

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

**ESTUDOS ECOLÓGICOS SOBRE *Puccinia psidii* WINTER –  
FERRUGEM DAS MIRTÁCEAS**

**CHRISTIANE CERIANI APARECIDO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração em Proteção de Plantas.

BOTUCATU - SP  
Junho/2001

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

**ESTUDOS ECOLÓGICOS SOBRE *Puccinia psidii* WINTER –  
FERRUGEM DAS MIRTÁCEAS**

**Bióloga CHRISTIANE CERIANI APARECIDO**

**Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Furtado**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração em Proteção de Plantas.

BOTUCATU - SP

Junho/2001

## SUMÁRIO

	Página
Resumo .....	1
Summary.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1. Capacidade de produção de basidiosporos pelos teliosporos de <i>Puccinia psidii</i> submetidos a diferentes temperaturas.....	20
3.2. Avaliação da porcentagem de germinação de uredíniosporos de <i>P. psidii</i> , com idades distintas , submetidos a diferentes temperaturas e coletados de jambeiro e goiabeira.....	21
3.3. Influência da temperatura sobre <i>P. psidii</i> – infecção e produção de teliosporos.....	22
3.4 Cultura axênica de <i>P. psidii</i> a partir de uredíniosporos.....	23
3.5 Inoculações cruzadas.....	25
3.6 Evolução dos sintomas de <i>P. psidii</i> em diferentes espécies de mirtáceas .....	28

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
4.1. Capacidade de produção de basidiosporos pelos teliosporos de <i>Puccinia psidii</i> submetidos a diferentes temperaturas.....	29
4.2. Avaliação da porcentagem de germinação de urediniospóros de <i>P. psidii</i> , com idades distintas , submetidos a diferentes temperaturas e coletados de jambeiro e goiabeira.....	32
4.3. Influência da temperatura sobre <i>P. psidii</i> – infecção e produção de teliosporos.....	38
4.4 Cultura axênica de <i>P. psidii</i> a partir de urediniosporos.....	39
4.5 Inoculações cruzadas.....	40
4.6 Evolução dos sintomas de <i>P. psidii</i> em diferentes espécies de mirtáceas.....	47
5. CONCLUSÕES.....	52
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

## RESUMO

Com o objetivo de se estudar aspectos da biologia de *Puccinia psidii* foram avaliadas a virulência em plantas diferenciadoras através de inoculações cruzadas, as temperaturas propícias à infecção dos hospedeiros, formação de soros teliais, produção de basidiosporos e germinação de urediniosporos com idades distintas e coletados de diferentes hospedeiros.

Pôde-se constatar que temperaturas amenas favoreceram todo o ciclo vital do patógeno uma vez que, quando as mesmas variaram de 15<sup>o</sup> a 23<sup>o</sup>C beneficiaram a infecção, induziram à elevada produção de soros teliais e basidiosporos, além de beneficiar a germinação de urediniosporos. Com relação aos urediniosporos, também pôde-se verificar que a idade dessas estruturas tem papel fundamental no aumento da porcentagem de germinação: urediniosporos com 14 dias, coletados de jambeiro e submetidos a 21<sup>o</sup>C, apresentaram cerca de 37% de germinação, enquanto que para as estruturas com 21 dias, provenientes de goiabeira e expostas a 15<sup>o</sup>C foi registrada porcentagem de germinação em torno de 35%, taxas consideradas bastante elevadas. Além disso, observando os dados anteriores, dependendo do hospedeiro do qual são coletados, podem haver diferenças fisiológicas que resultam em comportamento diferencial frente a temperatura a qual são expostos. A existência de variabilidade fisiológica dentro de populações de *P. psidii* foi constatada por meio de inoculações cruzadas. Foram obtidos quatro grupos devido à compatibilidade das reações, sendo que a principal diferença foi observada na intensidade das interações.

Foram realizadas tentativas para a obtenção de culturas axênicas do microrganismo, porém os resultados foram negativos.

Observações da evolução da ferrugem em campo, durante os anos de 1999 e 2000, permitiram verificar a ocorrência dos maiores picos em fevereiro (goiabeira), em março (*Eucalyptus cloeziana*) e em abril (jambeiro, *E. botryodes*, *E. urophylla* e *E. grandis* - procedências Itatinga e Anhembi). É importante ressaltar que 1999 foi o ano durante o qual foram observados os ataques mais severos. Durante 2000, sobre as espécies de eucalipto, a doença foi ausente. Estas observações são importantes, uma vez que possibilitam comprovar, em campo, a influência favorável das condições ambientais no desenvolvimento da doença provocada por *Puccinia psidii*.

**ECOLOGICAL STUDIES OF *Puccinia psidii* WINTER – MYRTACEAE RUST.  
Botucatu, 2001. 66p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) –  
Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.**

Author: CHRISTIANE CERIANI APARECIDO

Adviser: EDSON LUIZ FURTADO

**SUMMARY**

Concerning the studies of *Puccinia psidii* (Myrtaceae rust) biology were appraised the pathogenicity in differentiating plants, the most favorable temperatures to the infection of the hosts, formation of telial sori, basidiospores production and urediniospores germination with different ages and collected from different hosts.

It could be verified that mild temperatures favored the whole vital cycle of the pathogen once, when the same ones varied from 15<sup>0</sup> to 23<sup>0</sup>C benefited the infection, induced to the telial sori formation and high basidiospore production. Besides increased the urediniospores germination. Regarding the urediniospores, it could also be verified that the age of those structures have fundamental paper in the percentage germination increase: urediniospores with 14 days, collected from apple rose (jambos) and submitted to 21<sup>0</sup>C, presented about 37% of germination. For the structures with 21 days, coming from guava plants and exposed to 15<sup>0</sup>C was registered germination percentage around 35%. Both taxes are considered quite high. Beyond, remarking the previous data,

depending on the host which urediniospores are collected can have physiologic differences that result in distinct behavior at the temperature which they are exposed. The existence of physiologic variability inside *Puccinia psidii* populations was verified through crossed inoculations. Were obtained four groups due to the compatibility reactions, and the main difference was observed in the interactions severity of the disease.

Attempts were accomplished for obtaining the rust axenic cultures, however the results were negative.

Evolution observations of the rust in field, during the years of 1999 and 2000, allowed to verify the largest picks of occurrence in February (guava plants), in March (*Eucalyptus cloeziana*) and in April (apple rose, *E. urophila*, *E. botryodes* and *E. grandis* from Itatinga and Anhembi). It is important to emphasize that 1999 was the year during which the most severe occurrence were observed. During 2000, concerning the *Eucalyptus* species, the disease was absent. These observations are important, once they make possible to prove, in field conditions, the favorable performance of the environmental conditions in the disease development caused by *Puccinia psidii*.

---

Keywords: Ecology, *Puccinia psidii*, Myrtaceae rust



## 1. INTRODUÇÃO

Recebem o nome de ferrugens as doenças fúngicas causadas por basidiomicetos pertencentes à Ordem Uredinales. Tais microrganismos são ditos, atualmente, parasitos ecologicamente obrigados uma vez que algumas poucas espécies puderam ser mantidas em laboratório graças ao desenvolvimento de culturas axênicas (CUTTER JR., 1959; COFFEY, 1975; KATSUHIRO & KATSUYA, 1985; MARTINS et al., 1995). Os fungos representantes da Ordem Uredinales apresentam alta especificidade em relação a seus hospedeiros, sendo capazes de infectar um grande número de plantas vasculares, cultivadas ou silvestres. Determinadas famílias botânicas, como Polypodiaceae, Malpighiaceae, Euphorbiaceae, Leguminosae, Pinaceae, Gramineae e Asteraceae são, particularmente ricas em hospedeiros para numerosos gêneros e espécies de ferrugens (CUMMINS, 1959, 1978; CUMMINS & HIRATSUKA, 1983). Várias espécies

consideradas como de distribuição mundial infectam plantas cultivadas, causando prejuízos significativos à agricultura. A literatura cita mais de 150 espécies de ferrugens como importantes ou, potencialmente importantes para a agricultura na América do Sul (SCOTT & MACLEAN, 1969). Como exemplo podem ser citadas as ferrugens: do café (*Hemileia vastarix*), feijão (*Uromyces appendiculatus*), cana-de-açúcar (*Puccinia melanocephala*), pimenta e pimentão (*Puccinia pampeana*), trigo (*Puccinia graminis tritici*), plantas florestais e fruteiras mirtáceas (*Puccinia psidii*), etc.

Apesar da importância destes fitopatógenos, certas particularidades de sua biologia 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. Como resultado destas dificuldades, dados básicos à cerca da biologia desses microrganismos são escassos na literatura nacional e internacional, dificultando o manejo das doenças por eles provocadas.

Uma importante particularidade das ferrugens é o pleomorfismo que torna seus ciclos vitais, muitas vezes, complicados e confusos. Isto porque uma mesma espécie pode apresentar até cinco tipos de esporos diferentes ou, mais raramente, até seis como é o caso de *Puccinia vexans*. Cada esporo é produzido por uma estrutura diferente, sendo que a manifestação de cada uma ocorre em diferentes épocas do ano. Outra particularidade das ferrugens é que algumas espécies, chamadas heteroécias, necessitam de dois hospedeiros não relacionados entre si para que seus ciclos vitais sejam completados, enquanto que outras espécies, as autoécias, são capazes de completar seu ciclo vital em um único hospedeiro. Em um grande número de ferrugens, a morfologia das estruturas esporíferas (soros) e esporos não coincide com as funções normalmente desempenhadas no

ciclo vital das espécies mais bem estudadas. Como resultado de todas estas particularidades, os agentes causais das ferrugens estão entre os microrganismos de ciclo biológico mais complexo (CUMMINS, 1959; CUMMINS & HIRATSUKA, 1983).

Com relação às características gerais das ferrugens, estas apresentam micélio que pode ser, inicialmente uninucleado e, depois binucleado. O micélio, dito endobiótico, extrai os nutrientes do hospedeiro por meio de haustórios, bastante variáveis em forma e tamanho, porém constantes para cada espécie. Apresentam até cinco tipos de esporos: espermácias, eciosporos, uredíniosporos, teliosporos e basídiosporos, os quais são produzidos respectivamente nas seguintes estruturas: espermogônios, écios, uredínios, télíos e basídios. Mais raramente, pode haver um sexto tipo de esporo, o anfisporo que é morfológicamente e fisiologicamente semelhante a um uredíniosporo porém, com paredes muito mais espessadas sendo, por este motivo, considerado estrutura de resistência.

Grande parte do conhecimento que temos hoje sobre as ferrugens em geral está baseado no que se sabe sobre as espécies exóticas e de clima temperado, em sua maioria provenientes das regiões temperadas do Hemisfério Norte, como por exemplo *Puccinia graminis* (ferrugem do trigo), *Tranzschelia pruni-spinosa* (ferrugem do pessegueiro), *Uromyces appendiculatus* (ferrugem do feijão), etc. Disto resulta que, de uma maneira bastante generalizada, os fitopatologistas tentam extrapolar os conhecimentos existentes sobre essas ferrugens para outras espécies que nada têm a ver com elas. Como resultado ocorrem falhas de interpretação e, conseqüentemente o insucesso dos métodos de controle empregados. Mesmo os ciclos vitais das ferrugens verdadeiramente tropicais permanecem desconhecidos. É o caso, r exemplo, das ferrugens do café (*Hemileia vastatrix*), milho (*Puccinia polysora* e *Phakopsora zae*), soja (*Phakopsora pachyrizi* e *P.*

*meibomiae*), do amendoim (*Puccinia arachidis*), das mirtáceas (*Puccinia psidii* – ciclo vital parcialmente esclarecido) e de muitas outras plantas cultivadas.

Diante do exposto, em decorrência da habilidade que têm as ferrugens de enfrentar condições ambientais adversas, pode-se perceber a considerável importância das Uredinales no que se refere aos significativos prejuízos que podem causar à agricultura.

Portanto, este estudo teve por objetivos: 1)- verificar as temperaturas mais adequadas à infecção, ao aparecimento dos soros teliais e à capacidade de produção e dispersão de basídiosporos; 2)- comparar as porcentagens de germinação de uredíniosporos com idades distintas, submetidos a diferentes temperaturas e coletados de folhas de jameiro e de goiabeira; 3)- realizar estudos para a possível obtenção de culturas axênicas de *P. psidii* a partir de uredíniosporos semeados em meios com diferentes pHs e mantidos a temperaturas distintas; 4)- determinar, através de inoculações cruzadas, da existência de especializações fisiológicas dentro da espécie *Puccinia psidii*, em relação a uredíniosporos obtidos de diferentes hospedeiros.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Estudos realizados no Brasil permitiram estimar a existência de, pelo menos, 3000 espécies de ferrugens no País (HENNEN et al., 1982). Destas, cerca de apenas 800 são conhecidas, sendo que muito pouco se sabe sobre a biologia e ciclos vitais destes importantes patógenos, como resultado da dificuldade de cultivá-los em laboratório.

Porém, a partir de 1950, com o desenvolvimento de trabalhos relacionados a meios de cultura enriquecidos, extratos vegetais e compostos suplementares de crescimento, informações importantes sobre os fatores responsáveis pelo parasitismo obrigatório das Uredinales foram obtidos (CUTTER JR., 1959). Como resultado de tais estudos, certas espécies de alguns gêneros de Uredinales de importância fitopatogênica, como por exemplo: *Gymnosporangium*, *Puccinia*, *Melampsora*, *Uromyces*, *Cronartium*, *Pucciniastrum*, *Endocronartium*, *Peridermium* e *Phragmidium* puderam ser cultivados

axenicamente (HOTSON & CUTTER JR., 1951; CUTTER JR., 1959; WILLIAMS et al., 1966; MACLEAN, 1982; YAMAOKA & KATSUYA, 1984a, 1984b, 1984c; 1987; PEI & GIBBS, 1992; MORICCA & RAGAZZI, 1996; CARVALHO JR. et al., 1998).

As culturas axênicas facilitam muitos estudos, uma vez que torna-se desnecessária a constante inoculação de grande quantidade de hospedeiros para a manutenção do patógeno durante a realização das pesquisas.

É importante ressaltar que, além das diferenças morfológicas, também existem diferenças fisiológicas entre as ferrugens, sendo tais diferenças resultantes da ação de fatores ambientais sobre as espécies. Assim, muitas ferrugens encontradas em regiões de clima temperado ou tropical possuem as paredes de seus teliosporos extremamente espessas e com elevada concentração de substâncias auto-inibidoras da germinação.

Desta forma, os esporos permanecem em dormência durante os períodos de temperaturas extremas. Estas substâncias auto-inibidoras também possibilitam a sobrevivência do esporo na ausência do hospedeiro, porque induzem à germinação aleatória dessas estruturas (FIGUEIREDO & CARVALHO JR., 1994, 1995).

Através de ensaios realizados em laboratório pôde-se observar que tais substâncias podiam ser removidas por meio de lavagens diárias, possibilitando a germinação dos teliosporos e resultando em liberações consecutivas de basidiosporos (FIGUEIREDO & CARVALHO JR., 1994, FIGUEIREDO & COUTINHO, 1994). As ferrugens de regiões tropicais e subtropicais também apresentam dormência nas épocas de temperaturas extremas de verão.

Existem, ainda, as ferrugens denominadas leptofomas que não

apresentam dormência e, cujos esporos germinam logo após a maturação. Este é o caso de *Hemileia vastatrix*. Com relação às ferrugens das Américas Tropicais, muito pouco se conhece à respeito da biologia, ciclos vitais e taxonomia destas espécies.

Dentre as doenças de importância econômica causadas pelas Uredinales, encontra-se a ferrugem das mirtáceas, que infecta plantas florestais e frutíferas nativas do Brasil, como por exemplo araçazeiro, cambucazeiro, goiabeira, jabuticabeira e, também espécies introduzidas como jambeiro e certas espécies de eucalipto (JOFFILY, 1944; SILVEIRA, 1951; GALLI, 1980; SOUZA, 1985; FERREIRA, 1989). No país esta doença constitui um sério problema principalmente devido às condições ambientais (GALLI, 1980; PIZA & RIBEIRO, 1988).

A ferrugem das mirtáceas é causada pelo fungo *Puccinia psidii* Winter, cuja primeira constatação sobre eucalipto, no Brasil, foi realizada por JOFFILY (1944) há mais de 50 anos. O pesquisador observou a presença de urediniosporos sobre folhas de mudas de *Eucalyptus citriodora*. Sabe-se que *P. psidii* é natural da América do Sul (WINTER, *Hedwigia*, 24: 171, 1884), tendo como localidade do Tipo o município de São Francisco do Sul, estado de Santa Catarina, embora já tenha sido observado na Argentina, Uruguai, Colômbia, Jamaica e, também, no Sul da Flórida (MACLACHLAN, 1938; JOFFILY, 1944; MARLATT & KIMBROUGH, 1979; CASTRO et al., 1983). Segundo SPEGAZZINI (1925) e MARLATT & KIMBROUGH (1979), nas Américas, a doença ocorre desde o Sul dos Estados Unidos até a Argentina (Figura 01).

Figura 01 – Distribuição geográfica de *Puccinia psidii* nas Américas (COELHO, 1988).



A infecção ocorre no início das brotações do hospedeiro, com o patógeno atacando tecidos jovens como folhas, inflorescências e gemas, sendo observado



tanto em plantas adultas no campo, como em mudas na fase de viveiro (SILVEIRA, 1951; GALLI, 1980; SOUZA, 1985; FERREIRA, 1989). Segundo MORAES et al. (1982), em condições de campo, *P. psidii* prejudica o desenvolvimento das plantas, levando à redução da altura e causando a morte dos hospedeiros mais suscetíveis.

Com relação às mirtáceas frutíferas cultivadas economicamente, como por exemplo, a goiabeira, o patógeno causa enormes prejuízos, levando a perdas que oscilam entre 40 a 100% da produção, dependendo do nível da doença (SILVEIRA, 1951; GALLI, 1980). Também podem ser infectados os frutos jovens sendo que, ao serem atacados, acabam por mumificar, adquirindo coloração negra e consistência coriácea (SILVEIRA, 1951). Os frutos remanescentes podem apresentar manchas necróticas que se constituem como porta de entrada para vários outros microrganismos que causam a podridão dos mesmos ou, ainda conferem mau aspecto a esses frutos, tornando-os sem valor comercial (GALLI, 1980; SOUZA, 1985). De abril a maio de 1997, SILVEIRA et al. (1997) constataram uma perda de 70% na produção de frutos no Norte Fluminense, em decorrência da ferrugem. Quando as lesões se localizam sobre o pecíolo, tecidos tenros do caule e gêmula terminal, toda a planta ou apenas a parte superior pode vir a morrer (JOFFILY, 1944; SILVEIRA, 1951). Outra mirtácea frutífera que tem sido infectada recentemente é o araçá-boi (*Eugenia stipitata*), espécie natural da Amazônia Ocidental (SANTOS et al., 1993). Seus frutos apresentam grande potencial para a agroindústria, uma vez que podem ser utilizados na forma de suco ou sorvete (SANTOS et al., 1993; JUNQUEIRA et al., 1997). Porém, os severos ataques do patógeno têm provocado a perda total da produção (JUNQUEIRA et al., 1997).

Com relação ao eucalipto, a ferrugem causada por *P. psidii* é,

atualmente, uma doença muito comum e severa em plantações de procedências muito suscetíveis e com menos de dois anos de idade ou, até o estágio fenológico B (FERREIRA, 1989; DEMUNER & ALFENAS, 1991). Em tecidos jovens, o patógeno pode causar a morte de terminais de galhos e da haste principal, podendo tornar-se ainda mais importante após o corte raso, quando passa a atingir as brotações recém-emitidas dos troncos, levando inúmeras delas a morte, definhamento ou malformações (JOFFILY, 1944; FERREIRA, 1989; RUIZ et al., 1989c). Quando ocorrem malformações, o hospedeiro se torna impróprio para o plantio em local definitivo.

Em 1973 ocorreu, na costa do Espírito Santo, a primeira constatação de danos preocupantes num viveiro de *Eucalyptus grandis*, procedente da África do Sul (FERREIRA, 1989). Como resultado dessa infecção mais de 400 mil mudas foram perdidas (FERREIRA, 1981). A partir de 1974 até 1979, novos ataques foram registrados no Vale do Rio Doce, Zona da Mata de Minas Gerais, Nordeste do Espírito Santo e Sudeste da Bahia (FERREIRA, 1981, 1989; FERREIRA & SILVA, 1982). Embora fossem bastante severos, esses ataques ocorriam esporadicamente, atingindo viveiros e plantações de *E. grandis*, procedentes da África do Sul e Zimbábue, *E. phaeotricha*, *E. citriodora* e *E. cloënziana* (FERREIRA, 1981).

Em 1980 ocorreram novos registros, porém mais severos que os anteriores nos locais já citados, sendo que no Vale do Rio Doce – MG, mais de 300 hectares de *E. grandis* com seis meses de idade, de procedência da África do Sul, foram varridos pela doença (FERREIRA, 1981). A partir de 1991, começaram a ser registrados os primeiros surtos da ferrugem em áreas de reforma florestal, na região do Vale do Paraíba, sendo que desde 1996 a doença tem se manifestado, nessa região, de forma generalizada

(TAKAHASHI et al., 1997a).

DEMUNER & ALFENAS (1991) verificaram que as espécies de *Eucalyptus* mais suscetíveis à *P. psidii* são: *E. grandis* W. Hill ex Maiden, *E. pellita* F. Muell, *E. phaeotricha* Blakely et Mckie e *E. cloeziana* F. Muell. Com relação a esta última espécie, os mesmos autores relataram que em 1986 cerca de 122 hectares foram quase que totalmente dizimados pelo patógeno na região de Teixeira Freitas, BA, resultando numa perda de cerca de U\$73.200,00 (DEMUNER & ALFENAS, 1991). De acordo com dados literários *E. cloeziana* é uma espécie com grande potencialidade para reflorestamento no Sudeste da Bahia devido ao rápido crescimento e à alta densidade de sua madeira (DEMUNER & ALFENAS, 1991). Porém, como resultado da elevada suscetibilidade dessa espécie, seu plantio no Sudeste da Bahia tem sido limitado devido aos ataques de *P. psidii* (RUIZ et al., 1989c; DEMUNER & ALFENAS, 1991). FERREIRA & SILVA (1982) e CASTRO & KRÜGNER (1984) já haviam observado a existência de diferenças na suscetibilidade entre as espécies de *Eucalyptus* e entre as procedências de uma mesma espécie. Por este motivo é extremamente necessário o conhecimento prévio da suscetibilidade das espécies e procedências a fim de que seja evitado o plantio, em larga escala, de árvores muito suscetíveis como *E. grandis*, procedente da África do Sul.

Conforme já mencionado anteriormente, *P. psidii* infecta tecidos jovens como folíolos, inflorescências, gemas e frutos novos (SILVEIRA, 1951; GALLI, 1980; SOUZA, 1985; FERREIRA, 1989; RUIZ et al., 1989c). Nas folhas, as pústulas são observadas, principalmente, na face abaxial. No início, as lesões apresentam-se separadas porém, quando a suscetibilidade do hospedeiro é elevada, estas lesões podem coalescer e, nos casos mais graves, tomar toda a folha, resultando na deformação do limbo foliar,

secamento e morte do órgão (SILVEIRA, 1951).

Com relação à disseminação das estruturas infectivas, esta se dá pela ação dos ventos, das chuvas, insetos e pássaros. Porém, para que a infecção ocorra devem existir tecidos novos em desenvolvimento e, também condições ambientais favoráveis. A existência de tecidos novos está relacionada à fenologia do hospedeiro, conforme já havia observado FERREIRA (1989) e, as condições ambientais favoráveis referem-se a temperaturas amenas e umidade relativa bastante elevada (GALLI, 1980; RUIZ et al., 1989b). Essas condições são importantes para o desenvolvimento da doença porque atuam sobre: o patógeno, possibilitando a propagação e germinação de suas estruturas infectivas, a fenologia do hospedeiro e, conseqüentemente sobre a interação patógeno x hospedeiro (PIZA & RIBEIRO, 1988). Conforme relatam RUIZ et al (1989a, 1989b, 1989c) e CARVALHO et al. (1991), surtos da ferrugem do eucalipto no campo são, provavelmente, influenciados pela temperatura e umidade relativa, isto porque através de experimentações, observaram que plantas inoculadas artificialmente e submetidas a temperaturas entre 20<sup>o</sup> e 25<sup>o</sup>C e longo tempo de molhamento de suas folhas, apresentavam grande quantidade de soros nos órgãos infectados. Ensaio realizados em laboratório permitiram verificar que temperaturas variando entre: 18<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup>C são as melhores para a germinação dos uredíniosporos, 22<sup>o</sup> e 24,5<sup>o</sup>C são as mais propícias para a produção de grandes quantidades de soros urediniais e, acima de 25<sup>o</sup>C impossibilitam a infecção devido ao efeito deletério sobre as estruturas infectivas (CASTRO, 1983; COUTINHO & FIGUEIREDO, 1984b; PIZA & RIBEIRO, 1988; FERREIRA, 1989; RUIZ et al., 1989a, 1989b).

Observa-se, portanto que o ataque de *P. psidii* depende de condições ambientais favoráveis associadas à fenologia do hospedeiro. Devido a tais dependências, o

patógeno deve possuir mecanismos de sobrevivência altamente eficientes, uma vez que ambas as condições não ocorrem, ao mesmo tempo, em qualquer época do ano. Nas Uredinales, não havendo condições favoráveis, ocorre a formação de estruturas denominadas teliosporos, que possibilitam a sobrevivência do patógeno. Estas estruturas apresentam, ainda, em suas paredes substâncias auto-inibidoras da germinação que possibilitam a sobrevivência do esporo na ausência do hospedeiro, porque impedem que ocorra a germinação de todos os esporos ao mesmo tempo (FIGUEIREDO & CARVALHO JR., 1994, 1995). Tais substâncias podem ser removidas pela água das chuvas ou irrigação. Como resultado dessas “estratégias” de sobrevivência, a infecção primária pode ocorrer assim que as condições tornam-se favoráveis, devido liberação dos basidiosporos infectivos produzidos em decorrência da germinação dos teliosporos, dando continuidade à disseminação da doença (FERREIRA, 1983). Ensaios realizados, em laboratório, com o uso de um aparato denominado germinatélio permitiram verificar que cada soro telial de *P. psidii* é capaz de produzir duas a três quedas consecutivas de basidiosporos, sendo que a cada queda podem ser liberados, em média, 400 a 600 basidiosporos/mm<sup>2</sup> de área soral (FIGUEIREDO & COUTINHO, 1994).

Sendo *P. psidii* a mais importante representante da Ordem Uredinales descrita sobre a Família Myrtaceae, no Brasil, pesquisas bastante antigas, realizadas por meio de inoculações cruzadas, como as de MACLACHLAN (1938), sugerem que exista certa variabilidade fisiológica dentro da espécie. JOFFILY (1944) também sugeriu a existência de especializações fisiológicas, isto porque o patógeno passou a parasitar o gênero *Eucalyptus*, proveniente da Austrália, com o início de seu cultivo no Brasil. Na Austrália a ferrugem causada por *P. psidii* é desconhecida. Embora sejam

poucas as referências a respeito das especializações fisiológicas de *P. psidii*, FERREIRA (1981), CASTRO et al. (1983), COUTINHO & FIGUEIREDO (1984a), CASTRO & KRÜGNER (1984) e COELHO (1988) obtiveram resultados que indicam a existência de tais especializações. CASTRO et al (1983) verificaram que *P. psidii* obtido de goiabeira não infecta o eucalipto; FERREIRA (1981) confirmou o resultado obtido por CASTRO et al (1983) e, também observou que *P. psidii* proveniente do jambo é capaz de infectar o eucalipto. COUTINHO & FIGUEIREDO (1984a) observaram a existência de, pelo menos cinco tipos de especializações fisiológicas dentro da espécie, em relação a seis gêneros de hospedeiros pertencentes à Família Myrtaceae. COELHO (1988), inoculando 13 isolados urediniosporicos de *P. psidii*, obtidos de diferentes hospedeiros, em goiabeira, jambeiro, *Myrcia itambensis* e diferentes espécies de *Eucalyptus*, obtiveram como resultado três grupos de especializações fisiológicas: Grupo 1, que infecta eucalipto e jambeiro, Grupo 2, que ataca eucalipto e goiabeira e, Grupo 3 que provoca infecção apenas em goiabeira. Segundo os mesmos autores, a única diferença observada entre os grupos foi a produção de maior ou menor quantidade de soros por unidade de área foliar (COELHO, 1988). CASTRO & KRÜGNER (1984) e CASTRO et al. (1984), também por meio de inoculações cruzadas, observaram que nem todos os isolados de *P. psidii* utilizados em seus estudos eram capazes de infectar ou produzir pústulas em determinadas procedências de *Eucalyptus*. Em algumas das procedências ocorria, apenas, reação de hipersensibilidade, enquanto que em outras, severa infecção.

Em outros patógenos causadores de importantes doenças, como por exemplo *Microcyclus ulei*, agente causal do mal-das-folhas da seringueira, *Tranzschelia discolor*, agente causal da ferrugem do pessegueiro, *Uromyces appendiculatus* var.

*appendiculatus*, agente causal da ferrugem do feijoeiro, tal variabilidade fisiológica já foi detectada (JUNQUEIRA et al., 1984; RODRIGUES Jr., 1984; MARTINS & AMORIM, 1997).

Com relação ao controle da doença, nos cultivos de goiaba, este é realizado, basicamente, através do uso de fungicidas preventivos e curativos, associados a outras medidas auxiliares, como poda drástica e escalonada dos ramos (GALLI, 1980; SOUZA, 1985; DARIO et al., 1995; SILVEIRA et al., 1997). Porém, quando a poda é realizada nos meses mais quentes do ano, ocorre a escaldadura dos ramos como resultado da exposição direta à radiação solar. Já, em eucaliptais, embora também seja efetuado o controle químico, o plantio de variedades resistentes tem merecido especial atenção, devido à inviabilidade econômica do tratamento em campo e, também ao registro de fitotoxicidade de alguns fungicidas eficientes (captafol e propiconazole) a *E. grandis* (FERREIRA, 1981; FERREIRA & SILVA, 1982; CASTRO, 1983; RUIZ et al., 1987, RUIZ & ALFENAS, 1989; TAKAHASHI et al., 1997a, 1997b, 1997c; VALLE et al., 1997).

Porém, devido a atual preocupação com as questões ambientais, métodos alternativos de controle têm sido estudados, apresentando, sob condições controladas, resultados positivos. O controle biológico tem merecido especial atenção e, sua utilização associada ao plantio de variedades resistentes pode ser uma alternativa promissora ao manejo da ferrugem. Para o controle biológico, estudos relatam a utilização de *Bacillus subtilis*, devido à produção de metabólitos antagônicos, e *Fusarium decemcellulare* que apresenta ação hiperparasitária sobre as estruturas esporíferas de *P. psidii*. Em ambos os casos a ação ocorre sobre os uredíniosporos do patógeno (AMORIN et al., 1993; WICHMANN & BETTIOL, 1994; SANTOS et al., 1998).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1)- Capacidade de produção de basidiosporos pelos teliosporos de *Puccinia psidii* submetidos a diferentes temperaturas:

Soros teliais de *Puccinia psidii* foram coletados de folhas de jambo (*Syzygium jambos*), juntamente com pequena porção de substrato, através do picotamento e retirada de uma pequena porção do tecido foliar. Os soros tiveram seu diâmetro medido para cálculo da área através da fórmula  $A=\pi R^2$ , cujo valor médio correspondeu a 0,049 mm<sup>2</sup>. Após as medições, o material coletado foi transferido para germinatélios (FIGUEIREDO & COUTINHO, 1984), colocados no interior de placas de vidro, denominadas cristalizadores, com as seguintes dimensões: 20cm de diâmetro por 4cm de altura. Tais placas eram forradas com disco de espuma de nylon umedecido com água destilada e, mantidas a 12<sup>o</sup>, 15<sup>o</sup>, 18<sup>o</sup>,



21<sup>o</sup> e 24<sup>o</sup>C. Sobre os soros teliais, diariamente, foi gotejada água destilada com o auxílio de uma pipeta do tipo Pasteur para que substâncias auto-inibidoras da germinação, presentes nas paredes dos teliosporos, fossem removidas. Para isso a pequena porção de algodão sobre a qual foram assentados os teliosporos foi colocada sobre uma folha de papel de filtro absorvente. Após a secagem, as porções de algodão contendo os teliosporos eram reumidificadas com água destilada estéril.

Os basidiosporos produzidos foram coletados em discos de ágar-água recortados de placas de Petri e substituídos diariamente após a verificação, sob microscópio de luz, da presença de basidiosporos. Para cada tratamento, foram feitas seis repetições.

Para avaliação dos experimentos, o número de quedas foi anotado e, também foram efetuadas contagens, com o auxílio de um contapasso manual, do número de basidiosporos liberados, para que fosse determinada a capacidade média de produção. Com o objetivo de facilitar a contagem, era realizado o quadriculamento dos discos de ágar-água com o auxílio de um conjunto de lâminas, de forma que a superfície desses discos ficasse semelhante a uma câmara de Neubauer.

### **3.2)- Germinação de urediniosporos de *P. psidii*, com idades distintas, submetidos a diferentes temperaturas e coletados de jambeiro e goiabeira:**

Urediniosporos de *P. psidii* com 10, 14, 21, 28 e 34 dias de idade, provenientes de plantas de jambo e de goiabeira, experimentalmente infectadas, foram

coletados com o auxílio de um pincel e espalhados, separadamente, sobre discos de ágar-água (15 g/L) colocados sobre lâminas de vidro planas.

As lâminas foram dispostas no interior de cristalizadores forrados com um disco de espuma de nylon umedecido com água destilada. Os cristalizadores permaneceram no escuro, a 12<sup>o</sup>, 15<sup>o</sup>, 18<sup>o</sup>, 21<sup>o</sup> e 24<sup>o</sup>C. Para cada tratamento (idade x temperatura) foram feitas seis repetições, utilizando-se uredíniosporos de cada um dos diferentes hospedeiros (jambeiro e goiabeira).

A leitura foi realizada cinco horas após a montagem dos experimentos, sob microscópio de luz, contando-se trezentos esporos de cada repetição e verificando-se a porcentagem média de germinação. Para que a contagem fosse facilitada, era realizado o quadriculamento dos discos de ágar-água com o auxílio de um conjunto de lâminas, de forma que a superfície dos discos de ágar-água ficasse semelhante a uma câmara de Neubauer.

### **3.3)– Influência da temperatura sobre *P. psidii* na infecção e produção de teliosporos:**

Para o estudo da temperatura mais propícia à infecção, uma suspensão de uredíniosporos foi aspergida sobre ambas as faces das folhas de 12 plantas de jambo. Após a inoculação, as plantas foram divididas em dois grupos: A, mantido em câmara úmida, no escuro e a 19<sup>o</sup>C e B, também mantido sob câmara úmida, no escuro, porém a 33<sup>o</sup>C. Ambos os valores referentes a temperatura média em cada situação. Após 12

horas, a câmara úmida de ambos os grupos foi removida. A avaliação foi realizada observando-se a manifestação dos sintomas da doença e, anotando-se também o tempo decorrido desde a inoculação até o surgimento dos primeiros sinais.

Para verificar a temperatura mais adequada à formação de teliosporos, durante seis semanas consecutivas, duas plantas de jambo foram inoculadas por meio da aspersão de uma suspensão de uredíniosporos, na concentração de  $10^4$  uredíniosporos.mL<sup>-1</sup>, em ambas as faces das folhas jovens. Após as inoculações, as plantas foram cobertas com sacos plásticos umedecidos, permanecendo durante 12 horas no escuro, à 21°C. Passado esse período, a câmara úmida foi removida e as plantas mantidas em laboratório, à temperatura ambiente. Dez dias após as inoculações, ocorrendo o rompimento total das pústulas e a exposição total dos uredíniosporos, uma das plantas foi mantida no laboratório, permanecendo o aparelho de ar condicionado constantemente ligado, enquanto que a outra planta foi mantida em casa de vegetação. Para cada tratamento foram inoculadas seis plantas, permanecendo todas sob iluminação natural.

O experimento foi avaliado anotando-se diariamente as temperaturas mínima e máxima no laboratório e na casa de vegetação, até que os soros uredíniais fossem quase que totalmente substituídos por teliosporos. Ao final da avaliação, foram calculadas as médias mínima e máxima ocorridas no laboratório e na casa de vegetação.

#### **3.4)- Cultura axênica de *P. psidii* a partir de uredíniosporos:**

Uredíniosporos de *Puccinia psidii*, obtidos de folhas de jambo de foram multiplicados em seu respectivo hospedeiro, coletados e preservados em nitrogênio

líquido. Imediatamente antes de serem utilizados, os uredíniosporos foram submetidos a um choque de temperatura a 40<sup>0</sup>C, por 10 minutos e suspensos em água destilada estéril. Posteriormente, mudas de jambo foram inoculadas pela aspersão de uma suspensão de uredíniosporos em ambas as superfícies das folhas. As plantas inoculadas foram incubadas por 12 horas no escuro, em câmara úmida a 21<sup>0</sup>C e, posteriormente mantidas sob iluminação natural e temperatura ambiente, no laboratório. Seis dias após a inoculação, as folhas foram destacadas, submersas em uma solução a 2% de hipoclorito de sódio e 1% de Tween 20 e mantidas sob agitação por três minutos. A seguir foram lavadas três vezes, durante três minutos, em água destilada estéril. Após a remoção do excesso de água com o auxílio de papel de filtro estéril, em câmara de fluxo laminar, as folhas foram incubadas em placas de Petri de 15cm de diâmetro e 2cm de altura, forradas com espuma de nylon umedecida e esterilizada, e mantidas à temperatura ambiente, no laboratório.

O meio de cultura utilizado foi ASZV sugerido por KUCK (1979) e modificado, tendo sido utilizado anteriormente com sucesso para o cultivo axênico de *Melampsora epitea* no Laboratório de Micologia Fitopatológica do Instituto Biológico de São Paulo (CARVALHO Jr. et al., 1998) e, contendo os seguintes componentes nas concentrações finais: sais minerais: NaNO<sub>3</sub> (2 g/l), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O (1,312 g/l), KCl (0,5 g/l), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,5 g/l), FeSO<sub>4</sub> (0,010 g/l); os carboidratos: glucose (30 g/l), frutose (15 g/l) e sacarose (15 g/l); dos L-aminoácidos: Tyr (0,128 g/l), Ala (0,856 g/l), Trp (0,120 g/l), Asp (0,200 g/l), Asn (0,400 g/l), Thr (0,288 g/l), Ser (0,824 g/l), Glu (1,096 g/l), Gln (0,600 g/l), Pro (0,120 g/l), Gly (0,296 g/l), Cys-HCl (0,600 g/l), Val (0,168 g/l), Met (0,100 g/l), Ile (0,120 g/l), Leu (0,128 g/l), Phe (0,136 g/l), GABA (1,608 g/l), Lys-HCl (0,240 g/l), His (0,024 g/l) e Arg (0,176 g/l); as vitaminas: mio-inositol (0,0700 g/l), ácido nicotínico (0,004

g/l), tiamina-HCl (0,040 g/l) e piridoxina-HCl (0,004 g/l); do tampão MES (15,6 g/l). Também foram adicionados: 10 g de extrato de levedura (Difco), ácido indol acético (100 µl), cinetina (100 µl) e o antibiótico Claforan (50 µl).

O pH do meio foi ajustado para os seguintes valores: 5,0, 5,5, 6,0, e 6,5. Em seguida os meios foram submetidos a uma pré-filtragem em membrana de polietileno com porosidade de 0,45 mm e esterilizados por filtração em membrana de polietileno com porosidade de 0,22 µm.

Ao meio estéril foi acrescentado ágar-água estéril 2% a 60<sup>0</sup>C, sendo a mistura distribuída em placas de cultivo celular. Cinco a sete dias após a desinfestação das folhas de jambo inoculadas, os uredíniosporos presentes nas pústulas recém abertas, na parte abaxial das folhas, foram transferidos, em câmara de fluxo laminar, com o auxílio de uma agulha histológica, para a superfície dos meios de cultura de diferentes pHs. Para cada meio foram feitas seis repetições, incubadas a temperaturas de 15<sup>0</sup>, 18<sup>0</sup>, 21<sup>0</sup> e 24<sup>0</sup>C. Para a avaliação do experimento foi observada a ocorrência ou não da germinação dos uredíniosporos frente aos diferentes pHs e temperaturas, através de observações em microscópio óptico invertido.

### **3.5)- Inoculações cruzadas:**

Para os ensaios, realizados em casa de vegetação, foram utilizados os seguintes hospedeiros: goiabeira (*Psidium guajava* L.), jambo (*Syzygium jambos* (L.) Alst.), cereja-do-rio-grande (*Eugenia* sp), uvaia (*Eugenia uvalha* Berg.) e eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). Este último, atualmente *Corimbea citriodora* devido às suas

características morfológicas diferirem das outras espécies pertencentes ao gênero *Eucalyptus*.

Urediniosporos de *P. psidii* obtidos goiabeira, jambeiro, cambucá (*E. cambucae*), jabuticabeira (*Myrciaria jaboticaba*) e *E. grandis* procedente do Horto de Itatinga, São Paulo, SP, foram testados por meio de inoculações cruzadas realizadas em todos os hospedeiros disponíveis.

Para o preparo do inóculo, urediniosporos obtidos de cada hospedeiro foram, separadamente, suspensos em água destilada contendo Tween 20 e aspergidos, na concentração de  $10^4$  urediniosporos.mL<sup>-1</sup>, em ambas as faces das folhas dos hospedeiros.

Após as inoculações, as plantas foram mantidas em câmara úmida durante 12 horas, a temperaturas variando entre 19<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup>C. Após esse período, a câmara úmida foi removida e as plantas foram transferidas para a casa de vegetação sendo, cada tratamento, colocado em compartimentos separados.

Foram feitas seis repetições para cada tratamento, sendo observados os seguintes parâmetros para a avaliação dos resultados: incidência da ferrugem, período latente, frequência e intensidade da infecção. Para avaliação da incidência da ferrugem, foi observado o número de plantas de cada tratamento com ferrugem, sem importar a intensidade da doença.

Para avaliação dos demais parâmetros foi utilizada a mesma metodologia descrita por CASTRO et al. (1983), de acordo com a qual as observações foram realizadas nas duas folhas mais novas de cada repetição.

O período latente foi considerado o número necessário de horas,

após a inoculação, para que as pústulas estivessem rompidas, expondo os uredíniosporos. A frequência de infecção foi medida através do número de lesões por 3 cm<sup>2</sup> de área foliar, 11 dias após as inoculações.

A intensidade da infecção também foi avaliada 11 dias após as inoculações, utilizando-se a mesma classificação de COUTINHO & FIGUEIREDO (1984a): (+++) lesões apresentando pústulas altamente esporulantes; (++) lesões com pústulas pouco esporulantes; (+) lesões não apresentando pústulas; (±) reação de hipersensibilidade e bronzeamento das folhas; (-) ausência total de sintomas ou reação.

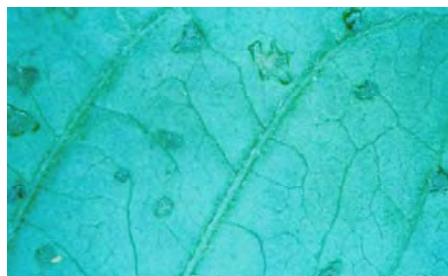
As Figuras 02, 03, 04 e 05 ilustram a simbologia ou notação registrada no rodapé das tabelas e, utilizada para classificar a intensidade da infecção em cada hospedeiro.



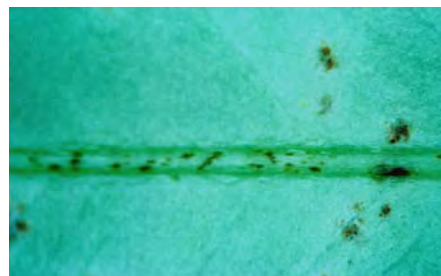
**Figura 02 – Lesões apresentando pústulas altamente esporulantes (+++).**



**Figura 03 – Lesões com pústulas pouco esporulantes (++).**



**Figura 04 – Lesões não apresentando pústulas (+).**



**Figura 05 – Reação de hipersensibilidade e/ou bronzeamento das folhas (±).**

### 3.6)- Evolução dos sintomas de *P. psidii* em diferentes espécies de mirtáceas:

Durante os anos de 1999 e 2000, foi avaliado, em campo, o nível de severidade de *Puccinia psidii*. Para tanto, a cada quinze dias, plantas de goiabeira, jambeiro, uvaia, jamboleiro, pitanga, araçá, gabiroba, cravo-da-índia, cereja-do-rio grande e diferentes espécies de eucalipto (*Eucalyptus* sp, *E. urophila*, *E. grandis* procedências Itatinga e Anhembi, *E. cloeziana*, *E. citriodora*, *E. saligna*, *E. camaudulensis* e *E. botryodes*), existentes em uma área pertencente ao Departamento de Produção Vegetal da UNESP – Botucatu - Câmpus da Fazenda Lageado foram avaliadas, utilizando-se a escala de notas constituída pelos valores: 1- planta sadia ou em recuperação; 2- pústulas somente nas folhas e 3- pústulas presentes nos ponteiros (Figura 06). Ao final de cada ano foi calculado o nível médio de severidade mensal para cada hospedeiro.



**Figura 06– Escala de notas utilizada para avaliar a evolução dos sintomas de *Puccinia psidii* em campo: 1- planta sadia; 2- pústulas somente nas folhas; 3- pústulas presentes nos ponteiros, comprometendo a dominância.**



#### **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

##### **4.1)- Capacidade de produção de basidiosporos pelos teliosporos de *P. psidii* submetidos a diferentes temperaturas:**

A 12<sup>0</sup>C, a primeira descarga de basidiosporos ocorreu 48 horas após a montagem dos germinatélios. As amostras mantidas a 15<sup>0</sup>, 18<sup>0</sup>, 21<sup>0</sup> e 24<sup>0</sup>C passaram a produzir basidiosporos 24 horas após a montagem dos germinatélios.

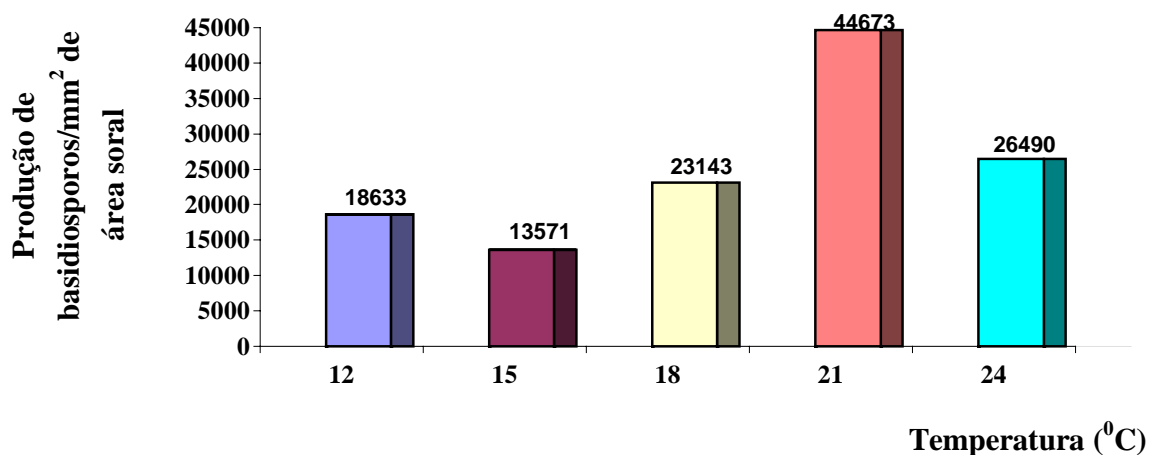
Foram registradas de duas a cinco quedas. A produção média de basidiosporos a cada uma das temperaturas estudadas encontra-se registrada no Quadro 01 e ilustrada pela Figura 07.

**Quadro 01 – Produção média de basidiosporos pelos teliossoros de *Puccinia psidii* submetidos a diferentes temperaturas.**

Temperatura	Produção média (basidiosporos/mm <sup>2</sup> )*	Análise estatística dos resultados**
12 <sup>0</sup> C	18.633	6,74 <sup>a</sup>
15 <sup>0</sup> C	13.571	6,43 <sup>a</sup>
18 <sup>0</sup> C	23.143	6,66 <sup>a</sup>
21 <sup>0</sup> C	44.673	7,38 <sup>a</sup>
24 <sup>0</sup> C	26.490	7,14 <sup>a</sup>

\*Média de seis repetições

\*\*Para análise estatística os dados foram transformados em log (x + 1). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de TUKEY / Coeficiente de variação = 10,84%.



**Figura 07 – Produção média, por unidade de área, de basidiosporos pelos teliossoros de *Puccinia psidii* submetidos a diferentes temperaturas.**

Observando-se a Figura 07, pode-se perceber claramente que a maior produção de basidiosporos por mm<sup>2</sup> ocorreu à 21<sup>0</sup>C, sendo a citada temperatura considerada a mais propícia para a produção de basidiosporos dentre as testadas. Porém, de acordo com a análise estatística constante no Quadro 01, não houve diferença significativa

entre as temperaturas testadas. Isto, muito provavelmente, devido a temperaturas amenas como as utilizadas no experimento serem bastante apropriadas à germinação de teliosporos, resultando em grande produção de basidiosporos.

Para outras ferrugens que também ocorrem em regiões tropicais, elevadas produções de basidiosporos foram registradas a temperaturas amenas. Como exemplo podem ser citadas: *Puccinia arachidis*, *P. pampeana*, *P. mogiphanes*, *P. cnici-oleracei*, *P. heterospora*, *P. arechevaletae*, *Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus* (GOLD & MENDGEN, 1983; APARECIDO & FIGUEIREDO, 1997; 1998; FIGUEIREDO & APARECIDO, 1998). Devido à posição geográfica do Brasil, temperaturas amenas são registradas durante a maior parte do ano, em várias regiões do país, favorecendo a ocorrência das epifitias e resultando nas grandes perdas continuamente observadas. Principalmente durante a noite, as temperaturas são mais baixas, momento durante o qual grandes cargas de basidiosporos devem ser liberadas.

Com relação ao número de quedas, devido a estudos preliminares, *P. psidii* pode ser classificada como uma ferrugem com teliosporos de “curta duração”, uma vez que exibe um ciclo de liberação de basidiosporos que, raramente, atinge cinco descargas consecutivas (APARECIDO & FIGUEIREDO, 1997). O mesmo já foi observado para *P. arachidis*. As demais ferrugens citadas acima são ditas de teliosporos de “longa duração” por serem capazes de liberar inúmeras cargas consecutivas de basidiosporos (FIGUEIREDO & APARECIDO, 1998). É importante ressaltar que as ferrugens com teliosporos de “longa duração” apresentam soros pulvinados, enquanto que aquelas com teliosporos de “curta duração”, soros pulverulentos. Esta particularidade, talvez possa ser utilizada como mais uma característica para identificar as espécies, ou mesmo separar gêneros, pertencentes ao

complexo grupo das Uredinales.

**4.2)- Germinação de uredíniosporos de *P. psidii*, com diferentes idades, submetidos a diferentes temperaturas e coletados de jambeiro e goiabeira:**

Os uredíniosporos coletados de plantas de jambo apresentaram as seguintes porcentagens de germinação: estruturas com 10 dias a 15<sup>o</sup>, 18<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup>C, respectivamente, 28,3%, 23,2% e 26,9%. A 12<sup>o</sup> e 24<sup>o</sup>C a germinação dessas estruturas foi 10 e 2,9%. A partir de 14 dias, a 12<sup>o</sup> e 24<sup>o</sup>C, foram registradas, respectivamente, 0,7% e 0,6% de germinação.

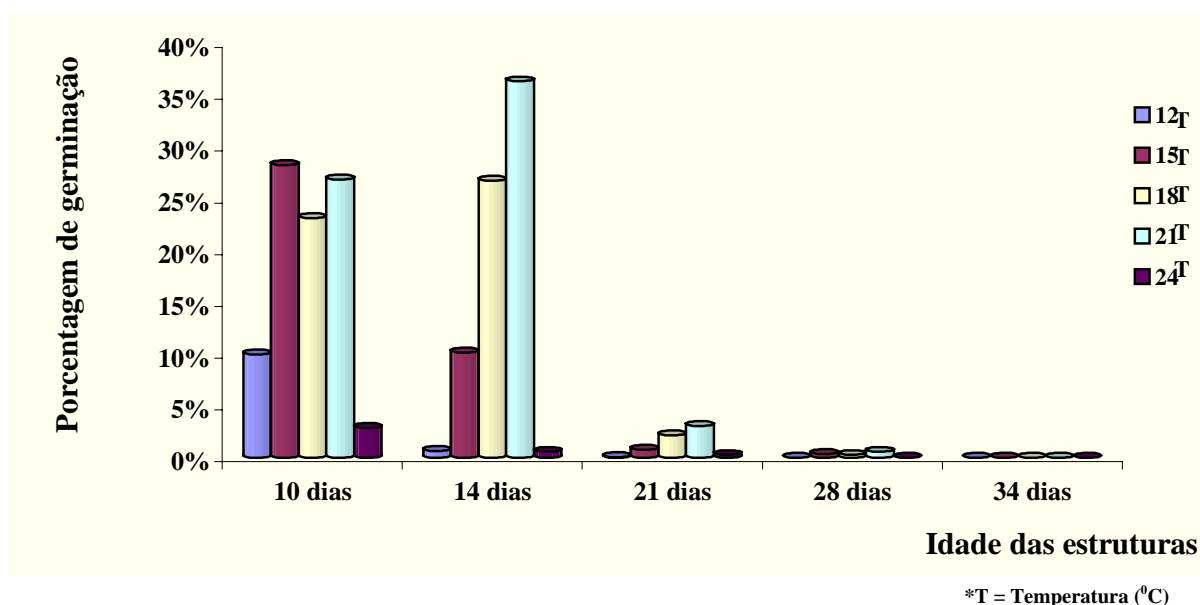
Para esporos com 14 dias mantidos a 15<sup>o</sup>, 18<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup>C, registraram-se, respectivamente, as seguintes porcentagens de germinação: 10,2%, 26,8% e 36,4%. Para uredíniosporos com 28 dias, submetidos às temperaturas anteriores, a germinação foi inferior a 1%. Com relação às estruturas de 21 dias, as maiores porcentagens de germinação: 2,2% e 3,1% foram, respectivamente, registradas às temperaturas de 18<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup>C.

Com relação às estruturas coletadas de goiabeira, aos 10 dias de idade as porcentagens de germinação nas temperaturas 15<sup>o</sup>, 18<sup>o</sup>, 21<sup>o</sup> e 24<sup>o</sup>C foram, respectivamente 11,3%, 6% , 1,6% e 3,2%.

A partir de 14 dias, a maior porcentagem de germinação foi registrada à 15<sup>o</sup>C e equivaleu a 8,7% sendo que, conforme a temperatura foi aumentando, a porcentagem de germinação foi diminuindo. Para esporos com 21 dias mantidos a 15<sup>o</sup>C, foi registrada a maior porcentagem de germinação: 34,8%.

Para uredíniosporos com 28 dias a porcentagem de germinação não foi superior a 4,3%, sendo este valor registrado a 18°C. Aos 34 dias, registrou-se 0% de germinação a qualquer das temperaturas estudadas tanto para uredíniosporos coletados de jambeiro como de goiabeira.

As Figuras 08 e 09 ilustram os resultados obtidos.



**Figura 08 – Porcentagem de germinação de uredíniosporos de *Puccinia psidii* com distintas idades, coletados de jambeiro e submetidos a diferentes temperaturas.**

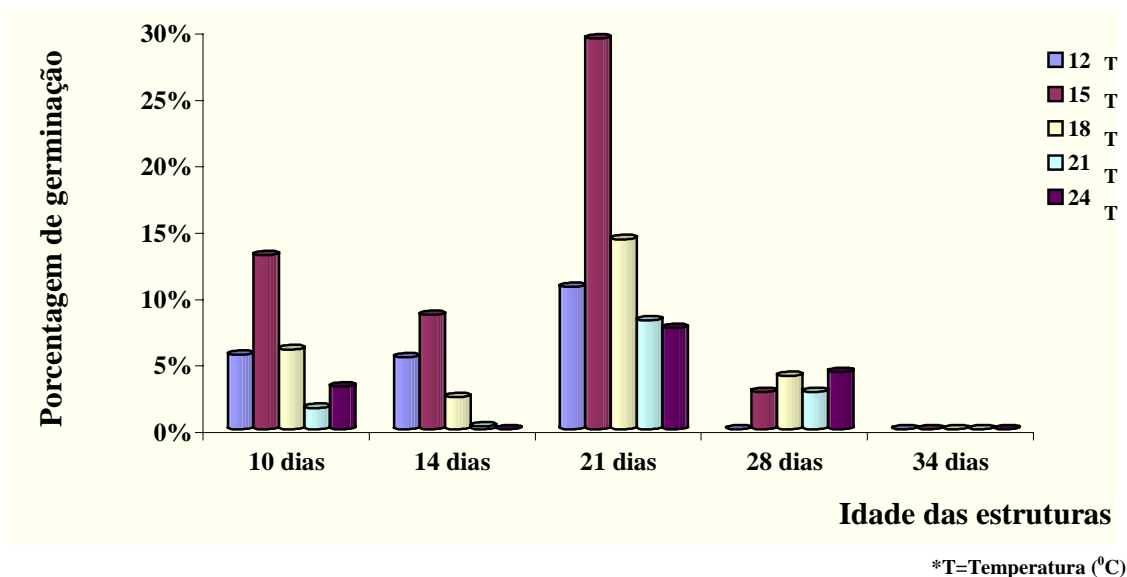
Observando-se o Quadro 02, pode-se confirmar que a idade dos uredíniosporos, associada a temperaturas amenas, favorece a germinação. Isto devido às maiores médias de germinação, para estruturas com 10 dias de idade, terem sido registradas a 15°C, 18°C e 21°C. Aos 14 dias, a temperatura mais adequada à germinação de uredíniosporos foi 21°C.

**Quadro 02 – Germinação de uredíniosporos de *Puccinia psidii* com diferentes idades, coletados de plantas de jambo e submetidos a temperaturas distintas.**

Temperatura	Germinação das estruturas com diferentes idades*				
	10 dias	14 dias	21 dias	28 dias	34 dias
12 <sup>0</sup> C	5,50 aB	1,4 bD	0,85 bC	0,71 bA	0,71 bA
15 <sup>0</sup> C	9,12 aA	5,26 bC	1,60 cABC	1,32 cA	0,71 cA
18 <sup>0</sup> C	8,34 aA	8,72 aB	2,55 bAB	1,07 bcA	0,71 cA
21 <sup>0</sup> C	8,98 aA	10,36 aA	2,95 bA	1,37 cA	0,71 cA
24 <sup>0</sup> C	2,95 aC	1,25 bD	1,17 bBC	0,71 bA	0,71 bA

\*Média de seis repetições. \*\*Para análise estatística os dados foram transformados em  $\sqrt{x + 0,50}$ . Médias seguidas da mesma letra minúscula no sentido horizontal e maiúscula no sentido vertical não diferem entre si pelo Teste de TUKEY, ao nível de 1% de probabilidade / Coeficiente de variação = 29,63%.

Com relação aos uredíniosporos coletados de goiabeira, observando-se Figura 09 e Quadro 03, pode-se verificar que elevadas porcentagens de germinação foram registradas a 15<sup>0</sup>C para uredíniosporos com até 21 dias de idade, confirmando-se os resultados obtidos em porcentagem.



\*T=Temperatura (°C)

**Figura 09 - Porcentagem de germinação dos urediniosporos de *Puccinia psidii*, com idades distintas, submetidos a diferentes temperaturas e coletados de goiabeira.**

**Quadro 03 – Germinação de urediniosporos de *Puccinia psidii* com diferentes idades, coletados de goiabeira submetidos a temperaturas distintas.**

Temperatura (°C)	Germinação das estruturas com diferentes idades*			
	10 dias	14 dias	21 dias	28 dias
12 <sup>0</sup> C	2,84aAB	2,82aAB	3,40aB	ns
15 <sup>0</sup> C	3,59abA	3,27bA	4,43aA	2,07cA
18 <sup>0</sup> C	2,79abAB	2,00bcB	3,60aAB	1,88cA
21 <sup>0</sup> C	1,86bC	0,41cC	3,06aB	2,22abA
24 <sup>0</sup> C	2,38aBC	Ns	3,12aB	2,36aA

\*Média de seis repetições / \*\*Para análise estatística os dados foram transformados em log (x+1,00).  
 \*\*Médias seguidas da mesma letra minúscula no sentido horizontal e maiúscula no sentido vertical não diferem entre si pelo Teste de TUKEY, ao nível de 1% de probabilidade / Coeficiente de variação = 27,32%.

Os resultados aqui apresentados encontram-se bastante próximos daqueles obtidos por FERREIRA (1981) e PIZA & RIBEIRO (1988), que observaram maiores porcentagens de germinação de uredíniosporos a temperaturas amenas: 15<sup>o</sup> e 18<sup>o</sup>C e, FIGUEIREDO & CARVALHO JR. (1994), no estudo em que, utilizando a espécie *Coleosporium plumierae*, ferrugem do jasmim rosa, planta ornamental pertencente à Família Apocinaceae, verificaram que as temperaturas mais propícias para a germinação de uredíniosporos encontravam-se entre 18<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup>C.

Convém ressaltar, porém que a 21<sup>o</sup>C, a porcentagem de germinação de uredíniosporos de *C. plumierae* atingiu 88%, enquanto que à mesma temperatura, *Puccinia psidii* exibiu uma porcentagem de germinação de, aproximadamente, 40%. Provavelmente, isto tenha ocorrido devido à idade dos uredíniosporos, uma vez que aqueles de *C. plumierae* estavam com idade entre 24 e 48 horas, enquanto que os mais novos de *Puccinia psidii* encontravam-se com 10 dias.

Ao contrário de *C. plumierae*, somente aos dez dias de idade as pústulas de *P. psidii* apresentam-se rompidas, possibilitando a coleta dos uredíniosporos. FERREIRA (1981) e PIZA & RIBEIRO (1988), em suas pesquisas com uredíniosporos de *P. psidii*, não levaram em consideração a idade das estruturas. Em estudos futuros, este parâmetro também deve ser observado devido a sua influência ter sido claramente percebida nesta pesquisa.

É provável que nas estruturas mais jovens de *Puccinia psidii* existam substâncias endógenas que estimulem sua germinação. Na presença de baixas concentrações ou ausência dessas substâncias, a germinação não irá ocorrer. De acordo com a idade dos uredíniosporos, provavelmente, a quantidade dessas substâncias se modifica. ALLEN



(1976), MACKO et al. (1976), STAPLES & MACKO (1984) e FIGUEIREDO & CARVALHO JR. (1994), constataram a existência de substâncias que controlam a germinação de uredíniosporos. Segundo FIGUEIREDO & CARVALHO JR. (1994), uredíniosporos jovens, com idade entre 24 e 48 horas, de *Coleosporium plumierae* não apresentam acúmulo de substâncias inibidoras da germinação, isto porque em seus estudos a porcentagem de germinação dessas estruturas atingiu cerca de 90%. A presença de substâncias inibidoras da germinação também já foi constatada em outro tipo de estrutura de inúmeras espécies de ferrugens: os teliosporos. Essas estruturas apresentam papel importante na sobrevivência do patógeno, uma vez que, em condições desfavoráveis, sua germinação não ocorre.

FIGUEIREDO & CARVALHO JR. (1994, 1995) verificaram a presença dessas substâncias auto-inibidoras da germinação nos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana*, agente causal da ferrugem da pimenta e do pimentão (*Capsicum* spp).

Associando todos os dados citados àqueles obtidos por CASTRO (1983), COUTINHO & FIGUEIREDO (1984b) e RUIZ et al. (1989b), referentes à intensidade de infecção e quantidade de uredíniosporos produzida, ambos os parâmetros influenciados pela temperatura, encontra-se concordância, pois os dados mais expressivos foram obtidos, experimentalmente, a temperaturas amenas, com valores variando entre 20<sup>o</sup> e 25<sup>o</sup>C.

Existe um segundo tipo de estrutura infectiva denominada basidiosporos e produzida em decorrência da germinação dos teliosporos do fungo. APARECIDO & FIGUEIREDO (1999) registraram maior produção de basidiosporos à 21<sup>o</sup>C observando, também neste caso, a influência positiva de temperaturas amenas sobre o

ciclo vital de *P. psidii*.

Deve-se ressaltar, também, a necessidade de se realizar o pincelamento dos urediniosporos sobre discos de ágar-água. Tal procedimento foi realizado devido à literatura registrar que os urediniosporos de certas ferrugens germinam em resposta a estímulos topográficos, resultantes do contato com alguma superfície. Isto pôde ser observado em *Uromyces appendiculatus*, agente causal da ferrugem do feijoeiro, que apresentou elevada porcentagem de germinação de urediniosporos quando estas estruturas foram colocadas para germinar sobre uma superfície (STAPLES & MACKO, 1984; ALEXOPOULOS et al., 1996).

#### **4.3)– Influência da temperatura sobre *P. psidii* na infecção e produção de teliosporos**

Constatou-se que a infecção foi muito mais severa nas plantas mantidas a 19<sup>o</sup>C (Grupo A), sendo os sintomas iniciais observados quatro dias após a inoculação. No Grupo B, mantido a 33<sup>o</sup>C, os sintomas iniciais foram observados somente após nove dias. Com relação à melhor temperatura para a formação de teliosporos, nas plantas mantidas em laboratório, onde a temperatura média foi 23<sup>o</sup>C (médias mínima e máxima respectivamente, 21<sup>o</sup> e 25<sup>o</sup>C), pode-se observar grande quantidade de teliosporos. Ao contrário, nas plantas mantidas em casa-de-vegetação, local onde foi registrada média de 28<sup>o</sup>C (médias de 21<sup>o</sup>C e 35<sup>o</sup>C, respectivamente mínima e máxima), observou-se pequena quantidade de teliosporos, amarelecimento e necrose da maior parte do tecido foliar infectado.

Os resultados aqui obtidos concordam com dados registrados em outras pesquisas. Acima de 25<sup>0</sup>C a infecção não ocorre conforme foi constatado por COUTINHO & FIGUEIREDO (1984b) ou, é bem menos severa como foi verificado neste estudo e também por RUIZ et al. (1987). FERREIRA (1981) e PIZA & RIBEIRO (1988) observaram que as temperaturas mais adequadas à germinação dos uredíniosporos do patógeno variam entre 15<sup>0</sup> e 18<sup>0</sup>C. Com relação à germinação de teliosporos e descarga de basídiosporos, estudos preliminares possibilitaram verificar que 21<sup>0</sup>C é a temperatura mais apropriada. Observa-se, portanto, que todo o ciclo vital de *P. psidii* é favorecido e depende da ocorrência de temperaturas amenas, variando de 15<sup>0</sup>C a 25<sup>0</sup>C. Temperaturas muito elevadas são adversas ao patógeno e, caso a infecção já tenha ocorrido, induzem à formação das estruturas de resistência denominadas teliosporos. Porém, convém ressaltar que, conforme observado neste estudo, sendo tais temperaturas excessivamente elevadas, menores quantidades dessas estruturas se formam, além de ocorrer necrose de parte do tecido foliar e, posteriormente senescência da folha infectada.

#### **4.4)- cultura axênica de *P. psidii* a partir de uredíniosporos**

Os uredíniosporos transferidos para o meio axênico utilizado não germinaram, a qualquer pH e temperatura, sendo observadas apenas contaminações com outros fungos.

Devido à ausência de conhecimento relacionado à bioquímica das Uredinales, até o presente momento não foram obtidas culturas axênicas de *P. psidii*. Embora o meio axênico preparado seja extremamente rico e tenha sido utilizado, com

sucesso, para o cultivo axênico de *Melampsora epitea* (ferrugem do chorão – *Salix babilonica*), as quantidades utilizadas podem não estar sendo adequadas para *P. psidii*, o que tem prejudicado a germinação dos uredíniosporos semeados, impedindo o desenvolvimento do microrganismo. CARVALHO Jr. et al. (1998) obtiveram sucesso no cultivo axênico de *Melampsora epitea* somente após as quantidades dos componentes do meio ASZV, sugerido por KUCK (1979), terem sido reduzidas à metade. Isto indica que, muito provavelmente, para cada espécie de ferrugem que se deseja cultivar axenicamente, um meio específico deva ser preparado. Também existe a possibilidade do microrganismo não estar conseguindo metabolizar algum ou alguns dos componentes.

Talvez, para que as exigências metabólicas do fungo sejam supridas, seja necessário algum composto presente no tecido do hospedeiro ou, produzido em resposta à interação *P. psidii*—hospedeiro. Sendo esta hipótese verdadeira, culturas axênicas de *P. psidii* poderiam ser obtidas utilizando-se a técnica aperfeiçoada a partir das observações de HOTSON & CUTTER Jr. (1951). Essa técnica induz, na presença de certos hormônios, o micélio intercelular do fungo a crescer a partir do tecido infectado para o meio de cultura. De acordo com CARVALHO Jr. et al. (1998), esta técnica é a mais adequada a ferrugens que possuem esporos com baixas porcentagens de germinação, devido a essas estruturas apresentarem acúmulo de inibidores endógenos. Em estudos preliminares, foi observado que *P. psidii* apresenta porcentagem de germinação de uredíniosporos inferior a 50%. Portanto, é provável que através do emprego dessa técnica venha a ser obtido sucesso em estudos futuros referentes a culturas axênicas dessa espécie de Uredinales.

#### **4.5)- INOCULAÇÕES CRUZADAS:**

Até o presente momento puderam ser detectados quatro grupos de especialização fisiológica devido à obtenção de reações diferenciais, relacionadas à intensidade de infecção provocada nos hospedeiros utilizados (Quadro 04). O Grupo 1, do qual fazem parte os uredíniosporos coletados de jambeiro e de *Eucalyptus grandis*, infectaram intensamente jambeiro e *E. citriodora* e moderadamente cereja-do-rio grande. O Grupo 2, constituído pelos uredíniosporos de goiabeira, infectou o hospedeiro original com maior intensidade e moderadamente as plantas de *E. citriodora*. O Grupo 3, formado por uredíniosporos coletados de jaboticabeira, infectou moderadamente jambo, cereja-do-rio grande e *E. citriodora*. O Grupo 4, do qual fazem parte os uredíniosporos de cambucá provocou lesões sem pústulas apenas em cereja-do-rio grande. Nenhuma das plantas de uvaia inoculadas apresentaram reação a qualquer das inoculações.

**Quadro 04 - Inoculação cruzada com uredíniosporos provenientes de diferentes hospedeiros.**

Uredíniosporos	Uvaia		Jambo		Goiaba		Cereja-do-rio grande		<i>E. citriodora</i>	
	FI	INT	FI	INT	FI	INT	FI	INT	FI	INT
U <sub>J</sub> (Grupo 1)	0	–	18	+++	5	+, –	13	++	20	+++, +, ±, –
U <sub>G</sub> (Grupo 2)	0	–	5	+, ±, –	16	+++	6	±	19	++, +, ±
U <sub>Jb</sub> (Grupo 3)	0	–	5	++, –	0	–	4	++, –	3	++, +, –
U <sub>C</sub> (Grupo 4)	0	–	4	±, –	0	–	10	+, –	0	–
U <sub>Eg</sub> (Grupo 1)	0	–	18	+++, –	0	–	11	++, +, –	19	+++, –

U<sub>J</sub> = uredíniosporos coletados de jambeiro; U<sub>G</sub> = uredíniosporos coletados de goiabeira; U<sub>Jb</sub> = uredíniosporos coletados de jaboticabeira; U<sub>C</sub> = uredíniosporos coletados de cambucá; U<sub>Eg</sub> = uredíniosporos coletados de *Eucalyptus grandis* procedente do Horto de Itatinga, SP. / FI=Freqüência da infecção (nº médio de lesões/3 cm<sup>2</sup>). / INT=Intensidade da infecção: (+++) → lesões apresentando pústulas altamente esporulantes / (++) → lesões com pústulas pouco esporulantes / (+) → lesões não apresentando pústulas / (±) → reação de hipersensibilidade e/ou bronzeamento das folhas / (–) → ausência total de sintomas e/ou reação.

Os resultados aqui obtidos confirmam as observações realizadas por MACLACHLAN (1938), que já propunha a existência de especializações fisiológicas dentro de populações de *P. psidii*. Isto porque, através de inoculações cruzadas, observou que uredíniosporos coletados do gênero *Pimenta* não eram capazes de infectar plantas pertencentes ao gênero *Eugenia*, ocorrendo também o contrário. De acordo com os resultados por ele obtidos, plantas das espécies *E. jambos* e *E. malaccensis* ambos, atualmente, incluídos no gênero *Syzygium* por serem procedentes da Índia e terem sido introduzidos no Brasil pelos portugueses no início da colonização, apresentaram lesões sem esporulação quando inoculadas com uredíniosporos procedentes do gênero *Pimenta* e, plantas pertencentes à espécie *Psidium guajava* (goiabeira), não apresentaram qualquer reação às inoculações com uredíniosporos procedentes de *Pimenta* ou *Eugenia*.

Porém MARLATT & KIMBROUGH (1979), por meio de inoculações experimentais, obtiveram interações positivas entre *S. jambos* (jambo) e uredíniosporos provenientes de *Pimenta dioica*, cultivada na Flórida, levando os autores a supor que a ferrugem encontrada na Flórida sobre *P. dioica*, difere daquela registrada sobre o mesmo hospedeiro, na Jamaica. Tais diferenças podem ser devido, unicamente, à fisiologia do patógeno ou, devido à interação fisiologia do patógeno x cultivar do hospedeiro x ambiente (MARLATT & KIMBROUGH, 1979).

Em trabalhos mais recentes também foi relatada especialização fisiológica dentro de populações de *P. psidii* (FERREIRA, 1981; CASTRO et al., 1983; COUTINHO & FIGUEIREDO, 1984a; COELHO, 1988; XAVIER et al., 2000). Deve-se ressaltar que no trabalho desenvolvido por CASTRO et al. (1983), embora todos os hospedeiros utilizados tenham sido infectados pelos diferentes uredíniosporos, foi registrada

diferença na intensidade de infecção. Com relação ao eucalipto, no estudo de CASTRO et al. (1983), *Eucalyptus cloenziana* mostrou ser a espécie mais suscetível, uma vez que foi infectado intensamente por três das quatro procedências de uredíniosporos utilizadas.

Na presente pesquisa, também foi relatada a elevada suscetibilidade da espécie *E. citriodora*, isto porque esta espécie foi infectada por três das cinco procedências de uredíniosporos estudadas. Inúmeros são os relatos da existência de espécies de *Eucalyptus* resistentes e suscetíveis a ferrugem (FERREIRA & SILVA, 1982; CASTRO, 1983; CASTRO et al., 1983; CASTRO & KRÜGNER, 1984; TAKAHASHI et al., 1997c). Os resultados aqui obtidos aproximam-se muito daqueles observados por COELHO (1988) que, em suas pesquisas, conseguiu separar os uredíniosporos de *P. psidii* coletados de diferentes hospedeiros em três grupos distintos: Grupo 01, compatível com *E. grandis*, procedência África do Sul e jambeiro e incompatível com goiabeira; Grupo 02 compatível com *E. grandis*, procedência África do Sul e goiabeira e, Grupo 03, compatível somente com goiabeira. A maioria dos isolados estudados foi colocada no Grupo 01. No presente estudo, provavelmente, foi obtido maior número de grupos devido à utilização de maior variedade de espécies diferenciadoras: jambeiro, uvaia, goiabeira, cereja-do-rio grande e *E. citriodora*.

Com relação à frequência de infecção, pode-se observar variações, as quais dependiam do hospedeiro e da origem dos uredíniosporos. O período latente também diferiu, variando de sete dias na interação jambo e cereja-do-rio grande—U<sub>Eg</sub> à quinze dias, na interação entre cereja-do-rio grande—U<sub>C</sub>.

Calculando-se a média entre os períodos latentes, para o mesmo hospedeiro, nas interações positivas com os diferentes isolados de *P. psidii*, não se verifica

diferença relevante, uma vez que o jambeiro, ao ser inoculado com qualquer dos isolados de *P. psidii*, demorou cerca de onze dias para apresentar os primeiros sintomas da infecção. Para as interações positivas envolvendo goiabeira, os sintomas iniciais manifestaram-se dez dias após as inoculações. Quando os hospedeiros utilizados foram cereja-do-rio grande e *Eucalyptus citriodora*, os primeiros sintomas demoraram cerca de 12 dias para serem notados.

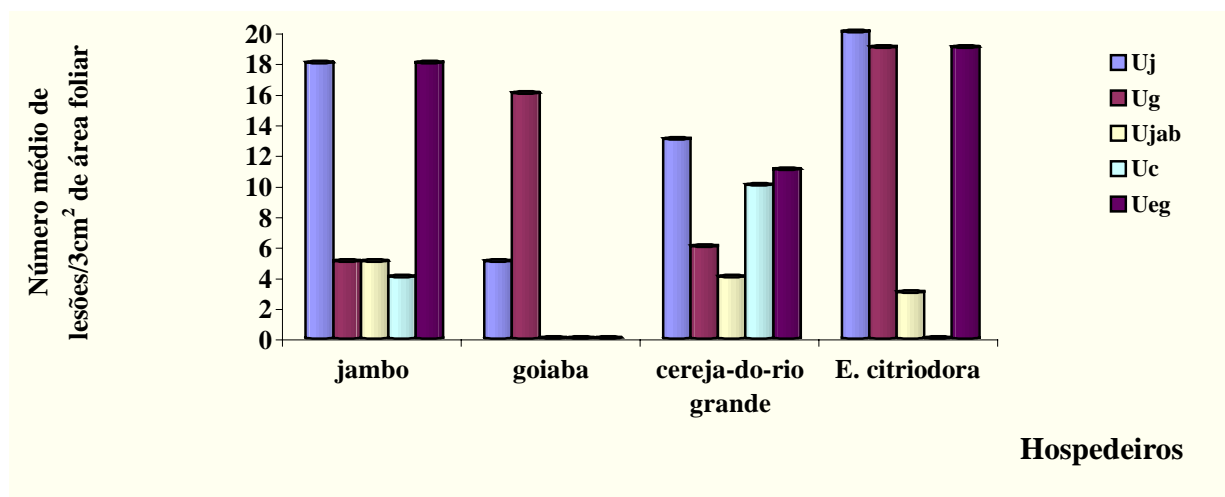
Resultados semelhantes também foram observados por COELHO (1988) embora, em suas pesquisas, a maioria dos isolados utilizados tenha sido obtida de diferentes espécies de eucalipto.

Em suas pesquisas o maior período latente registrado não ultrapassou 12 dias. Esse resultado talvez tenha sido devido à procedência dos seus isolados e, também aos hospedeiros utilizados, os quais podem apresentar maior sensibilidade do que a planta denominada cereja-do-rio grande, para a qual foram registrados os maiores períodos latentes (11, 14 e 15 dias), quando exemplares foram inoculados, respectivamente, com uredíniosporos coletados de jambeiro, goiabeira e cambucá.

Uredíniosporos provenientes de jambeiro e de *E. grandis* procedente do Horto de Itatinga, SP, mostraram-se igualmente severos, uma vez que o número médio de lesões por 3 cm<sup>2</sup>, resultante da inoculação destes sobre jambeiro, cereja-do-rio grande e *E. citriodora*, foi bastante elevado, conforme pode ser observado na Figura 10.

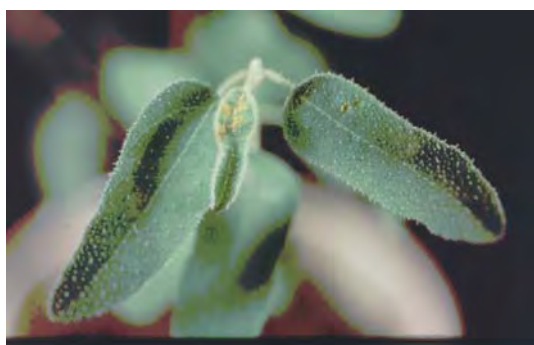
COELHO (1988) também verificou, em seus estudos, diferenças na severidade ao inocular jambeiro e *E. grandis*, de procedência da África do Sul, com uredíniosporos coletados de diferentes hospedeiros. Em todas as inoculações houve compatibilidade, sendo observadas diferenças na frequência de infecção.





**Figura 10 – Número médio de lesões por 3cm<sup>2</sup> de área foliar provocado pela infecção separada de uredíniosporos de *P. psidii* de diferentes procedências.**

As Figuras 11 e 12 ilustram alguns dos resultados obtidos e registrados no Quadro 04.



**Figura 11 – *Eucalyptus citriodora* (= *Corimbea citriodora*) inoculada com uredíniosporos provenientes de *E. grandis* procedente do Horto de Itatinga.**



**Figura 12 – Plantas de jambo (esquerda) e de cereja-do-rio grande (direita) inoculadas com uredíniosporos provenientes de *E. grandis* procedente do Horto de Itatinga.**

Ainda com relação às reações diferenciais dos hospedeiros, é importante ressaltar que, nas plantas de cereja-do-rio grande inoculadas com uredíniosporos provenientes de goiabeira, cerca de vinte dias após as inoculações, houve formação de teliosporos nos locais onde anteriormente havia ocorrido reação de hipersensibilidade. Ao contrário, nas plantas de cereja-do-rio grande inoculadas com uredíniosporos provenientes de jambeiro, após o mesmo período, não houve produção de teliosporos nos locais onde, inicialmente surgiram as pústulas pouco esporulantes. Nestes locais, ocorreu apenas necrose do tecido foliar. Reação semelhante foi observada por MACLACHLAN (1938) em jambo inoculado experimentalmente com uredíniosporos provenientes de plantas do gênero *Pimenta*, levando-o, neste caso, a classificar o gênero “*Eugenia*”, atualmente *Syzygium*, como resistente.

O parâmetro incidência mostrou-se inadequado para o agrupamento das diferentes procedências de uredíniosporos uma vez que semelhante número de plantas, em cada tratamento, exibiu sinais de infecção.

Os resultados obtidos nesta pesquisa, associados àqueles registrados em estudos anteriores reforçam a existência de especializações fisiológicas dentro de populações de *Puccinia psidii*. O conhecimento da variabilidade populacional do patógeno é de extrema importância para o sucesso de medidas de manejo e controle da doença, que tem causado significantes prejuízos em cultivos comerciais de eucalipto, de goiabeira e de outras mirtáceas frutíferas que têm sido industrializadas.

#### 4.6)- Evolução dos sintomas da ferrugem em diferentes espécies de mirtáceas.

Pôde-se verificar que somente foram infectados: jambeiro, goiabeira e as seguintes espécies de eucalipto: *E. urophila*, *E. grandis* procedências Itatinga e Anhembi, *E. cloeziana* e *E. botryodes*.

Com relação ao pico da doença, sobre *E. cloeziana*, o mês de maior severidade foi março. Sobre as demais espécies de eucalipto e, também sobre jambeiro, infecção mais severa ocorreu em abril. Para a goiabeira, o mês mais crítico foi fevereiro.

É importante ressaltar que 1999 foi o ano durante o qual foram observados os ataques mais severos. Durante o ano de 2000, sobre as espécies de eucalipto, a doença foi ausente.

As Figuras 13, 14 e 15 ilustram os resultados descritos.

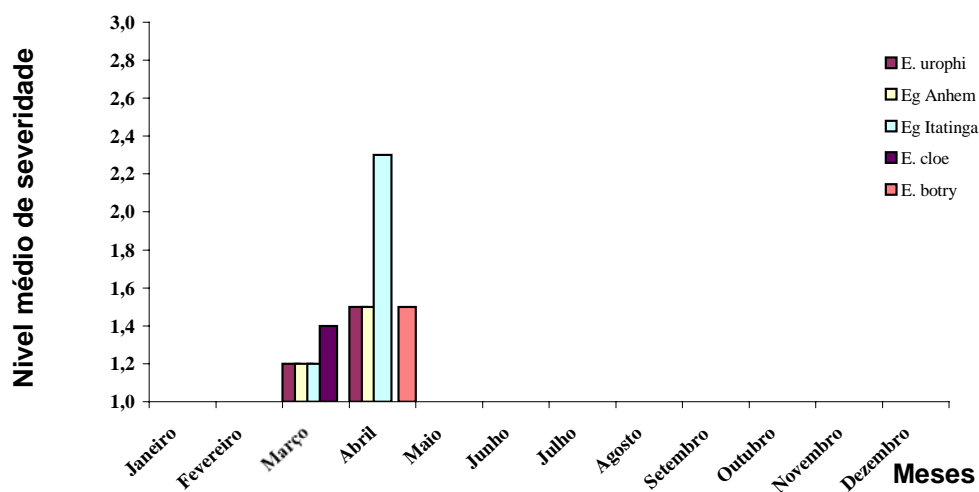


Figura 13 – Níveis de severidade de *Puccinia psidii*, durante o ano de 1999, sobre diferentes espécies de eucalipto.

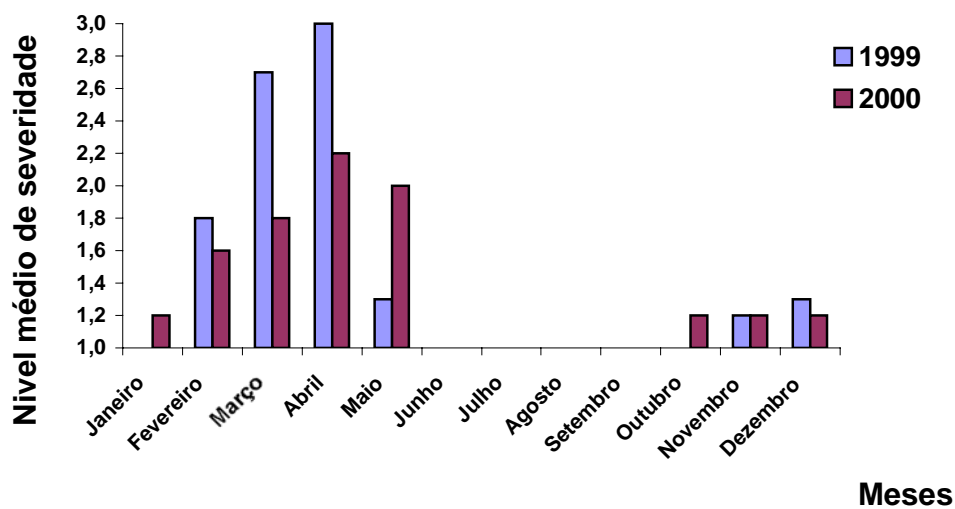


Figura 14 – Severidade de *Puccinia psidii* sobre jambeiro.

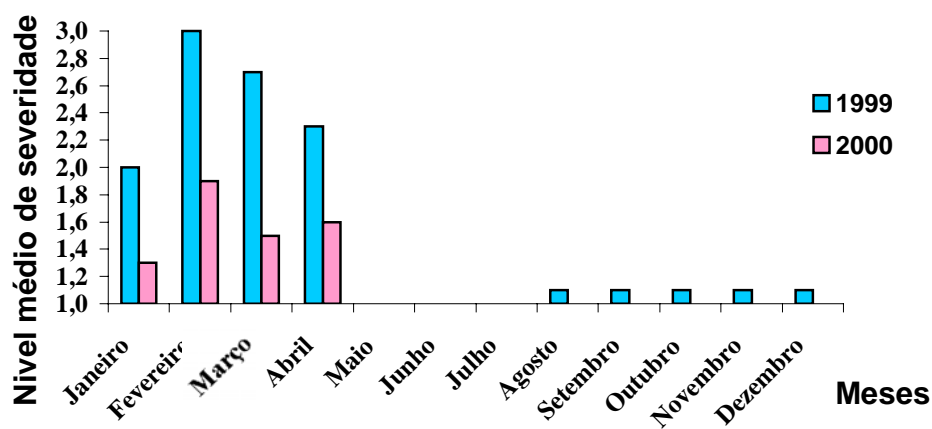
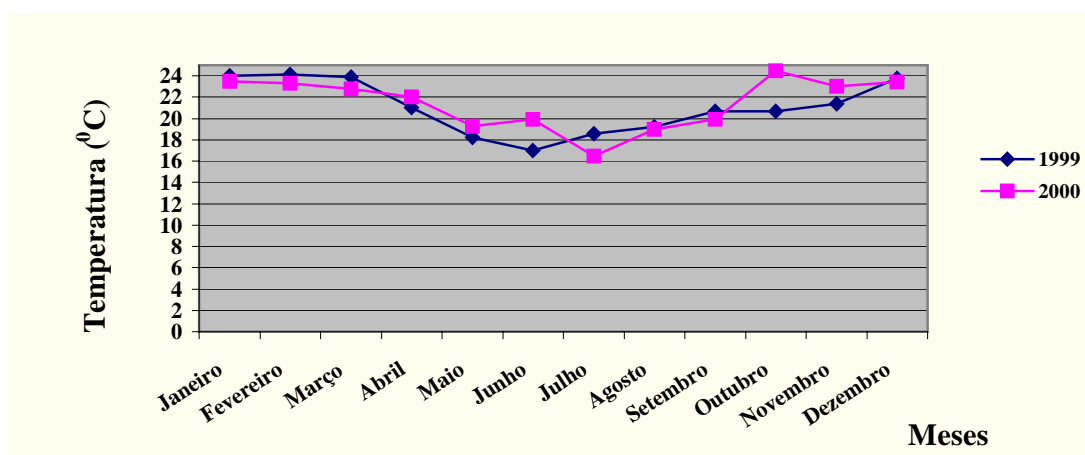


Figura 15 – Severidade de *Puccinia psidii* sobre goiabeira.

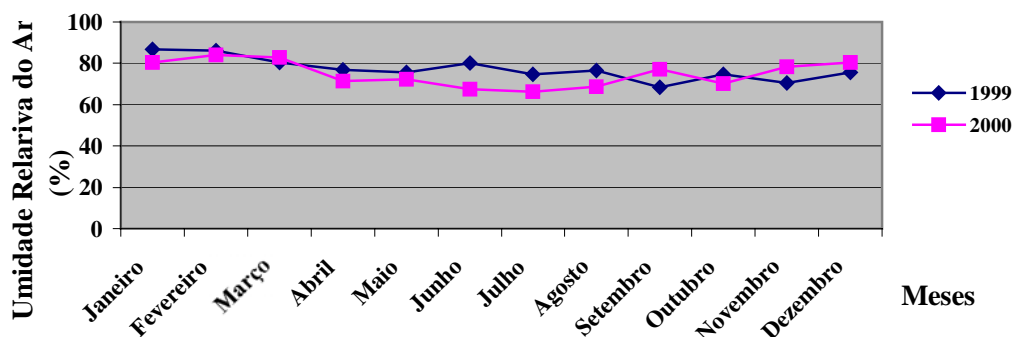
Embora, em pesquisa anterior RUIZ et al. (1989c), estudando o progresso de *P. psidii* em plantações de *Eucalyptus cloeziana* na região de Teixeira Freitas,

BA, tenha registrado maior pico da doença entre maio e julho, também verificaram o início da epidemia a partir da segunda quinzena de março. Tal fato, segundo os mesmos autores, é resultado das condições ambientais favoráveis: umidade relativa elevada e temperaturas entre 18<sup>o</sup> e 25<sup>o</sup>C (RUIZ et al., 1989c). Estes dados reforçam os resultados obtidos em laboratório, de acordo com os quais o ciclo vital de *Puccinia psidii* é favorecido por temperaturas amenas e elevada umidade relativa (FERREIRA, 1981; COUTINHO & FIGUEIREDO, 1984b; PIZA & RIBEIRO, 1988; RUIZ et al., 1989a, 1989b).

Nas Figuras 16 e 17 encontram-se registrados os dados referentes à temperatura média e umidade relativa mensais durante o período em estudo: 1999 e 2000.



**Figura 16 – Temperaturas médias mensais registradas durante os anos de 1999 e 2000, na Fazenda Lageado, Botucatu, SP.**



**Figura 17 – Umidade relativa registrada durante os anos de 1999 e 2000 na Fazenda Lageado, Botucatu, SP.**

Pode-se verificar que os maiores níveis de severidade ocorreram nos meses em que a temperatura média variou de 21<sup>o</sup> a 24<sup>o</sup>C, com umidade relativa superior a 70%. Embora durante o mês de janeiro, de acordo com as Figura 15 e 16 tenham sido registradas elevadas médias de temperatura e umidade relativa, a doença foi ausente ou apresentou baixo nível de severidade. Provavelmente, tal fato tenha ocorrido devido à existência de baixo potencial de inóculo, associada a algum fator de resistência inerente aos hospedeiros.

É importante ressaltar o comportamento diferencial de cada um dos hospedeiros: sobre as plantas de goiaba, o nível de severidade foi diminuindo conforme a temperatura média e a umidade relativa também foram diminuindo. Com relação ao jambeiro, o nível de severidade foi aumentando à medida que temperatura média e umidade relativa foram diminuindo. Com relação às diferentes espécies de eucalipto, *E. cloeziana* apresentou maior nível de severidade sob elevadas temperatura média e umidade relativa,

enquanto que as demais espécies infectadas, sob os menores valores de temperatura média e umidade relativa foi registrado o nível de severidade mais elevado. FERREIRA & SILVA (1982) ao estudarem o comportamento de diferentes procedências de *E. grandis* e de *E. saligna* frente à infecção por *P. psidii*, observaram que somente as procedências 9583 e África do Sul de *E. grandis* apresentaram plantas altamente suscetíveis.

A ausência da doença, nas plantas de goiabeira e *Eucalyptus*, foi observada a partir de maio. Com relação ao jameiro, somente a partir de junho verifica-se ausência total da doença. A diminuição da temperatura resulta em ausência de brotações novas, tecidos suscetíveis através dos quais ocorre a infecção o que torna também, a fenologia do hospedeiro, conforme verificou XAVIER (1997), fator limitante ao desenvolvimento da doença durante os meses mais frios do ano. A citada autora constatou que a infecção é mais drástica no primeiro par de folhas observando também, a formação de grande quantidade de soros urediniais. Ao contrário, em folhas um pouco mais velhas, ocorre a formação de maior quantidade teliossoros. Porém, ao atingir a idade adulta, as folhas tornam-se resistentes. É importante ressaltar que, de acordo com a idade fenológica, as folhas apresentam coloração distinta: nas mais jovens, devido ao acúmulo de grandes quantidades de antocianina, observa-se coloração fortemente arroxeadada; as folhas quase que totalmente desenvolvidas apresentam coloração castanho-esverdeada, sendo estas as mais apropriadas para a obtenção de grandes quantidades de soros teliais. Ao completarem seu desenvolvimento, as folhas passam a exibir um tom intensamente verde, tornando-se resistentes à infecção por *P. psidii*.

## 5. CONCLUSÕES

1)- Temperaturas amenas e umidade relativa do ar acima de 70% favorecem o ciclo de *Puccinia psidii*.

2)- Existem especializações fisiológicas dentro da espécie.

3)-O contato com alguma superfície úmida é essencial para boa germinação dos uredíniosporos.

4)- Quanto mais velhos os uredíniosporos, menor é a porcentagem de germinação exibida por essas estruturas.

5)- A severidade da doença é variável entre diferentes espécies de *Eucalyptus* e, também entre diferentes procedências de uma mesma espécie.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXOPOULOS, C.J., MIMS, C.W., BLACWELL, M. *Introductory Mycology*. John Wiley & Sons, Inc., 1996. 869 p.

ALLEN, P.J. Control of spore germination and infection structure formation in the fungi. *Encycl.Plant Physiology*, New Series, v. 4, p. 51-85, 1976. In: 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 Phytopatol.*, v. 21, p. 200-5, 1995.

AMORIN, E.P.R., PIO-RIBEIRO, G., MENEZES, M., COELHO, R.S.B. Patogenicidade e ação hiperparasitária de *Fusarium decemcellulare* sobre *Puccinia psidii* em goiabeira (*Psidium guajava*). *Fitopat. Bras.*, v. 18, p. 226-9, 1993.

APARECIDO, C.C., FIGUEIREDO, M.B. Influência da temperatura na produção de basidiosporos pelos soros teliais de *Puccinia pampeana*. *Arq. Inst. Biol.*, v. 64 (Supl.), p. 61, 1997.

APARECIDO, C.C., FIGUEIREDO, M.B. Capacidade de produção de basidiosporos por diferentes espécies de *Puccinia*. *Summa Phytopat.*, v. 24, p. 62, 1998.

APARECIDO, C.C., FIGUEIREDO, M.B. *Puccinia psidii* – Efeito da temperatura na produção de basidiosporos. *Fitopat. Bras.*, v.24 (Supl.), p. , 1999.

CARVALHO, A . O.,ALFENAS, A.C., MAFFIA, L. A., CARMO, M.G.F. do. Progresso da ferrugem (*Puccinia psidii*) do eucalipto no Sudeste da Bahia, período de Janeiro/87 a Novembro/89. *Fitopat. Bras.*, v. 16, p. 43, 1991.

CARVALHO JR., A.A., MARTINS, E.M.F., FIGUEIREDO, M.B. Cultura axênica de *Melampsora epitea*, ferrugem do chorão (*Salix babylonica*), a partir de uredíniosporos. *Fitopat. Bras.*, v. 23, p. 379-85, 1998.

- CASTRO, H.A. de. *Padronização da metodologia de inoculação e avaliação da resistência de Eucalyptus spp à ferrugem causada por Puccinia psidii Winter*. Piracicaba, 1983. 116p. Tese de Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade São Paulo.
- CASTRO, H.A. de., KRÜGNER, T.L. Comportamento de *Eucalyptus* spp à inoculação com isolados de *Puccinia psidii*, pela análise dos parâmetros monocíclicos. *Fitopat. Bras.*, v. 9, p. 350, 1984.
- CASTRO, H.A. de, BERGAMIN FILHO, A., KRÜGNER, T.L. Padrão de produção de uredosporos em mudas de *Eucalyptus* spp inoculadas artificialmente com *Puccinia psidii*. *Summa Phytopath.*, v. 10, p. 155-70, 1984.
- CASTRO, H.A. de, KRÜGNER, T.L., IDERIHA, C.H.F., CAPPELLO, M.S.C., MARCHI, A.B. Inoculação cruzada de *Eucalyptus*, goiaba (*Psidium guajava*) e jambeiro (*Syzygium jambos*) com *Puccinia psidii*. *Fitopat. Bras.*, v. 8, p. 491-7, 1983.
- COELHO, L. *Variabilidade fisiológica de Puccinia psidii Winter – ferrugem do eucalipto*. Viçosa, 1988. 68 p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Viçosa.
- COFFEY, M.B. Obligate parasites of higher plants, particularly rust fungi. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, v. 29, p. 297-323, 1975.

- COUTINHO, L.N., FIGUEIREDO, M.B. Estudos sobre especializações fisiológicas em *Puccinia psidii* Winter. *Summa Phytopath.*, v. 10, p. 55-6, 1984a.
- COUTINHO, L.N., FIGUEIREDO, M.B. Efeito da temperatura na produção de uredosporos e teliosporos de *Puccinia psidii*. *Fitopat. Bras.*, v. 9, p. 326, 1984b.
- CUMMINS, G.E. Illustrated Genera of Rust Fungi. Minneapolis Burges Publ. Co., 131p., 1959.
- CUMMINS, G.E. Rust Fungi on Legumes and Compositae in North America. Tucson: Univ. Arizona Press., 1978, 424p.
- CUMMINS, G.E. & HIRATSUKA, Y. Illustrated Genera Rust Fungi. Revision Edition. Minnesota: Ed. The Am. Phytopath. Soc. St. Paul, 1983, 152p.
- 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.
- DARIO, P.W., DE VINCENZO, M.C., VEIGA, J.S., ADORYAN, M.L. Controle de *Puccinia psidii* em goiabeira com fungicida tebuconazole. *Fitopat. Bras.*, v. 20 (Supl.), p. 378, 1995.

DEMUNER, N.L., ALFENAS, A.C. Fungicidas sistêmicos para o controle da ferrugem, causada por *Puccinia psidii*, em *Eucalyptus cloëziana*. *Fitopat. Bras.*, v. 16, p. 174-7, 1991.

FERREIRA, F.A. Ferrugem do eucalipto – ocorrências, temperatura para germinação de uredosporos, produção de teliosporos, hospedeiro alternativo e resistência. *Fitopat. Bras.*, v. 6, p. 603-4, 1981.

FERREIRA, F.A. Ferrugem do eucalipto. *Revista Árvore*, v.7, p. 91-109, 1983.

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

FERREIRA, F.A., SILVA, A.R. Comportamento de procedências de *Eucalyptus grandis* e de *E. saligna* à ferrugem (*Puccinia psidii*). *Fitopat. Bras.*, v.7, p. 23-8, 1982.

FIGUEIREDO, M.B., APARECIDO, C.C. Capacidade de produção de basidiosporos por diferentes espécies de *Puccinia*. *Summa Phytopathol.*, v. 24, p. 61, 1998.

FIGUEIREDO, M.B., CARVALHO Jr., A..A. Efeito da lavagem dos soros na germinação dos soros telióides de *Puccinia pampeana*. *Summa Phytopathol.*, v. 20, p. 101-4, 1994.

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 Phytopatol.*, v. 21, p. 200-5, 1995.

FIGUEIREDO, M.B., COUTINHO, L.N. A germination chamber of obtaining pure basidiospores of rust fungi. In: SIMPÓSIO DAS FERRUGENS DO CAFEEIRO, 1984, Oeiras. *Anais. Portugal*, p. 61-5, 1984.

FIGUEIREDO, M.B., COUTINHO, L.N. Avaliação da capacidade de produção de basidiosporos pelos soros teliais de *Puccinia mogiphanes* Arthur. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 7, 1994, São Paulo. *Resumos*. São Paulo, 1994, p.26.

GALLI, F. Doenças da goiabeira. In: *Manual de Fitopatologia - Doenças das Plantas Cultivadas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980, p. 335-7.

GOLD, R.E. & MENDGEN, K. Activation of teliospore germination in *Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus*. I. Aging and Temperature. *Phytopath. Z.*, v. 108, p. 267-280, 1983.

HENNEN, J.F., HENNEN, M., FIGUEIREDO, M.B. Índice das ferrugens (Uredinales) do Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, v. 49 (Supl.), 201 p. 1982.

HOTSON, H.H., CUTTER JR., V.M. The isolation and culture of *Gymnosporangium juniperi-virginianae* Schw. *Proceedings Nacional Academy of Sciences*, v. 27, p. 400-3, 1951.

JOFFILY, J. Ferrugem do eucalipto. *Bragantia*, v. 4, p. 475-87, 1944.

JUNQUEIRA, N.T.V., CHAVES, G.M., ZAMBOLIM, L., GASPAROTTO, L. Variabilidade fisiológica de *Microcyclus ulei*, agente etiológico do mal das folhas da seringueira. *Fitopat. Bras.*, v. 9, p. 358, 1984.

JUNQUEIRA, N.T.V., FIALHO, J.F., RAMOS, V.H.V., LEÃO, A.J.P. Doenças e potencial de produção do araçá-boi (*Eugenia stipitata*) nos cerrados. *Fitopat. Bras.*, v. 22 (Supl.), p. 272, 1997.

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.

KUCK, K.H. Über dieinfektionsbedingten Veräderungen der Aminosäuren und Fettsäuren in *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici*, Rasse 32, infizierten Weizenblättern und die "in vitro" Sporulation des Pilzes. Aachen, 1979. Ph. D Thesis. Rheinisch- Westfälischen Technischen Hoschschule.

- MACLACHLAN, J.D. A rust of the pimento tree in Jamaica. *Phytopathology*, v. 28, p. 157-69, 1938.
- MACKO, V., STAPLES, R.C., YANIV, A., GRANADOS, R.R. *Self-inhibitors of fungal spore germination*. In: WEBER, P.I., HESS, W.M. (Eds.). *The fungal spore*. New York: John Wiley, 1976. p. 73-100.
- MACLEAN, D.J. Axenic culture and metabolism of rust fungi. In: SCOTT, K.J., CHAKRAVORTY, A.K. *The rust fungi*. Minnesota: Academic Press Inc. St. Paul, 1982. p. 37-120.
- MARLATT, R.B., KIMBROUGH, J.W. *Puccinia psidii* on *Pimenta dioica* in South Florida. *Plant Disease Reporter*, v. 63, p. 510-2, 1979.
- MARTINS, M.C., AMORIM, L. Caracterização fisiológica de *Tranzschelia discolor*. *Fitopat. Bras.*, v. 22(Supl.), p. 281, 1997.
- 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. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 62 (Supl.), p. 58, 1995.



- MORAES, T.S. de A., GONÇALVES, E.L., RESENDE, G.C. de, MENDES, J., SUITER, F.W. Evolução da ferrugem causada pela *Puccinia psidii* Winter em *Eucalyptus* spp. Dados preliminares. IPEF, *Circular Técnica*, v. 144, p. 1-12, 1982.
- MORICCA, S., RAGAZZI, A. Culture characteristics and variation of *Cronartium flaccidum* isolates. *Canadian Journal of Botany*, v. 74, p. 924-33, 1996.
- PEI, M.H., GIBBS, J.N. Axenic culture of *Peridermium pini* from single aeciospores. *Plant Pathology*, v. 41, p. 91-4, 1992.
- PIZA, S.M. de T., RIBEIRO, I.J.A. Influência da luz e da temperatura na germinação de uredosporos de *Puccinia psidii*. *Bragantia*, v. 47, p. 75-8, 1988.
- RODRIGUES Jr., C.J. Coffee rust races and resistance. In: *Coffee rust in the Americas*. Minnesota: The American Phytopathological Society, 1984, p. 41-58.
- RUIZ, R.A.R., ALFENAS, A.C. Absorção e translocação de fungicidas sistêmicos em *Eucalyptus grandis* para o controle da ferrugem do eucalipto, causada por *Puccinia psidii*. *Fitopat. Bras.*, v. 14, p. 47-9, 1989.
- RUIZ, R.A.R., ALFENAS, A.C., ZAMBOLIM, L. Efeito protetor e curativo de fungicidas para o controle de *Puccinia psidii* em *Eucalyptus grandis* e *Psidium guajava*. *Fitopat. Bras.*, v. 12, p. 129, 1987.

- RUIZ, R.A.R., ALFENAS, A.C., FERREIRA, F.A. Influência da temperatura, luz e origem do inóculo sobre a produção de uredosporos e teliosporos de *Puccinia psidii*. *Fitopat. Bras.*, v. 14, p. 70-3, 1989a.
- RUIZ, R.A.R., ALFENAS, A.C., FERREIRA, F.A., VALE, F.X.R. do. Influência da temperatura, do tempo de molhamento foliar, fotoperíodo e da intensidade de luz sobre a infecção de *Puccinia psidii* em eucalipto. *Fitopat. Bras.*, v. 14, p. 55-61, 1989b.
- RUIZ, R.A.R., ALFENAS, A.C., FERREIRA, F.A., MAFFIA, L. A., BARBOSA, M.M. Progresso da ferrugem do eucalipto, causada por *Puccinia psidii*, em condições de campo. *Fitopat. Bras.*, v. 14, p. 73-81, 1989c.
- SANTOS, A.F. dos, GASPAROTTO, L., FERREIRA, F.A. Araça-boi (*Eugenia stipitata*): um novo hospedeiro de *Puccinia psidii*. *Fitopat. Bras.*, v. 18 (Supl.), p. 328, 1993.
- SANTOS, C.C.F. dos, CASTRO, H.A., BETIOL, W., ANGELI JR., A. Sensibilidade “in vitro” de uredíniosporos de *Puccinia psidii* a *Bacillus subtilis*. *Summa Phytopat.*, v. 24, p. 183-5, 1998.
- SCOTT, K.J., MACLEAN, D.J. Culturing of Rust Fungi. *Ann. Rev. Phytopathol.*, v. 7, p. 123-46, 1969.

- SILVEIRA, V.D. Elementos de Fitopatologia: *Puccinia psidii*, ferrugem das Mirtáceas. *Agronomia*, v. 10, p. 218-24, 1951.
- SILVEIRA, S.F. da., ROCABADO, J.M.A., MOREIRA, A.H., SILVA, E.A. Ferrugem e escaldadura dos ramos da goiabeira no Norte Fluminense. *Fitopat. Bras.*, v. 22 (Supl.), p. 308, 1997.
- SOUZA, S.M.C de. Doenças de plantas – goiaba. *Inf. Agropec.*, v. 11, p. 26, 1985.
- SPEGAZZINI, C. Uredinales argentinas. *Ver. Arq. Bot.*, v. 1, p. 93-145, 1925. In: JOFFILY, J. Ferrugem do eucalipto. *Bragantia*, v. 4, p. 475-87, 1944.
- STAPLES, R.C., MACKO, V. Germination of urediniosporos and differentiation of infection structures. In: BUSHNELL, W.R. & ROELFS, A.P. *The Cereal Rusts – Origins, Specificity, Structure and Physiology*. New York: Academic Press, 1984. p. 255-89.
- TAKAHASHI, S.S., FURTADO, E.L., VALLE, C.F., BONINE, C.A.V. Ocorrência e evolução da ferrugem do eucalipto em duas regiões do Estado de São Paulo. *Fitopat. Bras.*, v. 22 (Supl.), p. 254, 1997a.

TAKAHASHI, S.S., FURTADO, E.L., CAMARGO, F.R.A., RAMIRO, G.A. Controle químico curativo da ferrugem do eucalipto na região do Vale do Paraíba – SP. *Fitopat. Bras.*, v. 22 (Supl.), p. 313, 1997b.

TAKAHASHI, S.S., FURTADO, E.L., CAMARGO, F.R.A., RAMIRO, G.A. Avaliação de clones e procedências de eucalipto à ferrugem na região do Vale do Paraíba – SP. *Fitopat. Bras.*, v. 22 (Supl.), p. 313-4, 1997c.

VALLE, L. A.C. do., ALFENAS, A.C., BROMMONSCHENKEL, S.H., BERTOLUCCI, F.L. Resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) em clones Elite de *Eucalyptus*. *Fitopat. Bras.*, v. 22 (Supl.), p. 317, 1997.

WICHMANN, R., BETTIOL, W. Efeito de *Bacillus subtilis* e vinagre para o controle da ferrugem da goiabeira (*Puccinia psidii*). *Fitopat. Bras.*, v. 19 (Supl.), p. 290, 1994.

WILLIAMS, P.G., SCOTT, K.J., KUHL, J.L. Vegetative growth of *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici* in vitro. *Phytopathology*, v. 56, p. 1418-9, 1966.

XAVIER, A.A., MATSUOKA, K., ALFENAS, A.C. Variabilidade fisiológica de *Puccinia psidii* em *Eucalyptus grandis*. *Fitopat. Bras.*, v. 25 (Supl.), p. 434, 2000.

YAMAOKA, Y., KATSUYA, K. Axenic culture of four *Melampsora* species parasitic on willows. *Transactions Mycological Society of Japan*, v. 25, p. 85-92, 1984a.

YAMAOKA, Y., KATSUYA, K. Study on axenic cultures of four *Melampsora chelidonii-pierotii*, *M. coleosporioides* and *Melampsoridium betulinum*. *Transactions Mycological Society of Japan*, v. 25, p. 435-44, 1984b.

YAMAOKA, Y., KATSUYA, K. Colony types isolated from axenic culture of six *Melampsora* species. *Transactions Mycological Society of Japan*, v. 25, p. 445-53, 1984c.

YAMAOKA, Y., KATSUYA, K. Axenic culture of *Pucciniastrum agrimoniae*, *P. boehmeriae* and *P. coryli*. *Transactions Mycological Society of Japan*, v. 28, p. 155-61, 1987.