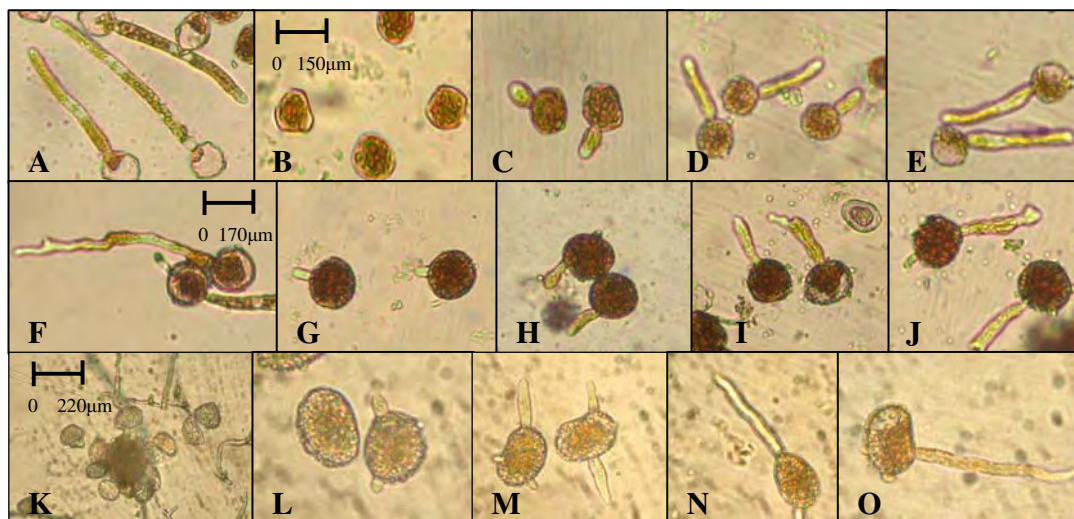


Figura 1: Diferenças entre os crescimentos dos metabasídios e tubos germinativos nos tratamentos realizados, após 6 horas. Teliosporos aecidióides de *Puccinia pampeana*: Controle (A), EAE<sub>1</sub> (B), EAE<sub>2</sub> (C), EAE<sub>3</sub> (D), EAE<sub>4</sub> (E). Urediniosporos de *Coleosporium plumierae*: Controle (F), EAE<sub>1</sub> (G), EAE<sub>2</sub> (H), EAE<sub>3</sub> (I), EAE<sub>4</sub> (J). Urediniosporos de *Hemileia vastatrix*: Controle (K), EAE<sub>1</sub> (L), EAE<sub>2</sub> (M), EAE<sub>3</sub> (N), EAE<sub>4</sub> (O).

### **CAPÍTULO III**

#### **Especificidade de *Puccinia pampeana* a Cultivares de *Capsicum* spp. e Outras Solanáceas**

## **Especificidade de *Puccinia pampeana* a cultivares de *Capsicum* spp. e outras solanáceas**

Martha Maria Passador<sup>1,2\*</sup>, Edson Luiz Furtado<sup>1</sup>, Mário Barreto Figueiredo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP, CEP-18.610-307, Botucatu-SP, e-mail:marthamaria\_p@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Instituto Biológico de São Paulo, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, Laboratório de Micologia Fitopatológica

\*Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor: Bolsista do CNPq

Aceito para publicação em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

### **RESUMO**

Passador, M.M.; Furtado, E.L.; Figueiredo, M.B. **Especificidade de *Puccinia pampeana* a cultivares de *Capsicum* spp. e outras solanáceas.** *Summa Phytopatologica*, 2007.

A ferrugem de *Capsicum* spp. (pimenta e pimentão), é causada pelo fungo *Puccinia pampeana*. Ocorre na região sul e sudeste do Brasil, com maior frequência no outono e inverno, quando predominam as temperaturas amenas ao redor de 21°C e alta umidade. É uma doença importante nestas culturas, podendo causar perdas totais em plantios de diversas espécies de *Capsicum*. Esta ferrugem, mesmo sendo específica do gênero *Capsicum*, e mesmo muitas espécies dentro deste gênero sendo suscetíveis, algumas apresentaram reação de hipersensibilidade. Foi o caso de *Capsicum annuum* (pimenta cayenne) e *C. chinense* (pimenta habañero), que após a formação dos espermogônios (11 dias), apresentou manchas necróticas na região periférica aos espermogônios, aos 15 dias após a inoculação, não havendo evolução da infecção. Também foi observada reação de hipersensibilidade, de forma mais moderada em folhas *C. annuum* (pimenta serrano) e *C. baccatum* (chapéu-de-frade), porém somente nas folhas, sendo que as hastes apresentavam os sinais do fungo. Com relação às outras solanáceas inoculadas (jiló e berinjela) não foram observados os sintomas e sinais da infecção. Apesar de



algumas espécies de *Capsicum* apresentarem reação de hipersensibilidade, a ferrugem causada por *P. pampeana* é específica deste gênero.

Palavras chave: ferrugem de *Capsicum*, variedades, hipersensibilidade

---

### ABSTRACT

Passador, M.M.; Furtado, E.L.; Figueiredo, M.B. **Specificity of *Puccinia pampeana* to *Capsicum* spp. cultivars and other solanaceous plants.** *Summa Phytopatologica*, 2007.

The *Capsicum* spp. (pepper and green pepper) rust is caused by the fungus *Puccinia pampeana*. It occurs in the southern and southeastern regions of Brazil, more frequently in the fall and winter, when mild temperatures (around 21°C) and high moisture are predominant. This is an important disease in these crops, which may cause complete losses in crops of several species of *Capsicum*. Although specific to the genus *Capsicum*, and despite the fact that many species within this genus are susceptible to the rust, some of them have shown a hypersensitivity reaction. That was the case with *Capsicum annuum* (Cayenne pepper) and *C. chinense* (datil pepper), which, after spermogonia formation (11 days), showed necrotic spots in the peripheral region of the spermogonia 15 days after inoculation, without evolution of the infection. A milder hypersensitivity reaction was also observed only in leaves of *C. annuum* (chili pepper) and *C. baccatum* (chapéu-de-frade); however, stalks showed signs of the fungus. With regard to other solanaceous plants inoculated (jiló and eggplant), no symptoms or signs of infection were observed. Although some species of *Capsicum* have shown hypersensitivity reactions, the rust caused by *P. pampeana* is specific to this genus.

Key words: *Capsicum* rust, varieties, hipersensibility

### INTRODUÇÃO

A ferrugem de *Capsicum* spp., causada pelo fungo *Puccinia pampeana* ocorre na região sul e sudeste do Brasil, com maior frequência no outono e inverno, quando predominam as temperaturas moderadas ao redor de 18 e 21°C e alta umidade, podendo causar

perdas totais das culturas que infectam. Afeta todos os órgãos jovens da parte aérea. As folhas, frutos, caule e brotos infectados sofrem hipertrofia, encarquilhamento, distorções, fasciação e superbrotamento das gemas apicais e laterais dando origem a estruturas ou ramos laterais que crescem de forma mais ou menos indefinida, do tipo “vassoura de bruxa”. Os sintomas se manifestam predominantemente nas folhas, mas também em outras partes vegetais como bainhas, flores e frutos em início de desenvolvimento (8). Sabe-se que estes superbrotamentos, resultam de um desequilíbrio hormonal, e podem acumular uma quantidade significativa de um indutor de crescimento, provavelmente o ácido-indol-acético (AIA), hormônio vegetal que é a principal auxina de ocorrência natural (2,13,15).

O fungo *Puccinia pampeana*, tem um ciclo de vida muito raro. Na fase inicial após a penetração e desenvolvimento do talo monocariótico, apresenta espermogônios e espermásias, ocorrendo num só hospedeiro, sendo por esse motivo chamado autoécio. A única estrutura infectiva do microrganismo é o basidiospоро, produzido em decorrência da germinação de qualquer dos dois estados teleomórficos, originados pelo talo dicariótico (N+N): o tipo *Puccinia* ou, o tipo *Endophyllum* (10).

Devido à existência desses dois estados teleomórficos, *P. pampeana* é caracterizado como um microrganismo biteleomórfico (6, 8, 10). Os soros do tipo *Endophyllum* apresentam morfologia semelhante à do anamorfo *Aecidium* e produzem teliosporos aecidióides (III<sup>I</sup> – teliosporos morfologicamente semelhantes à eciosporos) unicelulares, catenulados, de coloração amarelo-ouro, sem pedicelo e envoltos por uma membrana denominada perídio. Os soros do tipo *Puccinia* surgem ao final do ciclo da doença e são constituídos pelos teliosporos telióides (III) bicelulares, pedicelados e que apresentam intensa coloração marrom (11). Os teliosporos telióides são os responsáveis pela sobrevivência do fungo, quando submetido a temperaturas extremas, durante o verão. Isto porque apresentam parede espessa, com grande concentração de substância auto-inibidora da germinação, cuja função é impedir que todos os esporos germinem simultaneamente quando as condições ambientais são desfavoráveis, possibilitando a permanência dessas estruturas na planta de uma estação para outra (7, 8).

Com relação às medidas de controle, ainda não existem formas eficazes para controlar esta doença. Algumas medidas utilizadas para controle de outras ferrugens podem ser testadas para a ferrugem da pimenteira. Como, por exemplo no caso da ferrugem do café,

causada pelo fungo *Hemileia vastatrix*, além do controle preventivo, são utilizados fungicidas sistêmicos e também a obtenção variedades resistentes (9). Variedades resistentes têm apresentado certa resistência a importantes doenças, como exemplo pode-se citar o desenvolvimento de variedades de melão (*Cucumis melo*) ao míldio causado por *Sphaerotheca fuliginea* raça 1 (3,16).

Este trabalho teve como objetivos verificar a suscetibilidade de diferentes cultivares de *Capsicum* spp. a *P. pampeana* e sua capacidade de infecção sobre outras solanáceas cultivadas, como jiló (*Solanum gillo*) e berinjela (*Solanum melongena*).

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Obtenção das plantas hospedeiras**

Para o presente estudo, foram utilizadas plantas das cultivares apresentadas na Tabela 1:

#### **Inserir Tabela 1**

A semeadura foi realizada em vasos de 10 cm de diâmetro e 10 cm de altura. Os hospedeiros foram mantidos em casa de vegetação até a realização das inoculações, quando foram transferidos para câmaras de temperatura e luminosidade controladas. Todas as plantas utilizadas estavam em média com 60 dias de semeadura, e apresentavam altura média de 20 a 35 cm.

### **Obtenção do inóculo**

Para a inoculação foram utilizados esporos provenientes de pimenteiras da cultivar Dedo-de-moça (*Capsicum bacattum* L.), previamente inoculadas com isolado proveniente de Botucatu-SP. As plantas foram mantidas em câmara com temperatura controlada para aproximadamente 18 e 20°C, e fotoperíodo de 14 horas de luz e 10 horas de escuro.

### **Inoculação em cultivares de *Capsicum* e outras solanáceas**

Para cada cultivar foram utilizadas 5 plantas. Estas foram inoculadas com uma suspensão contendo água destilada, Tween a 0,01% e os teliosporos aecidióides na concentração de  $10^4$  esporos por  $\text{mL}^{-1}$ . Esta suspensão foi mantida a  $12^\circ\text{C}$  para germinação dos teliosporos aecidióides por um período de 4 horas no escuro (8). Após este período, a suspensão foi pulverizada nas plantas, sendo utilizado um pulverizador manual de jardim.

Após 9 a 12 dias da inoculação, a plantas já apresentavam os sintomas e alguns sinais da infecção e os resultados já puderam ser avaliados. Sendo assim, foi realizada a espermatização, com o auxílio de um pincel nº 8, para promover o encontro dos talos geneticamente compatíveis (12).

Para avaliar a severidade da infecção (SI) foi utilizada a metodologia de Castro et al. (4) com algumas modificações. Foi contado o número de manchas a cada  $4\text{ cm}^2$  nos segundos e terceiros pares de folhas. Com base neste dado foi possível avaliar o número em cada  $\text{cm}^2$  de área foliar. Foram observadas as lesões (manchas cloróticas - sintomas) e não os espermogônios (sinais) formados, porque estes ficam situados no centro destas lesões, e cada uma pode conter até 3 espermogônios (Figura 1).

#### **Inserir Figura 1**

A intensidade da infecção foi avaliada entre 22 a 28 dias após as inoculações, através da seguinte escala de notas: reação de hipersensibilidade intensa (0) – não houve formação de teliosporos aecidióides e evolução da doença; reação de hipersensibilidade moderada (1) – houve necrose e formação de poucos teliosporos aecidióides; poucos teliosporos aecidióides (2); quantidade moderada de teliosporos aecidióides (3); grande quantidade de teliosporos aecidióides (4); poucos teliosporos telióides (5); quantidade moderada de teliosporos telióides (6); grande quantidade de teliosporos telióides (7).

A Figura 2 ilustra a escala utilizada para classificar a intensidade da infecção nos hospedeiros inoculados.

#### **Inserir Figura 2**

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Inoculação em cultivares de *Capsicum* e outras solanáceas

Para avaliação dos resultados, foi observado o aparecimento de lesões cloróticas (sintomas) nas faces abaxial e adaxial das folhas, que após 9 a 12 dias da inoculação já apresentavam-se bem visíveis. As cultivares de *C. annuum* (jalapeño e ardida) apresentaram sintomas e sinais após 9 dias. Outras cultivares de *C. annuum*: os pimentões Martha-R, Dahra-R e Bruna-R e pimenta tomate apresentaram lesões com 10 dias. As cultivares *C. annuum* (serrano), *C. chinense* (habañero), *C. baccatum* (chapéu-de-frade) e *C. frutescens* (malagueta) apresentaram as lesões após 12 dias da inoculação.

Na tabela 2 observa-se a severidade da infecção e a intensidade dos sintomas apresentados na Figura 2. As cultivares de *Capsicum annuum* apresentaram maior número de lesões com, exceção ao pimentão Dahra-R, e da pimenta cayenne que apresentou hipersensibilidade intensa. As cultivares que apresentaram a reação de hipersensibilidade intensa são as que apresentaram menor número de lesões.

### Inserir Tabela 2

Após o aparecimento dos primeiros sintomas e sinais, as plantas foram espermizadas, para promover o encontro dos talos geneticamente compatíveis (12). Dentre as cultivares nas quais houve evolução da infecção, foi observado a formação dos teliossoros aecidióides nas folhas, nos galhos, nos órgãos florais, e também apresentaram superbrotamentos semelhantes aos sintomas comumente denominados “vassoura de bruxa”. Algumas destas cultivares, como os pimentões chegaram a produzir frutos nos quais foi possível observar a presença de télios aecidióides, e foi também possível verificar que estes frutos originaram-se de órgãos florais já com sinais do fungo (Figuras 3 a 5).

### Inserir Figura 3

### Inserir Figura 4

### Inserir Figura 5

Das cultivares utilizadas no estudo, as únicas nas quais a infecção não evoluiu foram em *Capsicum annuum* L. (pimenta cayenne) e *Capsicum chinense* L. (pimenta habañero). Nestas cultivares, embora apresentando os primeiros sintomas da doença, como demonstra a Tabela 2, ou seja, lesões no tecido contendo os espermogônios, não houve progresso da infecção. Isto foi devido a um mecanismo de defesa do hospedeiro ao patógeno: a reação de hipersensibilidade. A região ao redor dos espermogônios sofreu significativa necrose impedindo o desenvolvimento do patógeno (Figura 6). Convém ressaltar que o isolado coletado em Botucatu e utilizado na inoculação, é proveniente de pimenta bode, também *Capsicum chinense* L.

As cultivares de pimentas Cayenne e Habañero, devido à resistência apresentada, com intensa hipersensibilidade, possivelmente poderiam ser utilizadas para melhoramento genético, possibilitando o desenvolvimento de cultivares de pimentas para processamento industrial.

A ferrugem causada por *Puccinia pampeana* é específica de *Capsicum* spp., entretanto, algumas variedades do hospedeiro podem apresentar algum mecanismo de defesa. Um exemplo disso é a reação de hipersensibilidade. No caso de fungos e bactérias, estes patógenos são bloqueados pelos tecidos necrosados, e assim morrem rapidamente, devido à falta de nutrição (14). Este mecanismo de defesa é bastante comum no caso de fungos biotróficos (1).

Outras espécies de *Capsicum* utilizadas no presente estudo também demonstraram hipersensibilidade, porém de uma forma mais moderada. Estas espécies foram *C. annuum* (pimenta Serrano) e *C. baccatum* (pimenta Chapéu-de-frade). Como pode ser observado na Figura 7, houve início da formação dos télios acidióides, mas devido à necrose periférica da lesão, não houve progresso da infecção. Embora tenha sido observada a reação de hipersensibilidade nas folhas, não houve esta reação nas hastes, que apresentaram formação dos teliosoros acidióides e posteriormente teliosoros telióides, apresentando resistência parcial à ferrugem. Como no caso de resistência de plantas de melão ao mildio onde experimentos realizados com provaram que algumas linhagens podem apresentar diferentes níveis resistência parcial, que são claramente expressadas no estágio cotiledonar (3).

Alguns dos télios acidióides, devido à falta de nutrição se tornaram inviáveis, apresentando coloração branca. Quando observados ao microscópio óptico, os teliosporos

destes soros apresentaram-se desidratados e com formato irregular, e em testes para germinação, o resultado foi negativo. Os teliosporos que ainda mostravam coloração amarelada típica apresentavam aspecto normal e ainda viáveis, o que seria, no habitat do fungo uma forma de sobrevivência, devido a possibilidade de dispersão.

É importante ressaltar que na cultivar de pimenta Serrano, apesar de não haver formação de télios aecidióides nas folhas, houve superbrotamento (Figura 7) e nestes, as folhas apresentaram a formação dos teliossoros aecidióides.

**Inserir Figura 6**

**Inserir Figura 7**

Uma hipótese para isto, seria devido à variabilidade genética, o esporo que foi depositado naquele ponto seria mais infectivo que outros que infectaram outras partes da plantas ou, as outras plantas. Cada espermogônio formado após a infecção pelo basidiospоро possui informações genéticas diferentes devido à variabilidade genética. Cada teliospоро aecidióide resulta de uma recombinação genética, sendo uma multiplicação do ovo ou zigoto.

Para a preparação de uma suspensão, os teliosporos não são geneticamente iguais, pois quando a planta é inoculada, formam-se os espermogônios, e após a espermatização, os télios aecidióides. Cada soro que se forma, apresenta uma nova recombinação genética, sendo assim, cada télio aecidióide é diferente de outro, embora os teliosporos em um mesmo télio sejam geneticamente iguais. Isto explica porque, dentro de uma mesma espécie, algumas linhagens são mais infectivas do que outras que podem até não provocar sintoma algum, nos mesmos hospedeiros.

Para estudos sobre esta variabilidade, no caso de *Puccinia pampeana*, deveria ser realizada uma inoculação inicial com teliosporos provenientes de um único télio aecidióide.

Com relação às outras solanáceas inoculadas com *P. pampeana*, jiló e berinjela, não apresentaram sintomas e sinais da doença, comprovando que esta ferrugem apresenta especificidade a *Capsicum* spp. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos por Figueiredo & Carvalho Jr. (5), que além de espécies de *Capsicum*, também inocularam *P. pampeana* em outros gêneros de solanáceas, entre estas, 3 cultivares de comerciais de

berinjela. Os autores observaram que somente as plantas de pimenta e pimentão apresentaram a doença.

Diante destes resultados, conclui-se que, mesmo que algumas cultivares de *Capsicum* spp. apresentem reação de hipersensibilidade, a ferrugem causada por *P. pampeana* é específica deste gênero.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agrios, G.N. How plants defend themselves against pathogens. **Plant Pathology**. San Diego: Academic Press, 1995, p. 635.
2. Bitancourt, A.A. Ativação oxidativa do ácido indolacético nos testes de crescimento celular vegetal. Comunicação à XIV Reunião Anual da SBPC, Curitiba, 1962.
3. Boiteux, L.S.; Reifschneider, F.J.B.; Pessoa, H.B.S.V. Phenotypic expression of quantitative and qualitative components of partial resistance to powdery mildew (*Sphaerotheca fugilinea* race 1) in melon (*Cucumis melo*) germplasm. **Plant Breeding**, v. 114, p.185-187, 1995.
4. Castro, H.A., Krügnr, T.R.; 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**, v.8, p. 491-497, 1983.
5. Figueiredo, M.B. & Carvalho Jr. Especificidade de *Puccinia pampeana* a *Capsicum* spp. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 22 (supl.), p. .3, 1991.
6. Figueiredo, M.B. & Carvalho Jr., A.A. Efeito da lavagem dos soros na germinação dos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana*. **Summa Phytopathologica**, v.20, p. 101-104, 1994.



7. Figueiredo, M.B. & Carvalho Jr., A.A. Presença de um auto-inibidor nos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* e o seu papel na sobrevivência da espécie. **Summa Phytopatologica**, v. 21, p. 200-205, 1995.
8. Figueiredo, M.B., Pimentel, C.P.V., Russomano, O.M.R., Coutinho, L.N. Biologia da espécie biteliomórfica de *Puccinia pampeana* Speg.- *Endophyllum pampeanum* (Speg.) Lindq. ferrugem da pimenta e do pimentão (*Capsicum* spp.). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 54 (Supl.), p. 1-10, 1987.
9. Godoy, C. V., Bergamin Filho, A., Salgado C.L. Doenças do cafeeiro. **Manual de Fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo:Ceres, v.2, p.185-189, 1997.
10. Hennen, J. F.; Figueiredo, M.B.; Pimentel, C.P.V.; Russomano, O.M.R. The life cycle and taxonomy of *Puccinia pampeana* (Speg.) Lindq. on *Capsicum* spp. and other Solanaceae. **Rep. Tottori Mycol. Inst.**, v. 22, p. 209-220, 1984.
11. Lopez-Franco, R.M.; Hennen, J.F. & Figueiredo, M.B. Development and sporogeny of the biteleomorphic species *Puccinia pampeana* on *Capsicum* spp. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, p. 68-72, 1990.
12. Martins, E.M.F.; Carvalho Jr., A.A. & Figueiredo, M.B. Relação entre *Capsicum frutescens* e os micélios mono e dicarióticos de *Puccinia pampeana*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, p. 613-617, 1995.
13. Naqvi, S.S.M. Plant growth promoter and inhibitors. In: PESSARAKLI, M. (ed.). **Handbook of plant and crop Physiology**. New York:Marcel Dekker Inc., 1990, 1004p.
14. Pascholati, S.F. & Leite, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. **Manual de Fitopatologia – Princípios e conceitos**. São Paulo:Ceres, v.1, 1997, p.417-453.

15. Raven, P.H.; Evert, R.F.; Eichhorn, S.E. **Regulando o crescimento e o desenvolvimento: os homônios vegetais.** In: *Biologia vegetal*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1999, p.649-675.
  
16. Takada, K. Breeding methods for disease-resistance of melon, and development of new lines with combined resistance. **JARQ**, vol.16, n.2, p.94-104, 1982.

Tabela 1: Relação de cultivares e espécies de solanáceas inoculadas com basidiosporos provenientes de teliosporos acidióides de *Puccinia pampeana*

<p><b>Pimentas</b> (<i>Capsicum</i> spp.)</p>	<p>Jalapeño (<i>Capsicum annuum</i> L.)* Pimenta tomate - "red ruffled" (<i>Capsicum annuum</i> L.)* Ardida (<i>Capsicum annuum</i> L.)** Serrano (<i>Capsicum annuum</i> L.)*** Cayenne (<i>Capsicum annuum</i> L.) Habañero (<i>Capsicum chinense</i> L.)*** Chapéu-de-frade (<i>Capsicum baccatum</i> L.)*** Malagueta (<i>Capsicum frutescens</i> L.)***</p>
<p><b>Pimentões</b> (<i>Capsicum annuum</i> L.)</p>	<p>Martha-R** Dahra-R** Bruna-R**</p>
<p><b>Outras solanáceas</b></p>	<p>Berinjela (<i>Solanum melongena</i> L.)* Jiló (<i>Solanum gilo</i> Raddi)*</p>

\*Provenientes de sementes/frutos adquiridos no mercado/ \*\*Provenientes de sementes doadas pela empresa Sakata seeds/sudamerica \*\*\*Provenientes de sementes doadas pelo Centro de Horticultura do Instituto Agrônomo de Campinas

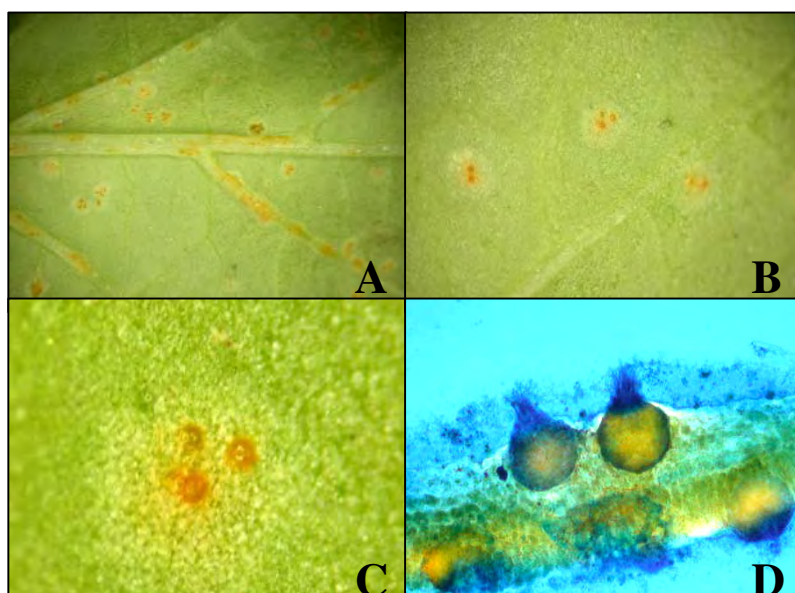


Figura 1: Lesões (sintomas) em folhas das cultivares inoculadas contendo os espermogônios de *Puccinia pampeana* (sinais) – face abaxial de folhas de *Capsicum* (A); lesões com mais de um espermogônio (B e C); corte de tecido vegetal apresentando espermogônio com hifas receptoras (D).

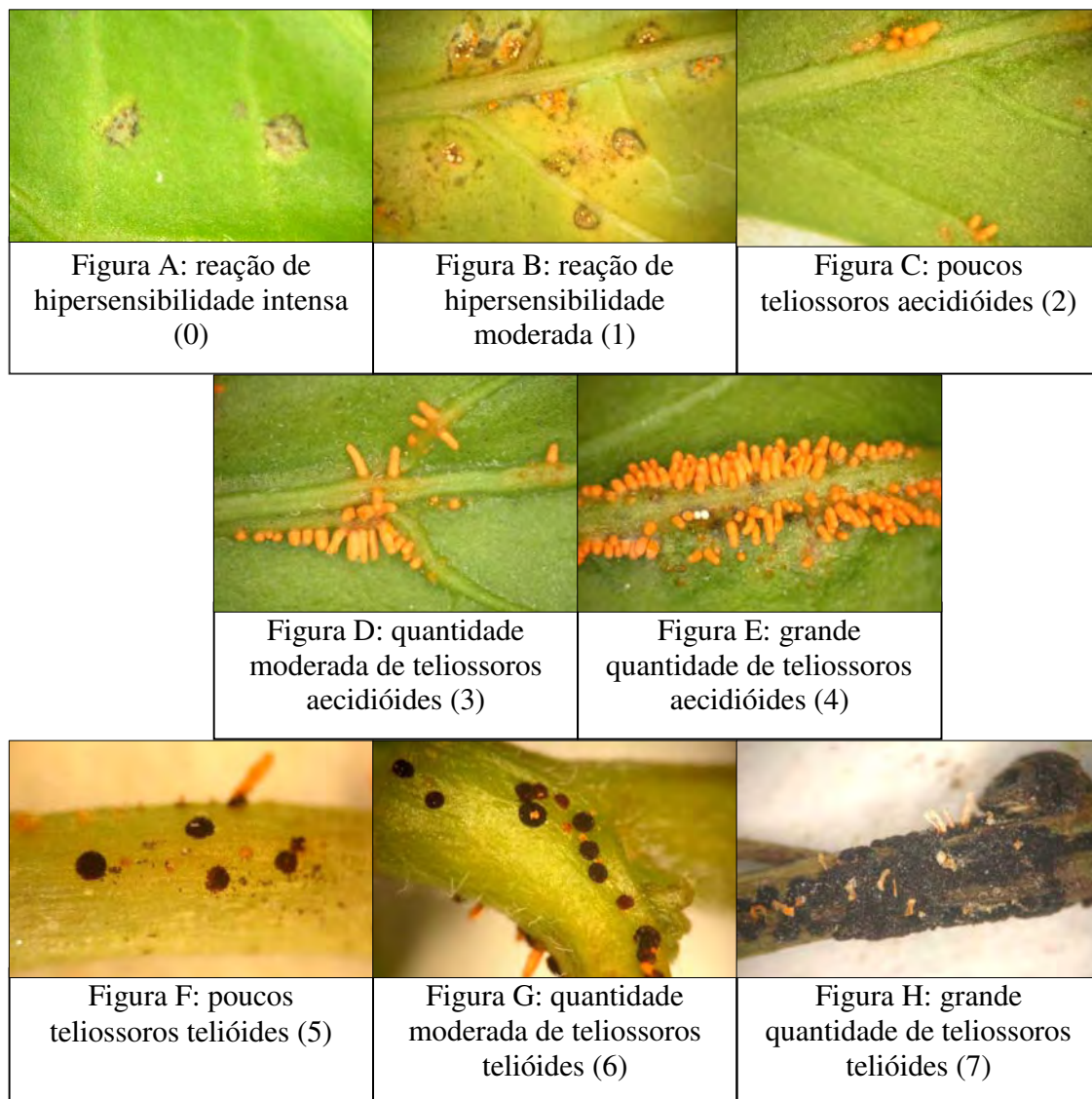


Figura 2: Escala numérica para tipo de reação de hipersensibilidade, teliossoros aecidióides (A-E) e teliossoros telióides (F-H).

Tabela 2: Severidade da doença, levando em consideração o número de lesões contendo espermogônios por cm<sup>2</sup> e intensidade dos sintomas, nos segundos e terceiros pares de folhas.

Cultivares inoculadas	SI * (cm <sup>2</sup> )	INT	Análise estatística dos resultados
Pimenta Jalapeño ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	10,7	4; 6	3,35 B
Pimenta tomate (red ruffled) ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	14,4	4; 7	3,86 A
Pimenta Ardidá ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	12,5	4; 5	3,61 AB
Pimenta Serrano ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	4,15	1; 3; 5	2,16 C
Pimenta Cayenne ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	6,6	0	2,66 C
Pimenta Habañero ( <i>Capsicum chinense</i> L.)	5,5	0	2,45 C
Pimenta Chapéu-de-frade ( <i>Capsicum baccatum</i> L.)	5,75	1; 3; 6	2,5 C
Pimenta Malagueta ( <i>Capsicum frutescens</i> L.)	6,7	4; 7	2,72 C
Pimentão Martha-R ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	13,1	4; 6	3,69 AB
Pimentão Dahra-R ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	6,5	4; 5	2,65 C
Pimentão Bruna-R ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	11,75	4; 5	3,5 AB
Berinjela ( <i>Solanum melongena</i> L.)	0	-	-
Jiló ( <i>Solanum gilo</i> Raddi)	0	-	-

\*Média das cinco repetições. SI: severidade da infecção./ INT: intensidade da infecção./ Reação de hipersensibilidade intensa (0)/ Reação de hipersensibilidade moderada (1)/ Poucos teliossoros aecidióides (2)/ Quantidade moderada de teliossoros aecidióides (3)/ Grande quantidade de teliossoros aecidióides (4)/ Poucos teliossoros telióides (5)/ Quantidade moderada de teliossoros telióides (6)/ Grande quantidade de teliossoros telióides (7). Para a análise estatística os dados foram transformados em  $\sqrt{x+0,50}$ . Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de TUKEY. Coeficiente de variação 18,06.



Figura 3: Fruto de pimentão da cultivar Dahra-R com teliossoros aecidióides de *Puccinia pampeana*



Figuras 4 e 5: Flor de pimentão da cultivar Bruna-R com teliossoros acidifiáveis de *Puccinia pampeana* nas pétalas.

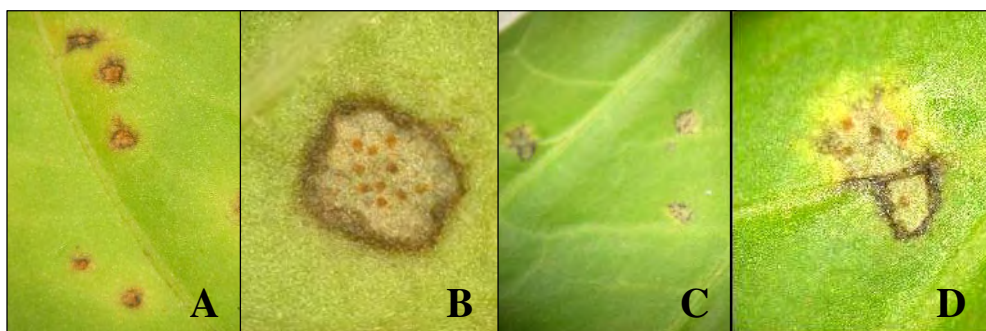


Figura 6: Reação de Hipersensibilidade apresentada pelas espécies de *Capsicum*: *C. annuum* (Pimenta Cayenne), A e B; *C. chinense* (Pimenta Habañero), C e D. Apesar da formação dos espermogônios de *Puccinia pampeana*, estes tornaram-se inviáveis devido à necrose do tecido foliar.

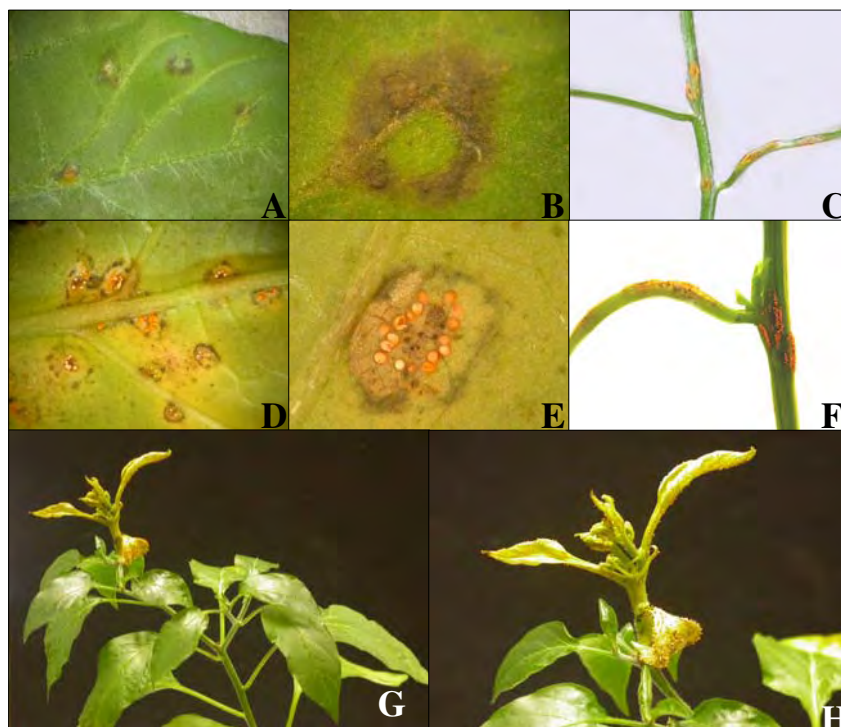


Figura 7: Folhas de *C. annuum* (pimenta serrano) (A, B, C); e *C. baccatum* (pimenta Chapéu-de-frade) (D, E, F); com necrose ao redor dos espermogônios e hastes de pimenteiros inoculadas apresentando formação de teliosoros aecidióides de *Puccinia pampeana*. Superbrotamento em planta de pimenta Serrano (G, H).

## 5 CONCLUSÕES GERAIS

- 1- Os choques de temperatura durante três horas não inviabilizam os teliossoros telióides, apenas provocam diferenças no tempo de início da produção de basidiosporos.
- 2- Os teliossoros telióides de *Puccinia pampeana* são capazes de produzir basidiosporos por um período de até cinco meses, sob temperatura favorável (12°)
- 3- Extratos aquosos de esporos (EAE) contêm substância auto-inibidora capaz de inibir a germinação de teliosporos aecidióides de *Puccinia pampeana* e uredíniosporos de outras ferrugens como *Coleosporium plumierae* e *Hemileia vastatrix*.
- 4- A ferrugem causada por *Puccinia pampeana* apresenta especificidade a cultivares de *Capsicum* spp.
- 5- Cultivares de *Capsicum* spp. apresentam reação de hipersensibilidade intensa (Habañero e Cayenne) ou moderada (Serrano e Chapéu-de-frade) a *P. pampeana*.



## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. How plants defend themselves against pathogens. Plant Pathology. San Diego: Academic Press, 1995, p. 635.

AINSWORTH, G.C. **Bisby's dictionary of the fungi**. 6 Kew. Commonw. Mycol. Inst., Kew, 1983.

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

APARECIDO, C.C. Estudos ecológico sobre *Puccinia psidii* Winter – ferrugem das Mirtáceas. Botucatu, 2001, 66p., Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Dissertação, Mestrado

---

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Faculdade de Ciências Agrônômicas. **Normas para elaboração de dissertação e teses**. Botucatu, 2002. 25 p.

APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, M.B. Influência e temperatura na produção de basidiosporos pelos soros teliais de *Puccinia pampeana*. **Arquivos do Instituto Biológico**, vol 64 (supl.), p.61, 1997.

AYLIFFE, M.A.; LAWRENCE, G.J.; ELLIS, J.G.; PRYOR, A.J. Production of a self-inhibitor of urediospore germination in *Melampsora lini* (flax rust) segregates as a recessive, single gene trait. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.75(1), p. 74-76, 1997. Resumo disponível em: <<http://www.portaldapesquisa.com.br>> Acesso em: 23/06/2006

BELL, A.A.; DALY, J.M. Assay and partial purification of self-inhibitor of spore germination from urediosporoes of the bean rust fungus. **Phytopathology**, St. Paul, v. 52, p.261-266, 1962.

BIANCHETTI, L.B.; BUSTAMENTE, P.G; SILVA, G.P.; REIFSCHNEIDER, F. **Relatório de viagem para coleta de espécies de *Capsicum* (Solanaceae), realizada entre os dias 28/04 e 26/05 de 1999, no Sudeste Brasileiro**. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/projetos/capsicum/index6.htm>> Acesso em 01/06/2005

BITANCOURT, A.A. Ativação oxidativa do ácido indolacético nos testes de crescimento celular vegetal. Comunicação à XIV Reunião Anual da SBPC, Curitiba, 1962.

BOITEUX, L.S.; REIFSCHNEIDER, F.J.B.; PESSOA, H.B.S.V. Phenotypic expression of quantitative and qualitative components of partial resistance to powdery mildew (*Sphaerotheca fugilinea* race 1) in melon (*Cucumis melo*) germplasm. **Plant Breeding**, v. 114, p.185-187, 1995.

BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F. Efeito de frações parcialmente purificadas de *Saccharomyces cerevisiae* na fermentação de conídios e formação de apressórios por *Colletotrichum sublineorum* e *Colletotrichum lagenarium*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu (no prelo).

BORO, M.C.; FIGUEIREDO, M.B. Preservação de uredíniosporos de *Phakopsora pachirhyzi* em câmaras frias. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, p.57, 2004.

CARVALHO Jr., A.A.; MARTINS, E.M.F. & FIGUEIREDO, M.B. Cultura axênica de *Melampsora epitea*, a ferrugem do chorão (*Salix babilonica*) a partir de uredíniosporos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília:v.23, n.3, p.379-385, 1998.

CASTRO, H.A., KRÜGNER, T.R.; IDERIHA, C.H.F.; CAPELLO, M.S.C.; MARCHI, A.B. Inoculação cruzada de *Eucalyptus*, goiaba (*Psidium guajava*) e jambuí (*Syzygium jambos*) com *Puccinia psidii*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 8, p. 491-497, 1983.

CRAIGIE, J. H. An experimental investigation of sex in the rust fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v.21, n.11, p.1001-1040, 1931.

CUMMINS, G.E. **Illustrated genera of rust fungi. Minneapolis**. Burgess Publ. Co., 1959, 131p.

CUMMINS, G.E. Rust Fungi on Legumes and Compositae in North America. **Univ. Arizona Press**, Tucson, 1978, 424p.

CUMMINS, G.E. & HIRATSUKA, Y. Illustrated genera rust fungi. Revised Edition. Ed. the Am. **Phytopathology**. Soc. St. Paul. Minnesota: 2003, 225p.

CUTTER JR., V. M. Studies on the isolation and growth of plant rusts in host tissue cultures and upon synthetic media I Gymnosporangium. **Mycologia**, v. 51, p. 248-95, 1959.

FIGUEIREDO, M.B & APARECIDO, C.C. Capacidade de produção de basídiosporos por diferentes espécies de *Puccinia*. **Summa Phytopathologica**, v. 24 (supl.), p. 61, 1998.

FIGUEIREDO, M.B. & CARVALHO Jr, A.A.. Especificidade de *Puccinia pampeana* a *Capsicum* spp. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo: v.22 (supl.), p.3, 1991.

FIGUEIREDO, M.B. & CARVALHO Jr., A.A. Efeito da lavagem dos soros na germinação dos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu: v. 20, p. 101-104, 1994a.

FIGUEIREDO, M.B. & CARVALHO Jr., A.A. O emprego de *Coleosporium plumierae* em bioensaios envolvendo germinação de esporos de ferrugens. **Summa Phytopathologica**, Botucatu: v. 20, p. 127-129, 1994b.

FIGUEIREDO, M.B. & CARVALHO Jr., A.A. Presença de um auto-inibidor nos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana* e o seu papel na sobrevivência da espécie. **Summa Phytopathologica**, Botucatu.: v. 21, p. 200-5, 1995.

FIGUEIREDO, M.B.; CARVALHO Jr., A. A.; HENNEN, J.F. Basidiospore production by *Puccinia cnici-oleracei* (Uredinales), a microcyclic lepto-form. **Reports of the Tottori Mycological Institute**. Tottori: Japan Kinoko Research Centre Foundation, p.89-94, 1990.

FIGUEIREDO, M.B. & COUTINHO, L.N.. A germination chamber obtaining pure basidiospores of rust fungi. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGENS DO CAFEEIRO, Oeiras, Portugal, 17-20, Outubro, 1983. **Comunicações**, Oeiras, Centro Invest. Ferrugens Cafeeiro. p.61-65, 1984.

FIGUEIREDO, M.B. & COUTINHO, L.N. Avaliação da capacidade de produção de basidiosporos pelos soros teliais de *Puccinia mogiphanes* Arthur. **Arquivos do Instituto Biológico. Resumos**, São Paulo: p.26, 1994.

FIGUEIREDO, M.B., PIMENTEL, C.P.V., RUSSOMANO, O.M.R., COUTINHO, L.N. Biologia da espécie biteliomórfica de *Puccinia pampeana* Speg.- *Endophyllum pampeanum* (Speg.) Lindq. ferrugem da pimenta e do pimentão (*Capsicum* spp.). **Arquivos do Instituto Biológico.**, São Paulo, v. 54 (Supl.), p. 1-10, 1987.

FOUNDIN, A.S.; MACKO, V. Identification of the self-inhibitor and some germination characteristics rusts urediniospores. **Phytopathology**, St. Paul, v.64, p. 900-903, 1974.

GODOY, C. V., Bergamin Filho, A.,Salgado C.L. Doenças do cafeeiro. **Manual de Fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo:Ceres, v.2, 1997, p.185-189.

GUZZO, S.D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. Piracicaba, 2004, 236p., Escola Superior de Agronomia Luís de Queiros, Universidade de São Paulo, Tese, Doutorado.

HENNEN, J.F. & BURITICÁ, P.C. A brief summary of rust taxonomic and evolutionary theory. **Reptr Tottori Mycol**. Inst. Japan, 18: 243-256, 1980.

HENNEN, J.F.; HENNEN, M. M.; FIGUEIREDO, M.B. Índice das Ferrugens (Uredinales) do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo: v. 49 (Supl.), 20 p., 1982.

HENNEN, J.F. & FIGUEIREDO, M.B. - 1983. The Life Cycle of *Hemileia vastatrix*. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGENS DO CAFEEIRO, Oeiras, Portugal de 17 a 20 de outubro de 1983. p. 48-55. **Resumos**. Sumário das Comunicações, p. 7, 1983.

HENNEN, J. F.; FIGUEIREDO, M.B.; PIMENTEL, C.P.V.; RUSSOMANNO, O.M.R. The life cycle and taxonomy of *Puccinia pampeana* (Speg.) Lindq. on *Capsicum* spp. and other Solanaceae. **Rep. Tottori Mycol. Inst.**, 22:209-220, 1984.

HENNEN, J.F.; SUBRAHMANYAM.; FIGUEIREDO, M.B. The Taxonomy, life history, and evolution of *Puccinia arachidis* Speg. In: **Discussion Group Meeting on Groundnut Rust Disease**, 24-28, Spet. 1984. Proc. Patancheru, India, Internacional Crops Research Institute for the Semi-Ard Tropics, ICRISAT, p.145-155, 1987.

KATSUHIRO, A., KATSUYA, K. Occurrence of different races during axenic culture of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* race 45. **Ann. Phytopat. Soc. Jap.**, v. 51, p. 421-5, 1985.

KIRK, P.M., CANNON, P.F., DAVID, J.C. & STALPERS, J.A. **Dictionary of the Fungi**. 9 ed., CAB International, Wallingford, 2001, 655 p.

LAUNDON, G.F.; Waterston, J.M. *Puccinia helianthi*. **Commonwealth Mycological Institute – Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria**, London, n.55, 1965.

LINDQUIST, J.C. La roya del huevo de gallo (*Salpichroa origanifolia*) *Endophyllum pampeanum* Speg. nov. comb. y *Puccinia pampeana* Speg. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**. Buenos Aires, v.10, p.113-116, 1963.

LINDQUIST, J.C. **Royas de la Republica Argentina y zonas limítrofes**. Buenos Aires, Inst. Nac. Tecn. Agropec., 1982, 574p.

LOPEZ-FRANCO, R.M.; HENNEN, J.F. & FIGUEIREDO, M.B. Development and sporogeny of the biteleomorphic species *Puccinia pampeana* on *Capsicum* spp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília: v. 15, p. 68-72, 1990.

MACKO, V.; STAPLES, R.C.; RENWICK, J. A. Germination self-inhibitor of sun flower and snapdragon rust urediniospores. **Phytopathology**, St. Paul, v.61, p. 902, 1971a.

MACKO, V.; STAPLES, R.C.; ALLEN, P.J.; RENWICK, J.A. Identification of the self-inhibitor from wheat stem urediniospores. **Science**, v.173, p. 835-836, 1971b.

MACKO, V. STAPLES, R.C.; YANIV, A.; GRANADOS, R.R. Self-inhibitors and of fungal spore germination. In: Weber, P.J.; Hess, W.M.(ed). **The fungal spore**. New York, Academic Press, 1976, p. 73-100.

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

MARTINS, E.M.F., CARVALHO Jr., A.A., FIGUEIREDO, M.B. Obtenção de culturas axênicas esporulantes de *Melampsora epitea* Thüm, ferrugem do chorão (*Salix* sp), a partir de uredíniosporos puros. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo: v. 62 (Supl.), p. 58, 1995a.

MARTINS, E.M.F.; CARVALHO Jr., A.A. & FIGUEIREDO, M.B. Relação entre *Capsicum frutescens* e os micélios mono e dicarióticos de *Puccinia pampeana*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília: v. 20, p. 613-7, 1995b.

MARTINS, E.M.F., DE MARIA, A.C., STOCKER, G.G. & MORAES, W.B.C. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat-treatment. **Fitopatologia Brasileira**: v.11, p.899-909, 1986.

MUSUMECI, M.R., MORAES, W.B.C.; STAPLES, R.C. A self-inhibitor in uredíniosporos of coffee rust fungus. **Phytopathology**, St.Paul, v. 64, p. 71-73, 1974.

NAQVI, S.S.M. Plant growth promoter and inhibitors. In: PESSARAKLI, M. (ed.). **Handbook of plant and crop Physiology**. New York:Marcel Dekker Inc., 1994, 1004p.

PASCHOLATI, S.F. & LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. **Manual de Fitopatologia – Princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, v.1, 1997, p.417-453.

PASSADOR, M.M.; APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, M.B.; COUTINHO, L.N. Metodologia para estudos biológicos em uredinales. In: **15ª Reunião do Conselho Regional de Biologia**, Anais, p. 131-132, 2004.

PASSADOR, M. M.; FIGUEIREDO, M.B. Preservação de uredíniosporos de *Puccinia arachidis*. In: XXVIII Congresso Paulista de Fitopatologia. **Summa Phytopathologica (supl.)**, Botucatu: v. 31, p. 27, 2005.

PIERO, R. M. Di. **Potencial dos cogumelos *Lentinula edodes* (Shiitake) e *Agaricus blazei* (cogumelo-do-sol) no controle de doenças em plantas de pepino, maracujá e tomate, e a purificação parcial de compostos biologicamente ativos.** 2003. 171p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, 2003.

PICCININ, E.; DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na produtividade de sorgo e na severidade de doenças foliares no campo. **Fitopatologia Brasileira**, 2005, v.30, no.1, p.5-9.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Regulando o crescimento e o desenvolvimento: os hormônios vegetais.** In: Biologia vegetal. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1999, p.649-675.

REIFSCHNEIDER, F.J.B. (ORG.). ***Capsicum* – pimentas e pimentões no Brasil.** Embrapa comunicação para a transferência de Tecnologia, Brasília, 2000, 113p.

REIFSCHNEIDER, F.J.B. & RIBEIRO, S.C. **Sistema de produção de Pimentas (*Capsicum* spp.) – Introdução e importância econômica.** Embrapa, 2003. Disponível em <<http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/pimenta/index.htm>> Acesso em 21/06/2005.

SILVA, R. F.; MACIEL, S. Da C.; PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P.. Indução de resistência em plantas de berinjela à *Ralstonia solanacearum* por extratos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei*. In: XXIX Congresso Paulista de Fitopatologia, 2006, Botucatu-SP. **Summa Phytopathologica (supl.)**. Botucatu, 2006. v. 32. p. 45-45.

STAPLES, R. C.; MACKO, V. Germination of urediniospores and differentiation of infection structures. In: Bushnell, W.R.; Roelfs, A.P. (ed.). **The cereal rusts.** New York: Academic Press, v.1, 1984, p.255-289.

TAKADA, K. Breeding methods for disease-resistance of melon, and development of new lines with combined resistance. **JARQ**, vol.16, n.2, p.94-104, 1982.



TONUCCI, N. M.; PASCHOLATI, S. F. Frações de extratos aquosos de basidiocarpos de *Lentinula edodes* (Shiitake) inibem o crescimento in vitro de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e *Colletotrichum sublineolum*. In: XXVII Congresso Paulista de Fitopatologia, **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 30, 2004, p. 91-91.

WOLF, G. Physiology and Biochemistry of Spore Germination. In: Scott, K.J.; Chakravorty, A.K. (ed.). **The Rust Fungi**. Queensland: Academic Press, 1982, p.151-178.

ZAMBOLIM, L. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk et Br. e *Uromyces phaseoli* typica Arth. Viçosa, 1973, 52p, Universidade Federal de Viçosa, Dissertação (Mestrado). Disponível em <<http://www.sbicafe.ufv.br>> Acesso em 12/04/2005.