

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU**

**CARACTERES ESTRUTURAIS E DIMENSÃO FRACTAL DA FOLHA DE
ESPÉCIES DE *Arachis* E SUA RELAÇÃO COM A CERCOSPORIOSE**

PABLO RODRIGUES SANINE

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências de Botucatu, da Universidade
Estadual Paulista – UNESP, para obtenção do
Título de Mestre em Ciências Biológicas
(Botânica), Área de Concentração: Morfologia e
Diversidade Vegetal

BOTUCATU – SP

2006

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU**

**CARACTERES ESTRUTURAIS E DIMENSÃO FRACTAL DA FOLHA DE
ESPÉCIES DE *Arachis* E SUA RELAÇÃO COM A CERCOSPORIOSE**

PABLO RODRIGUES SANINE

**Prof. Dr. Roberto Antonio Rodella
ORIENTADOR**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências de Botucatu, da Universidade
Estadual Paulista – UNESP, para obtenção do
Título de Mestre em Ciências Biológicas
(Botânica), Área de Concentração: Morfologia e
Diversidade Vegetal

BOTUCATU – SP

2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Sanine, Pablo Rodrigues.

Caracteres estruturais e dimensão fractal da folha de espécies de *Arachis* e sua relação com a cercosporiose / Pablo Rodrigues Sanine. – 2006.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2006.

Orientador: Roberto Antonio Rodella

Assunto CAPES: 20300000

1. Botânica 2. Amendoim – Anatomia 3. Fractais

CDD 581.4

Palavras-chave: Amendoim; Analise fractal; Análise multivariada; Anatomia foliar; *Cercosporidiun personatun*

SUMÁRIO

Dedicatória.....	I.
Agradecimentos.....	II.
Prefácio.....	III.
Resumo.....	V.
Summary.....	VI.
CAPITULO I - Estrutura Foliar e Cercosporiose do Amendoim: Uma Revisão.....	01.
Resumo.....	02.
Abstract.....	03.
Introdução.....	04.
Cercosporiose.....	06.
Estrutura foliar e Cercosporiose.....	08.
Referências Bibliográficas.....	11.
CAPITULO II - Morfologia Foliar de Espécies de Amendoim e Sua Relação Com a Mancha Preta.....	17.
Resumo.....	18.
Abstract.....	19.
Introdução.....	20.
Material e Métodos.....	23.
Resultados e Discussões.....	25.
Conclusões.....	30.
Referências Bibliográficas.....	31.
Quadro 1.....	36.
Quadro 2.....	37.
Figura 1.....	38.
Figura 2.....	39.
Figura 3.....	40.
CAPITULO III - Discriminação de Espécies de Amendoim (<i>Arachis</i> spp.) por meio da Análise Fractal de Caracteres Morfológicos Foliares.....	41.
Abstract.....	42.
Resumo.....	43.
Introdução.....	44.
Material e Métodos.....	47.
Resultados e Discussões.....	48.

Referências Bibliográficas.....	50.
Tabela 1.....	54.
Tabela 2.....	55.
Tabela 3.....	56.
Figuras 1-6.....	57.
Figuras 7-12.....	58.
Figuras 13-18.....	59.
Figuras 19-24.....	60.
Figuras 25-28.....	61.
Figura 29.....	62.
Figura 30.....	63.
Considerações Finais.....	64.

DEDICATÓRIA

À minha esposa e família
Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

À Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP), particularmente ao departamento de Botânica do Instituto de Biociências de Botucatu.

Ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo durante os dois anos de curso.

Ao Prof. Dr. Roberto Antonio Rodella pela confiança e orientação durante toda a realização dessa dissertação.

Ao Departamento de Genética do Instituto de Biociências de Botucatu, em especial aos amigos Waldemir Pinto de Oliveira e Dra. Tatiany Elizabeth Barata Pereira, Dra. Catalina Romero Lopes, Dr. Marcos Aparecido Gimenes, Dra. Andréia verônica Gobi e Dra. Paula Macedo Nobile.

Aos amigos do Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências de Botucatu, em Especial ao Dr. Ivan Amaral Guerrini, Dr. Anselmo José Spaddoto e a Cilene Padilha.

Aos grandes amigos. Alessandro, Alexandre, Rafael, Felipe, Maurício, Sergio, Mauro, Eduardo, Manuel, Marcelo, Marcos, peru, Fabrício, Neumárcio, Júlio Tattoo e Julião, Binhão, Emanuel, Mônica, Iara, Sandra, Luciana, Bruno, Budico e Patrícia.

Aos queridos colegas e professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Biociências de Botucatu.

PREFÁCIO

A produção mundial de amendoim (*Arachis hypogea* L.) em 2005 foi de aproximadamente 34,5 milhões de toneladas, o que faz dessa oleaginosa a quarta mais consumida no mundo. O Estado de São Paulo é responsável por 80% da produção brasileira (213.200 toneladas); entretanto, doenças da parte aérea, como a cercosporiose, são responsáveis por prejuízos de até 50% na produção de vagens, tornando indispensável o uso de fungicidas para o controle e obtenção de produções comercialmente satisfatórias.

Trabalhos realizados com a finalidade de investigar as prováveis fontes e mecanismos de resistência à cercosporiose revelam que as espécies silvestres apresentam genes úteis, os quais podem ser explorados e transferidos para as espécies cultivadas.

A resistência do amendoim às manchas foliares pode estar relacionada com características estruturais, que uma vez conhecidas, facilitam o processo de seleção de genótipos potencialmente resistentes para o uso no melhoramento.

A análise da Dimensão Fractal é utilizada para quantificar a complexidade das formas naturais e tem sido empregada com sucesso na identificação de diferentes espécies vegetais.

Considerando a importância da relação entre características estruturais foliares e a cercosporiose, bem como a aplicabilidade da análise da dimensão fractal na área da botânica, realizou-se o presente trabalho com o objetivo de quantificar caracteres estruturais do limbo em dois cultivares e quatro acessos de três espécies de *Arachis*, procurando relacioná-los com graus de resistência à cercosporiose.

A finalidade da presente dissertação de mestrado foi realizar uma revisão de literatura sobre as manchas foliares e os caracteres estruturais relacionados com a cercosporiose do amendoim; quantificar os caracteres estruturais do limbo foliar em dois cultivares e quatro acessos de três espécies de *Arachis*; determinar e analisar a Dimensão Fractal em folhas de dois cultivares e quatro acessos de três espécies de *Arachis*.

Para a melhor divulgação dos resultados desta dissertação de mestrado em Ciências Biológicas (Botânica), a mesma foi organizada no formato de artigos científicos. Desta forma, foram originados três capítulos distintos, os quais foram elaborados de acordo com as normas das respectivas revistas científicas, para serem enviadas para a publicação.

Capítulo 1 - revisão de literatura sobre estruturas foliares e cercosporiose, redigido de acordo com as normas da **Revista de Agricultura**, da Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), ESALQ-USP.

Capítulo 2 – quantificação de caracteres estruturais foliares de espécies de amendoim e sua relação com a cercosporiose, redigido conforme as normas da revista **Bragantia**, do Instituto Agronômico de Campinas (IAC) do Estado de São Paulo.

Capítulo 3 - determinação e análise da dimensão fractal dos caracteres morfológicos foliares de três espécies de *Arachis*, redigido segundo as normas da **Revista Brasileira de Botânica**, da Sociedade Botânica de São Paulo (SBSP); o trabalho foi enviado para publicação em fevereiro de 2006 e está protocolado na revista com o nº 26/06.

SANINE, P.R. **CARACTERES ESTRUTURAIS E DIMENSÃO FRACTAL DA FOLHA DE ESPÉCIES DE *Arachis* E SUA RELAÇÃO COM A CERCOSPORIOSE**. 2006. 67p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

RESUMO - O presente trabalho teve como objetivos quantificar caracteres estruturais do limbo foliar, em dois cultivares e quatro acessos de três espécies de *Arachis*, procurando relacioná-los com graus de resistência à cercosporiose, bem como discriminar esses indivíduos por meio da análise da dimensão fractal. Foram amostradas porções do terço médio da região internervural do terceiro ou quarto folíolo da segunda folha contada a partir do ápice, sendo as amostras infiltradas em historresina, seccionadas com 7 µm de espessura e coradas com azul de toluidina. Foram também realizadas impressões da epiderme, utilizando-se cola de secagem instantânea. Os caracteres quantificados foram: área da secção da região internervural; áreas e espessuras de epiderme das faces adaxial e abaxial, parênquima, hipoderme e mesofilo; área do complexo estomático; espessura da folha; porcentagens de epiderme das faces adaxial e abaxial, parênquima e hipoderme; números de tricomas, estômatos, cristais de oxalato de cálcio e idioblasto de mucilagem; e comprimento do ostíolo. Para a análise da dimensão fractal, utilizou-se folhas totalmente expandidas digitalizadas em imagens monocromáticas, determinando-se o valor da dimensão fractal do sistema foliar, limbo foliar, bordo foliar e sistema de venação, através do método “Box-Counting”. Os dados obtidos foram submetidos aos testes estatísticos multivariados de análise de agrupamento e análise de componentes principais. Verificou-se que os caracteres estruturais quantitativos do limbo foliar podem ser utilizados como indicadores de resistência à cercosporiose, em cultivares e acessos de diferentes espécies de *Arachis*. A análise da dimensão fractal dos caracteres morfológicos foliares e os caracteres estruturais quantitativos do limbo foliar, possibilitaram diferenciar *A. hypogaea*, *A. magna* e *A. stenosperma* entre si.

Palavras-chave: Amendoim; Analise fractal; Análise multivariada; Anatomia foliar; *Cercosporidium personatum*

STRUCTURAL CHARACTERES AND FRACTAL DIMENSION ON LEAF OF *Arachis* AND ITS RELATIONSHIP WITH LATE LEAFSPOT

ABSTRACT - The present work's objectives were to quantify leaf blade structural characters in two cultivars and four accessions of three *Arachis* species, in an attempt to associate them with different degrees of late leafspot resistance, as well as to discriminate those individuals by fractal dimension analysis. Portions from the middle third of the interveinal region of the third or fourth leaflets, in the second leaf counted from the apex were sampled. The samples were infiltrated in Histoiresin, sectioned at 7- μ m thickness, and stained with toluidine blue. Epidermal prints were also prepared using instant bonding glue. The following characters were quantified: cross section area of the interveinal region; area and thickness of the epidermal adaxial and abaxial surfaces, parenchyma, hypodermis, and mesophyll; stomatal complex area; leaf thickness; percentage values of the epidermal adaxial and abaxial surfaces, parenchyma, and hypodermis; number of trichomes, stomata, calcium oxalate crystals, and mucilage idioblasts; and ostiole length. Completely expanded leaves, digitized as monochromatic images, were used in the dimension fractal analysis. Values for the leaf system's fractal dimension, leaf blade, leaf margin, and venation system were determined by the Box-Counting method. The data thus obtained were submitted to Cluster Analysis and Principal Components Analysis multivariate statistical tests. It was observed that leaf blade quantitative structural characters can be used as late leafspot resistance indicators for cultivars and accessions of different *Arachis* species. The fractal dimension analysis of leaf morphological characters and leaf blade quantitative structural characters allowed *A. hypogaea*, *A. magna*, and *A. stenosperma* to be discriminated from one another.

Key words: Peanut; Analise fractal, multivariate analysis, leaf anatomy, *Cercosporidiun personatun*

CAPITULO I

ESTRUTURA FOLIAR E CERCOSPORIOSE DO AMENDOIM: UMA REVISÃO

RESUMO

A cercosporiose é uma doença causada pelo fungo *Cercosporidium personatum* (Berk & Curt.) Deighton, fase anamorfa do ascomicota *Mycosphaerella berkeleyii* W.A. Jenkins, sendo de grande importância na cultura do amendoim. No Brasil, os prejuízos que esta doença acarreta na produção chegam a 50%. Inúmeros trabalhos vêm sendo realizados intensivamente com a finalidade de investigar prováveis fontes e mecanismos de resistência à mancha preta do amendoim. Os estudos morfo-anatômicos visam caracterizar as estruturas que dificultam o estabelecimento da infecção, embora sejam poucos os trabalhos que relacionam a morfo-anatomia com a cercosporiose. As informações obtidas com estes estudos auxiliam na determinação dos tipos de resistência ocorrentes em um patossistema, e contribui com pesquisas aplicadas ao manejo da cercosporiose do amendoim.

Palavras-chave: cercosporiose do amendoim, *Cercosporidium personatum*, anatomia, *Mycosphaerella berkeleyii*, resistência.

LEAF STRUCTURE AND THE PEANUT LATE LEAFSPOT: A REVIEW

ABSTRACT

The late leafspot is a fungal disease caused by *Cercosporidium personatum* (Berk & Curt.) Deighton, the anamorph phase of the ascomycete *Mycosphaerella berkeleyi* W.A. Jenkins, and it is very important to peanut crop. In Brazil, it leads to damages until 50% in the yield. Several researches have intensively been published in order to investigate probable sources and resistance mechanisms to peanut late leafspot. The morphological and anatomical studies aimed to characterize the structures to reduce the infection, although few researches relate morphology and anatomy to late leafspot. The information obtained in these studies helps to determine the kinds of resistance in the pathosystem, and contributed with the research to late leafspot handling.

Key words: Peanut late leafspot, *Cercosporidium personatum*, anatomy, *Mycosphaerella berkeleyi*, resistance.

INTRODUÇÃO

O gênero *Arachis* com aproximadamente 81 espécies apresenta 48 restritas ao território brasileiro (Valls & Simpson, 1994; Jarvis *et al.*, 2003), sendo constituído pelas seções *Arachis*, *Caulorrhizae*, *Erectoides*, *Extranervosae*, *Heteranthae*, *Procumbentes*, *Rhizomatosae*, *Trirectoides* e *Triseminatae*, e pertencente à família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoideae*, tribo *Aeschynomeneae* e subtribo *Stylosanthinae* (Krapovickas & Gregory, 1994).

As espécies de amendoim ocorrem naturalmente na América do Sul, estendendo-se ao leste dos Andes, sul da Amazônia, norte da Planície Platina e noroeste da Argentina (Krapovickas & Gregory, 1994), apresentando espécies diplóides e tetraplóides (Conagin, 1963; Fernández & Krapovickas, 1994; Lavia, 1998).

De acordo com Krapovickas & Gregory (1994), as espécies de *Arachis* são autógamas, com fluxo gênico limitado a pequenas populações, não podendo dispersar suas sementes em um raio acima de um ou dois metros ao ano, a partir do local de germinação. Este gênero ocupa uma área de aproximadamente 4000 km de extensão envolvendo vários mecanismos na sua disseminação. A dispersão fluvial é bastante significativa, pois muitas espécies mostram-se associadas às bacias de grandes rios, à dispersão zoófila e à ação do homem, fixando as espécies nos novos locais de colonização.

A reprodução no gênero é sexuada, embora algumas espécies apresentam intensa propagação vegetativa por estolões (Simpson *et al.*, 1994).

Com produção anual superior a 34,5 milhões de toneladas (Agrianual, 2005), o amendoim (*Arachis hypogaea* L.) pode ser considerado a quarta oleaginosa mais plantada no mundo, devido ao fato de possuir grande quantidade de óleo e proteína, em torno de 45% e 20-25% respectivamente (Godoy *et al.*, 1999b), que podem ser extraídos de suas sementes, o que garante um grande consumo mundial dessa oleaginosa, na forma de óleos e pastas comestíveis ou para o consumo *in natura* (Hammons, 1994).

A produção brasileira de amendoim não chega a ser significativa mundialmente, ficando em torno de 213.200 toneladas por ano, porém muito significativa para o Estado de São Paulo, que é responsável por 80% dessa produção, ocupando uma área aproximada de 72,2 mil hectares (Agrianual, 2005), o que faz com que este se destaque como o maior produtor do país.

Um dos fatores limitantes da produtividade é a ocorrência de doenças da parte aérea, destacando-se, dentre elas a mancha preta (cercosporiose) causada pelo fungo conhecido como *Cercosporidium personatum* (Berk & Curt.) Deighton, considerada a mais severa das doenças do amendoim cultivado (Moraes *et al.*, 1988), podendo causar prejuízos de 10% a mais de 50% na produção de vagens (Porter *et al.*, 1982; Soares & Lima, 1991).

O uso de fungicidas para o controle é indispensável para obtenção de produções comercialmente satisfatórias (Gimenes-Fernandes *et al.*, 1983; Godoy *et al.*, 1983, 1999a; Moraes *et al.*, 1998, 2002), o que concorre grandemente para elevar o custo de produção da cultura (Porter *et al.*, 1982).

Subrahmanyam *et al.* (1985a) revisaram a literatura sobre as possíveis fontes de resistência a vários fungos, vírus e nematóides que infectam o amendoim silvestre.

Inúmeros trabalhos vêm sendo realizados intensivamente com a finalidade de investigar prováveis fontes e mecanismos de resistência à mancha preta do amendoim (Hemingway, 1957; Abdou *et al.*, 1974;

Moraes & Salgado, 1979a,b; Subrahmanyam *et al.*, 1982; Jackson, 1983; Moraes & Godoy, 1985a,b; Godoy & Moraes, 1987; Jogloy *et al.*, 1987; Branch & Culbreath, 1995).

A resistência de um hospedeiro, dentro do contexto da fisiologia do parasitismo, pode ser definida como a capacidade da planta de atrasar ou de evitar a entrada e/ou a subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos (Heitefuss & Williams, 1976; Goodman *et al.*, 1986), mostrando-se como regra, enquanto a suscetibilidade aos agentes fitopatogênicos mostra-se como a exceção (Ouchi & Oku, 1981; Kuc, 1987). Além disso, a resistência mostra-se como um sistema complexo, e o seu nível resulta do somatório das contribuições individuais de diferentes mecanismos de resistência (Bell, 1980; Misaghi, 1982; Kuc, 1987; Madamanchi & Kuc, 1991).

A resistência a *C. personatum* vem sendo avaliada no germoplasma de *A. hypogaea* mantido no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), SP. Moraes & Godoy (1985a) e Moraes *et al.* (1988) verificaram o potencial de alguns genótipos como fontes de resistência. Os cultivares IAC-Caiapó e IAC-Jumbo, de ciclo longo, com características do grupo Virgínia, são resistentes à mancha preta e são recomendados para as condições de cultivo do Estado de São Paulo, enquanto o cultivar Tatu, atualmente ainda o mais utilizado comercialmente, é suscetível a esta mesma doença (Moraes *et al.*, 1983; Godoy *et al.*, 1990, 1994).

Embora haja disponibilidade de acessos resistentes e suscetíveis de *A. hypogaea*, o melhoramento dos cultivares é dificultado, pois a resistência é determinada, em geral, por uma herança quantitativa e pelo fato do amendoim cultivado ser suscetível, simultaneamente, a várias doenças importantes (Moraes & Godoy, 1997).

Prestes & Goulart (1995) relatam que as espécies silvestres representam um verdadeiro reservatório de genes úteis, os quais podem ser explorados se transferidos para as espécies cultivadas. Entretanto, existem inúmeras barreiras que limitam essa hibridação, como a incompatibilidade entre espécies e a esterilidade e inviabilidade dos híbridos e suas progênes.

Nevill (1982) verificou a ocorrência de segregação de caracteres que possivelmente conferem resistência a *C. personatum* em populações F2 de espécies de *Arachis*, não constatando a segregação nas populações F3.

Uma das alternativas ao melhoramento seria a utilização de germoplasma que apresentem genes dominantes de resistência, como ocorrem nas espécies silvestres, os quais conferem resistência a duas ou mais doenças no mesmo genótipo, tornando-se provavelmente a alternativa para o sucesso do melhoramento (Lenné & Wood, 1991; Prestes & Goulart, 1995).

CERCOSPORIOSE

Conhecida vulgarmente como mancha preta, pinta preta, ‘viruela del mani’ ou ‘late leafspot’, a cercosporiose é uma doença causada pelo fungo *Cercosporidium personatum* (Berk & Curt.) Deighton [sinonímia: *Cercospora personata* (Berk & Curt.) Ell. & Ev.], fase anamorfa do ascomiceto *Mycosphaerella berkeleyi* W.A. Jenkins, pertencente à ordem Moniliales e à família Dematiaceae (Moraes & Godoy, 1997), sendo considerada em todas as regiões produtoras de amendoim como a doença fúngica mais importante dessa cultura (Moraes *et al.*, 1988).

Sendo particularmente patogênica ao gênero *Arachis*, ocorrendo tanto no amendoim cultivado (*A. hypogaea*) como em espécies silvestres, a cercosporiose caracteriza-se por formar lesões circulares, com 1-7mm de diâmetro, de coloração marrom escura na face adaxial do limbo foliar, podendo ou não ser circundada por um pequeno halo, e na face abaxial da folha apresenta coloração preta (Barreto, 1997).

A formação dos conídios é anfígena, porém concentrada na face abaxial em numerosos conidióforos que se apresentam muitas vezes em círculos concêntricos nas lesões, conferindo a coloração escura às mesmas, sendo responsáveis pela redução da fotossíntese e por intensa e prematura queda de folhas (Gerlagh & Bokdam, 1973; Moraes & Godoy, 1997).

As principais fontes de inóculo iniciais do fungo são os restos de cultura no solo, onde os conídios são disseminados a curta distancia pelo vento ou por gotas de água, dando início às infecções primárias. Os esporos produzidos nessas infecções são disseminados principalmente pela chuva, conduzindo a ciclos secundários de infecção, com a formação de haustórios intercelulares pelo *C. personatum* (Porter *et al.*, 1982).

Comparando-se a intensidade da mancha preta no amendoim ‘Tatu’ (*A. hypogaea*) em relação à precipitação pluviométrica, Pezzopane *et al.* (1996) concluíram que dias de chuva, excedendo o limite mínimo de 2,5mm, mostraram as melhores estimativas de intensidade de mancha preta.

Estudos de epidemiologia e progresso da cercosporiose têm sido realizados em condições de laboratório e campo, em genótipos de *A. hypogaea* com diferentes níveis de resistência (Mallaiah & Rao, 1978; Foster *et al.*, 1980; Cole, 1982; Johnson *et al.*, 1986; Moraes *et al.*, 1988; Anderson *et al.*, 1993; Waliyar *et al.*, 1995; Almeida *et al.*, 2000; Dwivedi *et al.*, 2002).

Moraes *et al.* (1994) descreveram os cultivares 850 e Tatu de *A. hypogaea* como sendo altamente resistentes e suscetíveis, respectivamente, à cercosporiose.

Abdou *et al.* (1974) relataram a ocorrência de imunidade e alta resistência em 94 acessos de espécies de *Arachis* à *C. arachidicola* e *C. personatum* em condições de laboratório. A resistência foi avaliada através de medidas do número de lesões por folíolo, diâmetro da lesão, porcentagem da área da injúria, porcentagem de desfolhação e número de esporulação.

Moraes & Salgado (1982), visando padronizar a metodologia da técnica de folhas destacadas de plantas de amendoim, observaram que a inoculação na face adaxial das folhas destacadas possibilitou o aparecimento de maior número de lesões de *C. arachidicola* e *C. personatum*, independente das concentrações de esporos utilizados.

Estudando as reações de *C. arachidicola* e *C. personata*, em casa de vegetação e em folhas destacadas de cultivares de amendoim, Moraes & Salgado (1979b, 1983) verificaram a alta suscetibilidade do cultivar Tatu à mancha castanha e à mancha preta, apesar de sua alta produtividade.

Pedro Jr. *et al.* (1994) estudaram a necessidade de fungicidas para o controle da mancha preta e de outras doenças foliares do amendoim no Estado de São Paulo, e relataram a possibilidade de redução do uso de fungicidas para o cultivar Tatu.

De acordo com Moraes *et al.* (2001), foram estabelecidas medidas de manejo integrado da mancha preta e verrugose do amendoim, por meio do monitoramento da incidência e severidade de cada doença, identificando quando pulverizar, o tipo de fungicida ou a alternância entre fungicidas de proteção e de ação sistêmica.

Moraes & Salgado (1979a), avaliando a resistência de *A. hypogaea* a *C. arachidicola*, quanto à idade da planta e concentração do inóculo na manifestação dos sintomas, constataram que plantas de amendoins mais jovens, com 15 dias, apresentaram menor número de lesões e diâmetro da área infectada.

Foster *et al.* (1981), avaliando 16 linhagens de *A. hypogaea* e 9 espécies silvestres do gênero *Arachis*, para resistência a *C. arachidicola*, concluíram que o número de lesões na folha e a porcentagem de desfolhação foram muito úteis para a classificação do grau de resistência dessas plantas ao fungo, e que as espécies silvestres *A. chacoense* e *A. stenosperma* apresentaram-se como altamente resistentes a *C. arachidicola*.

Ketring & Melouk (1982) demonstraram que dois cultivares de amendoim inoculados com *C. arachidicola* produziram etileno, aumentando a abscisão foliar, enquanto espécies silvestres imunes produziram baixos níveis de etileno e mantiveram suas folhas.

Edwards *et al.* (1995) observaram acúmulo de fitoalexinas isoflavônicas em folhas de amendoim infectadas por *Puccinia arachidis* e *C. arachidicola*.

Subrahmanyam *et al.* (1985b) relataram a resistência de várias espécies de diferentes seções de amendoim silvestre a *C. personatum*, destacando a espécie *A. stenosperma* Krapov. & W.C. Gregory como resistente ao fungo.

No trabalho de Nevill (1979) não foram observadas lesões em espécies de *A. chacoense* e *A. stenosperma*, inoculadas com *C. personatum*, sendo sugeridas essas espécies para o melhoramento do amendoim cultivado.

Correlações genéticas para seleção de plantas de amendoim (*A. hypogaea*), visando aumentar o rendimento de óleos, proteínas e a resistência a cercosporioses, foram realizadas por Hamid *et al.* (1981). Esses autores recomendaram a utilização dos cultivares Florigiant e NC5 no melhoramento do amendoim, com a finalidade de aumentar a resistência à cercosporiose.

ESTRUTURA FOLIAR E CERCOSPORIOSE

Para o melhor entendimento dos mecanismos ocorrentes nos diversos patossistemas, os estudos morfo-anatômicos relacionados com a Fitopatologia apresentam fundamental importância, sendo estes responsáveis pelos diversos graus de resistência e suscetibilidade às doenças vegetais.

De acordo com Alzete-Marin *et al.* (1997), as interações em um patossistema se estabelecem por meio de uma coevolução entre o fitopatógeno e a planta hospedeira. Enquanto a espécie vegetal tenta através de diferentes estratégias inibir o ataque do patógeno, este procura de diversas formas desenvolver uma interação compatível com a planta (Balardin, 2001).

Segundo Pascholati & Leite (1995) as plantas desenvolveram mecanismos de defesa contra os fitopatógenos, os quais respondem imediatamente após a presença destes organismos nos tecidos hospedeiros. Desta forma, vários eventos bioquímicos e estruturais, que ocorrem simultaneamente no processo de defesa, propiciam resistência às doenças vegetais.

Aist (1983) relata que as respostas estruturais desenvolvidas pelo tecido hospedeiro em relação ao ataque patogênico são caracterizadas principalmente por deposição de carboidratos, suberinas e compostos fenólicos nas paredes celulares; quando esta modificação ocorre em várias células, forma-se uma barreira tecidual ao progresso do patógeno na planta hospedeira.

A resistência do amendoim às manchas foliares pode ser atribuída, de acordo com McDonald *et al.* (1985), a certas características estruturais e a alguns constituintes químicos presentes nas folhas. Estes atuam retardando a germinação dos conídios, prolongando os períodos de latência e incubação, diminuindo assim o número de lesões por unidade de área foliar, a desfolhação e a esporulação do fungo.

De acordo com Metcalfe & Chalk (1957), as folhas de plantas de amendoim (*Arachis* sp.) são anfiestomáticas, com mesofilo rico em cristais e formado por células pequenas contendo clorofila e conteúdos taniníferos. O mesofilo é constituído pelos parênquimas paliádico e lacunoso, e pela hipoderme, a qual é formada por células armazenadoras de água, conforme descrito por Kumari *et al.* (1983). Células de mucilagem e tricomas tectores são encontrados na epiderme da face adaxial, e a hipoderme localiza-se na face abaxial. As nervuras podem ou não apresentar esclerênquima.

A resistência está relacionada com a inabilidade do hospedeiro em satisfazer as exigências nutricionais, e com a presença de substâncias tóxicas ao patógeno que ocorrem naturalmente, ou como resposta à infecção (Martin, 1964; Pascholati & Leite, 1994).

A existência de barreiras físicas à penetração dos fungos, como é o caso de cutícula e tricomas, também pode relacionar-se com a resistência; aberturas naturais nessas barreiras, como os estômatos e ferimentos, podem facilitar a entrada do patógeno (Martin, 1964; Kolattukudy & Köller, 1983; Veiga *et al.*, 1994; Amorim, 1995; Agrios, 1997; Pascholati *et al.*, 1998).

Marschner (1997) relatou os efeitos do estado nutricional da planta nos mecanismos de defesa contra doenças fúngicas, descrevendo que plantas com adequado estado nutricional apresentavam cutícula mais espessada, lignificação de células epidérmicas e formação de compostos fenólicos, características estas consideradas como mecanismos de resistência.

Hemingway (1957), Abdou (1966) e Veiga *et al.* (1994) verificaram que espécies de *Arachis* resistentes às manchas foliares apresentaram maior espessura foliar e coloração mais escura das folhas, em relação às

plantas suscetíveis. Hemingway (1957), Mazzani *et al.* (1972) e Veiga *et al.* (1994) também constataram, em plantas resistentes, a ocorrência de maior desenvolvimento de tecido parênquimático paliçádico.

Comparando-se a anatomia foliar de espécies silvestres com a de variedades cultivadas do gênero *Arachis*, Kumari *et al.* (1983) observaram maior tamanho dos estômatos na face adaxial da folha, bem como maior número de tricomas e comprimento dos estômatos na face abaxial; entretanto, não constataram diferenças significativas, quanto a esses caracteres estruturais, entre as espécies silvestres e as variedades estudadas.

Com relação aos estômatos, Amorim (1995) afirmou que essas estruturas são as principais vias de penetração dos fungos fitopatogênicos.

Veiga *et al.* (1992), estudando a morfologia dos estômatos em cultivares de amendoim, descreveram que plantas de *A. hypogaea* resistentes a cinco moléstias fúngicas foliares, dentre elas as cercosporioses, apresentaram menores valores de largura do estômato e de índice estomático. Resultados semelhantes foram também verificados por Hemingway (1957) e Abdou (1966). Entretanto, Hassan & Beute (1977) e Cook (1981) não encontraram relação entre o tamanho dos estômatos e a resistência à cercosporiose.

Abdou (1966) observou que folhas novas de plantas de amendoim suscetíveis às cercosporioses foram imunes às infecções por *C. arachidicola* e *C. personata*, diminuindo a imunidade após 3-4 dias em função da maturidade dos estômatos.

Abdou (1966) cita que, provavelmente, exista uma determinada substância do hospedeiro que, em contato com o estômato aberto, se dissolve em um filme de água na superfície da folha, estimulando, conseqüentemente, o crescimento do tubo germinativo do fungo na direção dos estômatos. Sugere também que plantas de amendoim imunes ou de suscetibilidades diferentes podem possuir substâncias diferencialmente atrativas, para o crescimento dos tubos germinativos.

Torres & Martínez (1992a), trabalhando com cultivares de *A. hypogaea* em condições de laboratório, também observaram que a direção de crescimento dos tubos germinativos de *C. arachidicola* parecia ser determinada por algum estímulo proveniente dos estômatos. Os tubos germinativos penetravam nos ostíolos e em outros casos, passavam por cima dos estômatos e penetravam de forma direta através das paredes periclinais das células epidérmicas, entre as paredes anticlinais de duas células vizinhas, e em locais onde se encontravam cristais de oxalato de cálcio. Entretanto, Veiga *et al.* (1994) constataram, em cultivar resistente à cercosporiose, menor frequência de idioblastos cristalíferos e maior de idioblastos de mucilagem na face adaxial do limbo foliar, bem como maior frequência de idioblastos cristalíferos na face abaxial da epiderme.

Alabi & Naqvi (1977) mostraram que *C. arachidicola* produzia enzimas celulolíticas e pectolíticas *in vitro*, as quais induziriam a degradação dos tecidos foliares, facilitando a penetração dos tubos germinativos.

Mauseth (1995) relatou que a presença de compostos fenólicos pode inibir as enzimas digestivas e degradadoras dos fungos, impedindo desta forma a colonização dos tecidos vegetais. Veiga *et al.* (1994) verificaram, em cultivar de *A. hypogaea* resistente à cercosporiose, a presença de maior número de idioblastos taniníferos em relação ao cultivar suscetível.

Abdou *et al.* (1974) observaram que, após a penetração por *C. arachidicola*, as células ao redor do sítio de penetração apresentaram citoplasma denso, granuloso e com tecido fortemente colorido; em seguida, ocorreu a ramificação e proliferação do micélio do fungo, causando o colapso celular. Resultados semelhantes foram descritos por Torres & Martínez, (1992b), em estudos histopatológicos realizados em folhas de amendoim

atacado por *C. arachidicola*; esses autores relataram que as mudanças mais evidentes induzidas por este patógeno ocorreram nos tecidos hipodérmicos e clorenquimáticos da folha.

Outra estrutura anatômica que parece estar relacionada com a resistência às manchas foliares, em especial à cercosporiose, é a hipoderme. Hemingway (1957) descreve que as células armazenadoras de água, localizadas abaixo da epiderme foliar, as quais constituem a hipoderme, seriam inadequadas ao estabelecimento do fungo. Desta forma, a hipoderme, possivelmente, estaria comportando-se como uma barreira física, caso o *C. personatum* consiga penetrar seu tubo germinativo através da cutícula e da epiderme. Essas observações estão de acordo com as constatações feitas por Veiga *et al.* (1994), em plantas de *Arachis* resistentes a cercosporioses, as quais apresentaram hipoderme mais espessa no limbo foliar, em relação às plantas suscetíveis.

Assim sendo, a presente revisão evidencia a evolução dos estudos referentes aos processos de resistência à cercosporiose do amendoim. Estudos morfo-anatômicos sobre este assunto ainda são escassos; entretanto, o conhecimento dos caracteres estruturais foliares pode contribuir para o melhor conhecimento dos mecanismos físicos de resistência envolvidos no patossistema, bem como auxiliar no controle da doença e no melhoramento de plantas de amendoim cultivado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOU, Y.A.M. 1966. **The source and nature of resistance in *Arachis* L. species to *Mycosphaerella arachidicola* Jenk and *Mycosphaerella berkeleyi* Jenk, and factores influencing sporulation of these fungi.** Raleigh: North Carolina State University, 118p. (Ph. D. Thesis).
- ABDOU, Y.A.M.; GREGORY, W.C.; COOPER, W.E. 1974. Sources and nature of resistance to *Cercospora arachidicola* Hori and *Cercosporidium personatum* (Berk. & Curt) Deighton in *Arachis* species. **Peanut Science**, v.1, n.1, p.6-11.
- AGRIANUAL. 2005. Amendoim. **FNP Consultoria & AgroInformativos**, p.207-210.
- AGRIOS, G.N. 1997. **Plant Pathology**. 4.ed. California: Academic Press, p.93-114.
- AIST, J.R. 1983. Structure response as resistance mechanisms. In: BAILEY, J.A.; DEVERALL, B.J. **The dynamics of host defense**. Sydney: Academic Press, p.33-70.
- ALABI, R.O.; NAQVI, H.Z. 1977. Production of cellulolytic and pectolytic enzymes by *Cercospora arachidicola*, **Transactions of the British Mycological Society**, v.68, n.2, p.296-298.
- ALMEIDA, A.M.; NAKAGAWA, J.; GARCIA, M.J.M. 2000. Reação de populações de amendoim à mancha preta. **Summa Phytopathologica**, v.26, n.2, p.227-233.
- ALZETE-MARIN, A.L.; BAIA, G.S.; BARROS, E.G.; CARVALHO, G.A.; FALEIRO, F.G.; MOREIRA, M.A.; PAULA JR., T.J. 1997. Análise da diversidade genética de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões do Brasil por marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.1, p.85-88.
- ANDERSON, W.F.; HOLBROOK, C.C.; BRENNEMAN, T.B. 1993. Resistance to *Cercosporidium personatum* within peanut germoplasm. **Peanut Science**, v.20, p.53-57.
- AMORIM, L. 1995. Infecção. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3.ed., São Paulo: Ceres, p.295-308.
- BALARDIN, R.S. 2001. Coevolução entre plantas e patógenos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, n.9, p.159-176.
- BARRETO, M. 1997. Doenças do amendoim (*Arachis hypogaea* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas**, 3.ed., São Paulo: Ceres, p. 65-77.
- BELL, A.A. 1980. The time sequence of defense. In: HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. **Plant disease: An advanced treatise, How plants defend themselves**. New York: Academic Press, v.5, p.53-73.
- BRANCH, W.D.; CULBREATH, A.K. 1995. Combination of early maturity and leaf spot tolerance within an advanced Georgia peanut breeding line. **Peanut Science**, v.22, p.106-108.
- COLE, D.L. 1982. Interactions between *Cercospora arachidicola* and *Phoma arachidicola*, and their effects on defoliation and kernel yield of groundnut. **Plant Pathology**, v.31, p.355-362.
- CONAGIN, C.H.T.M. 1963. Número de cromossômios das espécies selvagens de *Arachis*. **Bragantia**, v.22, n.11, p.125-129.
- COOK, M. 1981. Susceptibility of peanut leaves to *Cercosporidium personatum*. **Phytopathology**, v.71, n.8, p.787-791.

- DWIVEDI, S.L.; PANDE, S.; RAO, J.N.; NIGAM, S.N. 2002. Components of resistance to late leafspot and rust among interspecific derivatives and their significance in a foliar disease resistance breeding in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Euphytica**, v.125, p.81-88.
- EDWARDS, C.; STRANGE, R.N.; COLE, D.L. 1995. Accumulation of isoflavanoid phytoalexins in leaves of *Arachis* differing in reaction to rust (*Puccinia arachidis*) and early leafspot (*Cercospora arachidicola*). **Plant Pathology**, v.44, p.573-579.
- FERNÁNDEZ, A.; KRAPOVICKAS, A. 1994. Cromosomas y evolución en *Arachis* (Leguminosae). **Bonplandia**, v.8, p.187-220.
- FOSTER, D.J.; STALKER, H.T.; WYNNE, J.C.; BEUTE, M.K. 1981. Resistance of *Arachis hypogaea* L. and wild relatives to *Cercospora arachidicola* Hori. **Oléagineux**, v.36, n.3, p.139-143.
- FOSTER, D.J.; WYNNE, J.C.; BEUTE, M.K. 1980. Evaluation of detached leaf culture for screening peanuts for leafspot resistance. **Peanut Science**, v.7, p.98-100.
- GERLAGH, M.; BOKDAM, M. 1973. La production de l'arachide en fonction de la réduction de la photosynthèse par la cercosporiose ou ses simulations. **Oléagineux**, v.28, n.7, p.347-350.
- GIMENES-FERNANDES, N.; BARRETO, M.; PERECIN, D. 1983. Controle das cercosporioses e da mancha barrenta do amendoim: avaliação de fungicidas e influência na produtividade. **Summa Phytopathologica**, v.9, p.186-195.
- GODOY, I.J.; GIMENES-FERNANDES, N.; KRONKA, S.N. 1983. Controle das doenças foliares do amendoim: eficiência de fungicidas e influência na produtividade. **Summa Phytopathologica**, v.9, p.196-206.
- GODOY, I.J.; MORAES, S.A. 1987. Herança da resistência a *Cercosporidium personatum* e correlação com caracteres agronômicos em cruzamentos intra-específicos de amendoim. **Fitopatologia Brasileira**, v.12, n.3, p.245-250.
- GODOY, I.J.; MORAES, S.A.; MARTINS, A.L.M.; PEREIRA, J.C.V.N.A. 1994. Resistência e tolerância de linhagens e cultivares de amendoim à ferrugem (*Puccinia arachidis*). **Fitopatologia Brasileira**, v.19, n.4, p.524-531.
- GODOY, I.J.; MORAES, S.A.; MARTINS, A.L.M.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; VEIGA, R.F.A. 1990. Avaliação do potencial agronômico de introduções de amendoim com vistas ao melhoramento genético. **Bragantia**, v.49, n.1, p.127-140.
- GODOY, I.J.; MORAES, S.A.; SIQUEIRA, W.J.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; MARTINS, A.L.M.; PAULO, E.D. 1999a. Produtividade, estabilidade e adaptabilidade de cultivares de amendoim em três níveis de controle de doenças foliares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.7, p.1183-1191.
- GODOY, I.J.; MORAES, S.A.; ZANOTTO, M.D.; SANTOS, R.C. 1999b. Melhoramento do amendoim. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, p.51-94.
- GOODMAN, R.N.; KIRÁLY, Z.; WOOD, K.R. 1986. **The biochemistry and physiology of plant disease**. Columbia: University of Missouri Press, 433p.
- HAMID, M.A.; ISLEIB, T.G.; WYNNE, J.C.; GREEN, C.C. 1981. Combining ability analysis of *Cercospora* leafspot resistance and agronomic traits in *Arachis hypogaea* L. **Oléagineux**, v.36, n.12, p.605-612.

- HAMMONS, R.O. 1994. The origin and history of the groundnut. In: SMARTT, J. **The Groundnut Crop: A scientific basis for improvement**. London: Chapman & Hall, p.24-42.
- HASSAN, H.N.; BEUTE, M.K. 1977. Evaluation of resistance to cercospora leafspot in peanut germoplasm potentially useful in a breeding program. **Peanut Science**, v.4, p.78-83.
- HEITEFUSS, R.; WILLIAMS, P.H. 1976. **Encyclopedia of Plant Physiology**. v.4. New York: Springer-Verlag, 890p.
- HEMINGWAY, J.S. 1957. The resistance of groundnuts to *Cercospora* leafspots. **Empire Journal Experimental Agriculture**, v.25, n.97, p.60-68.
- JACKSON, L.F. 1983. Relative susceptibilities of component lines of peanut cultivars early bunch and florunner to early and late leafspot. **Peanut Science**, v.10, p.3-5.
- JARVIS, A.; FERGUSON, M.E.; WILLIAMS, D.E.; GUARINO, L.; JONES, P.G.; STALKER, H.T.; VALLS, J.F.M.; PITTMAN, R.N.; SIMPSON, C.E.; BRAMEL, P. 2003. Biogeography of wild *Arachis* assessing conservation status and setting future priorities. **Crop Science**, v.43, p.1100-1108.
- JOGLOY, S.; WYNNE, J.C.; BEUTE, M.K. 1987. Inheritance of late leafspot resistance and agronomic traits in peanut. **Peanut Science**, v.14, p.86-90.
- JOHNSON, C.S.; BEUTE, M.K.; RICKER, M.D. 1986. Relationship between components of resistance and disease progress of early leafspot on virginia-type peanut. **Phytopathology**, v.76, n.5, p.495-499.
- KETRING, D.; MELOUK, H. 1982. Ethylene production and leaflet abscission of three peanut genotypes infected with *Cercospora arachidicola*. **Plant Physiology**, v.69, p.789-792.
- KOLATTUKUDY, P.E.; KÖLLER, W. 1983. Fungal penetration of the first line defensive barriers of plants. In: ALLOW, J.A. **Biochemical Plant Pathology**. Chichester: John Wiley & Sons, p.70-100.
- KRAPOVICKAS, A.; GREGORY, W. C. 1994. Taxonomia del género *Arachis* (Leguminosae). **Bonplandia**, v.8, n. 1-4, p. 1-186.
- KUC, J. 1987. Plant immunization and its applicability for disease control. In: CHET, J. **Innovative approaches to plant disease control**. New York: John Wiley & Sons, p.255-274.
- KUMARI, D.S.; SESHAVATHARAM, V.; MURTY, U.R. 1983. Comparative leaf anatomy of the wild species and cultivated varieties of the genus *Arachis*. **Oléagineux**, v.38, n.1, p.27-40.
- LAVIA, G.I. 1998. Karyotypes of *Arachis palustris* and *A. praecox* (Section *Arachis*), two species with basic chromosome number $x=9$. **Cytologia**, v.63, p.177-181.
- LENNÉ, J.M.; WOOD, D. 1991. Plant diseases and the use of wild germoplasm. In: COOK, R.J.; ZENTMYER, G.A.; COWLING, E.B. **Annual Review of Phytopathology**, v.29. California: Annual Reviews Inc., p.35-63.
- MADAMANCHI, N.R.; KUC, J. 1991. Induced systemic resistance in plants. In: COLE, G.T.; HOCH, H.C. **The fungal spore and disease initiation in plants and animals**. New York: Plenum Press, p.347-362.
- MALLAIAH, K.V.; RAO, A.S. 1979. Groundnut rust: factors influencing disease development, sporulation and germination of uredospores. **Indian Phytopathology**, v.32, p.382-388.
- MARSCHNER, H. 1997. **Mineral nutrition of higher plants**. 2ed. London: Academic Press, 889p.
- MARTIN, J.T. 1964. Role of cuticle in the defense against plant disease. In: HORSFALL, J.G.; BAKER, K.F. **Annual Review of Phytopathology**, California: Annual Reviews Inc., v.2, p.81-100.

- MAUSETH, J.D. 1995. **Botany: An Introduction to Plant Biology**. 2.ed. San Marino/California: Saunders College Publishing, p.542-574.
- MAZZANI, B.; ALLIEVI, J.; BRAVO, P. 1972. Relación entre la incidencia de manchas foliares por *Cercospora* spp. y algunas características varietales del maní. **Agronomía Tropical**, v.22, n.2, p.119-132.
- McDONALD, D.; SUBRAHMANYAM, P.; GIBBONS, R.W.; SMITH, D.H. 1985. Early and late leafspot of groundnut. **ICRISAT: Information Bulletin**, v.21, 19 p.
- METCALFE, C.R.; CHALK, L. 1957. **Anatomy of the dicotyledons**. v.1. Oxford: Clarendon Press, p.502-511.
- MISAGHI, I.J. 1982. **Physiology and biochemistry of plant-pathogen interactions**. New York: Plenum Press, 287p.
- MORAES, S.A.; GODOY, I.J. 1985a. Diferentes níveis de resistência a *Cercosporidium personatum* em genótipos de *Arachis hypogaea*. **Summa Phytopathologica**, v.11, n.3/4, p.74-86.
- MORAES, S.A.; GODOY, I.J. 1985b. Avaliação da resistência a *Cercosporidium personatum* em genótipos de *Arachis hypogaea*. **Summa Phytopathologica**, v.11, n.3/4, p.140-151.
- MORAES, S.A.; GODOY, I.J. 1997. Amendoim (*Arachis hypogaea* L.) - Controle de doenças. In: VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. **Controle de Doenças de Plantas: grandes culturas**, Viçosa: UFV, p.1-49.
- MORAES, S.A.; GODOY, I.J.; GERIN, M.A.N. 1983. Avaliação da resistência de *Arachis hypogaea* a *Puccinia arachidis*, *Sphaceloma arachidis* e *Phoma arachidicola*. **Fitopatologia Brasileira**, v.8, p.499-506.
- MORAES, S.A.; GODOY, I.J.; GERIN, M.A.N.; PEDRO JR., M.J.; PEREIRA, J.C.V.N.A. 1988. Epidemiologia de *Cercosporidium personatum* em genótipos de amendoim. **Fitopatologia Brasileira**, v.13, n.3, p.255-260.
- MORAES, S.A.; GODOY, I.J.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; MARTINS, A.L.M. 2002. Sistema de aviso para o controle de mancha preta do amendoim cultivar IAC-Caiapó baseado na precipitação pluvial. **Summa Phytopathologica**, v.28, n.3, p.229-235.
- MORAES, S.A.; GODOY, I.J.; PEZZOPANE, J.R.M.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; SILVEIRA, L.C.P. 1998. Desempenho dos cultivares de amendoim Tatu e IAC-Caiapó em diversos níveis de controle da mancha preta. **Summa Phytopathologica**, v.24, n.2, p.125-130.
- MORAES, S.A.; GODOY, I.J.; PEZZOPANE, J.R.M.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; SILVEIRA, L.C.P. 2001. Eficiência de fungicidas no controle da mancha preta e verrugose do amendoim por método de monitoramento. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, n.2, p.134-140.
- MORAES, S.A.; MARTINS, A.L.M.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; PEDRO JR., M.J. 1994. Epidemiologia da mancha preta (*Cercosporidium personatum*) em amendoim: resistência, controle químico e progresso da doença. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, n.4, p.532-540.
- MORAES, S.A.; SALGADO, C.L. 1979a. Esporulação de *Cercospora arachidicola* Hori em meio de cultura. **Summa Phytopathologica**, v.5, n.1, p.65-74.
- MORAES, S.A.; SALGADO, C.L. 1979b. Avaliação da resistência a *Cercospora arachidicola* Hori em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Fitopatologia Brasileira**, v.14, n.2, p.65-72.
- MORAES, S.A.; SALGADO, C.L. 1982. Utilização da técnica de folhas destacadas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) para inoculações com *Cercospora arachidicola* Hori e *Cercospora personata* (Berk & Curt.) Ell. & Ev. **Summa Phytopathologica**, v.8, p.39-55.

- MORAES, S.A.; SALGADO, C.L. 1983. Reações de seis cultivares de amendoim (*Arachis hypogaea*) a *Cercospora arachidicola* e *C. personata* em folhas destacadas. **Fitopatologia Brasileira**, v.8, p.291-303.
- NEVILL, D.J. 1979. An investigation of the disease reaction to *Cercosporidium personatum* in *Arachis hypogaea*. **Tropical Grain Legume Bulletin**, v.15, p.18-22.
- NEVILL, D.J. 1982. Inheritance of resistance to *Cercosporidium personatum* in groundnuts: a genetic model and its implications for selection. **Oléagineux**, v.37, n.7, p.355-366.
- OUCHI, S.; OKU, H. 1981. Susceptibility as a process induced by pathogens. In: STAPLES, R.C.; TOENNIESSEN, G.H. **Plant disease control: Resistance and susceptibility**. New York: John Wiley & Sons, p.33-44.
- PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. 1995. Hospedeiro: Mecanismo de Resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3.ed., São Paulo: Ceres, p.417-453.
- PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. 1994. Mecanismos Bioquímicos de Resistência às Doenças. **Revisão Anual de Fitopatologia de Plantas**, v.2, p.1-51.
- PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. 1998. Mecanismos de patogenicidade em Fungos. **Revisão Anual de Fitopatologia de Plantas**, v.6, p.1-47.
- PEDRO JR, M.J.; MORAES, S.A.; GODOY, I.J. 1994. Agrometeorological forecasting method for *Cercospora* leafspot in peanuts. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, p.69-73.
- PEZZOPANE, J.R.M.; PEDRO JR, M.J.; SENTELHAS, P.C.; MORAES, S.A.; GODOY, I.J. 1996. Precipitação pluviométrica e intensidade da mancha preta em amendoim. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, n.4, p.426-430.
- PORTER, D.M.; SMITH, D.H.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. 1982. Peanut plant diseases. In: PATTEE, H.E.; YOUNG, C.T. **Peanut Science and Technology**. Texas: American Peanut Research and Education Society Inc., p.326-393.
- PRESTES, A.M.; GOULART, L.R. 1995. Transferência de resistência a doenças de espécies silvestres para espécies cultivadas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.3, p.315-363.
- SIMPSON, C.E.; VALLS, J.F.M.; MILES, J.W. 1994. Reproductive biology and potencial for recombination in *Arachis*. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. **Biology and Agronomy of Forage Arachis**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), p.43-52.
- SOARES, J.J.; LIMA, E.F. 1991. Avaliação dos prejuízos causados à produção de amendoim à incidência de *Cercosporidium personatum* e *Cercospora arachidicola*. **Fitopatologia Brasileira**, v.16, n.1, p.130-131.
- SUBRAHMANYAM, P.; GHANEKAR, A.M.; NOLT, B.L.; REDDY, D.V.R.; McDONALD, D. 1985a. Resistance to groundnut diseases in wild *Arachis*. **ICRISAT: International Workshop on Cytogenetics of Arachis**, Patancheru-Índia, p.49-55.
- SUBRAHMANYAM, P.; McDONALD, D.; GIBBONS, R.W.; NIGAM, S.N.; NEVILL, D.J. 1982. Resistance to rust and late leafspot diseases in some genotypes of *Arachis hypogaea*. **Peanut Science**, v.9, p.6-10.
- SUBRAHMANYAM, P.; MOSS, J.P.; McDONALD, D.; SUBBA RAO, P.V.; RAO, V.R. 1985b. Resistance to leafspot caused by *Cercosporidium personatum* in wild *Arachis* species. **Plant Disease**, v.69, n.11, p.951-954.

- TORRES, E.F.C.; MARTÍNEZ, L.J.S. 1992a. Prepenetración de *Cercospora arachidicola* en tres cultivares de maní (*Arachis hypogaea*) en condiciones de laboratorio. **Fitopatología Venezolana**, v.4, n.1, p.12-16.
- TORRES, E.F.C.; MARTÍNEZ, L.J.S. 1992b. Histopatología foliar de tres cultivares de maní atacados por *Cercospora arachidicola*. **Revista da Facultad de Agronomía**, v.18, p.325-338.
- VALLS, J.F.M.; SIMPSON, C.E. 1994. Taxonomy, natural distribution, and attributes of *Arachis*. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. **Biology and Agronomy of Forage *Arachis***. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), p.1-18.
- VEIGA, R.F.A.; CORSO, G.M.; CURI, P.R. 1992. Morfologia dos estômatos em folíolos de amendoim, cultivares Tatu e SO-909. **Bragantia**, v.51, n.1, p.7-15.
- VEIGA, R.F.A.; CORSO, G.M.; CURI, P.R. 1994. Aspectos da organografia e anatomia foliar do amendoim: genótipos SO-53 e SO-909. **Bragantia**, v.53, n.1, p.1-17.
- WALIYAR, F.; SHEW, B.B.; SIDAHMED, R.; BEUTE, M.K. 1995. Effects of host resistance on germination of *Cercospora arachidicola* on peanut leaf surfaces. **Peanut Science**, v.22, p.154-157.

CAPÍTULO II

MORFOLOGIA FOLIAR DE ESPÉCIES DE AMENDOIM E SUA RELAÇÃO COM A MANCHA PRETA

RESUMO

A cercosporiose, causada pelo fungo *Cercosporidium personatum*, é uma doença de grande importância para a cultura do amendoim (*Arachis hypogaea*). O objetivo deste trabalho foi quantificar caracteres estruturais do limbo foliar, em dois cultivares e quatro acessos de três espécies de *Arachis*, procurando relacioná-los com graus de resistência à cercosporiose. Foram amostradas porções do terço médio da região internervural, do terceiro ou quarto folíolo da segunda folha contada a partir do ápice, sendo as amostras infiltradas em historresina, seccionadas com 7 µm de espessura e coradas com azul de toluidina. Os caracteres quantificados foram: área da secção da região internervural; áreas e espessuras de epiderme das faces adaxial e abaxial, parênquima, hipoderme e mesofilo; área do complexo estomático; espessura da folha; porcentagens de epiderme das faces adaxial e abaxial, parênquima e hipoderme; números de tricomas, estômatos, cristais de oxalato de cálcio e idioblasto de mucilagem; e comprimento do ostíolo. Os dados foram submetidos aos testes estatísticos multivariados de Análise de Agrupamento e Análise de Componentes Principais. Os caracteres referentes ao parênquima, hipoderme, epiderme da face abaxial, tricomas, estômatos e idioblasto de mucilagem permitiram diferenciar *A. hypogaea*, *A. magna* e *A. stenosperma*. O acesso 9017 de *A. stenosperma* e o cultivar IAC-Tatu de *A. hypogaea* caracterizaram-se como suscetíveis à cercosporiose, enquanto o cultivar 850 de *A. hypogaea*, os acessos 30097 e 13748 de *A. magna*, e o acesso 10229 de *A. stenosperma* foram considerados como resistentes.

Palavras-chave: anatomia foliar, amendoim, *Cercosporidium personatum*, análise multivariada.

LEAF STRUCTURAL CHARACTERES OF *Arachis* SPECIES IN RELATIONSHIP TO LATE LEAFSPOT

ABSTRACT: The late leafspot, caused by the fungus *Cercosporidium personatum*, is a highly important disease in peanut (*Arachis hypogaea*). The objective of this work was to quantify leaf blade structural characters in two cultivars and four accessions of three *Arachis* species, in an attempt to associate them with different degrees of late leafspot resistance. Portions from the middle third of the interveinal region of the third or fourth leaflets, in the second leaf counted from the apex were sampled. The samples were infiltrated in Historesin, sectioned at 7- μ m thickness, and stained with toluidine blue. The following characters were quantified: cross section area of the interveinal region; area and thickness of the epidermal adaxial and abaxial surfaces, parenchyma, hypodermis, and mesophyll; stomatal complex area; leaf thickness; percentage values of the epidermal adaxial and abaxial surfaces, parenchyma, and hypodermis; number of trichomes, stomata, calcium oxalate crystals, and mucilage idioblasts; and ostiole length. The data were submitted to Cluster Analysis and Principal Components Analysis multivariate statistical tests. The parenchyma, hypodermis, epidermal abaxial surface, trichomes, stomata, and mucilage idioblast characters allowed *A. hypogaea*, *A. magna*, and *A. stenosperma* to be discriminated. The *A. stenosperma* accession 9017 and *A. hypogaea* cultivar IAC-Tatu were characterized as susceptible to late leafspot, while the *A. hypogaea* cultivar 850, *A. magna* accessions 30097 and 13748, and *A. stenosperma* accession 10229 were considered resistant.

Key words: leaf anatomy, peanut, *Cercosporidium personatum*, multivariate analysis.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o Estado de São Paulo destaca-se como o maior produtor de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), sendo responsável por 80% dessa produção (AGRIANUAL, 2005). Um dos fatores limitantes da produtividade é a cercosporiose, doença causada pelo fungo *Cercosporidium personatum* (Berk & Curt.) Deighton, considerada a mais severa das doenças do amendoim cultivado (MORAES et al., 1988), causando prejuízos de até 50% na produção de vagens (PORTER et al., 1982; SOARES e LIMA, 1991).

Segundo PASCHOLATI e LEITE (1995) as plantas desenvolveram vários mecanismos bioquímicos e estruturais de defesa contra os fitopatógenos, os quais ocorrem simultaneamente no processo de defesa, propiciando resistência às doenças vegetais.

A resistência do amendoim às manchas foliares, como a cercosporiose, pode ser atribuída a certas características morfo-anatômicas e a alguns constituintes químicos presentes nas folhas, os quais atuam retardando a germinação dos conídios, e diminuindo, conseqüentemente, o número de lesões, a desfolhação e a esporulação do fungo (MC DONALD et al., 1985).

A literatura consultada revelou que poucos trabalhos foram realizados, procurando-se relacionar as características estruturais foliares e a ocorrência de cercosporiose em plantas de amendoim.

De acordo com METCALFE e CHALK (1957), as folhas de plantas de amendoim (*Arachis* sp.) são anfiestomáticas, com mesofilo rico em cristais e formado por células pequenas contendo clorofila e conteúdos taniníferos; o mesofilo é formado pelos parênquimas paliçádico e lacunoso, e pela hipoderme, a qual é constituída por células armazenadoras de água, conforme descrito por KUMARI et al. (1983); idioblastos de mucilagem e tricomas

tectores são encontrados na epiderme da face adaxial; a hipoderme localiza-se na face abaxial do mesofilo foliar.

A existência de barreiras físicas à penetração dos fungos, como é o caso de cutícula e tricomas, também pode relacionar-se com a resistência; aberturas naturais nessas barreiras, como os estômatos e ferimentos, podem facilitar a entrada do patógeno (MARTIN, 1964; KOLATTUKUDY e KÖLLER, 1983; VEIGA et al., 1994; AMORIM, 1995; AGRIOS, 1997; PASCHOLATI et al., 1998).

HEMINGWAY (1957), ABDU (1966) e VEIGA et al. (1994) verificaram que espécies de *Arachis* resistentes às manchas foliares apresentaram maior espessura foliar e coloração mais escura das folhas, em relação às plantas suscetíveis. HEMINGWAY (1957), MAZZANI et al. (1972) e VEIGA et al. (1994) também constataram, em plantas resistentes, a ocorrência de maior desenvolvimento de tecido parênquimático paliádico.

Comparando-se a anatomia foliar de espécies silvestres com a de variedades cultivadas do gênero *Arachis*, KUMARI et al. (1983) observaram maior tamanho dos estômatos na face adaxial da folha, bem como maior número de tricomas e comprimento dos estômatos na face abaxial; entretanto, não verificaram diferenças significativas, quanto a esses caracteres estruturais, entre as espécies silvestres e as variedades cultivadas estudadas.

De acordo com AMORIM (1995), os estômatos constituem-se na principal via de penetração dos fungos fitopatogênicos. VEIGA et al. (1992), estudando a morfologia dos estômatos em cultivares de amendoim, descreveram que plantas de *A. hypogaea* resistentes a cinco moléstias fúngicas foliares, dentre elas as cercosporioses, apresentaram menores valores de largura do estômato e de índice estomático. Resultados semelhantes foram também verificados por HEMINGWAY (1957) e ABDU (1966). Entretanto, HASSAN e BEUTE (1977) e

COOK (1981) não encontraram relação entre o tamanho dos estômatos e a resistência à cercosporiose.

TORRES e MARTÍNEZ (1992a), trabalhando com cultivares de *A. hypogaea* em condições de laboratório, observaram que os tubos germinativos do patógeno penetravam nos ostíolos e, em outros casos, passavam por cima dos estômatos e penetravam de forma direta através das paredes periclinais das células epidérmicas, entre as paredes anticlinais de duas células vizinhas, e em locais onde se encontravam cristais de oxalato de cálcio; portanto, a direção de crescimento dos tubos germinativos parecia ser determinada por algum estímulo proveniente dos estômatos. Entretanto, VEIGA et al. (1994) constataram, em cultivar resistente à cercosporiose, menor frequência de idioblastos cristalíferos e maior de idioblastos de mucilagem na face adaxial da epiderme; esses mesmos autores encontraram, na face abaxial da epiderme do cultivar resistente, maior frequência de idioblastos cristalíferos.

ABDOU et al. (1974) e TORRES e MARTÍNEZ (1992b) relataram que as mudanças mais evidentes, induzidas pelo patógeno da cercosporiose, ocorreram nos tecidos hipodérmicos e clorenquimáticos da folha de plantas de amendoim.

HEMINGWAY (1957) descreveu que as células armazenadoras de água localizadas abaixo da epiderme da face adaxial foliar, as quais constituem a hipoderme, seriam inadequadas ao estabelecimento do fungo. Desta forma, a hipoderme, possivelmente, estaria comportando-se como uma barreira física, caso o patógeno consiga penetrar seu tubo germinativo através da cutícula e da epiderme. Essas observações estão de acordo com aquelas feitas por VEIGA et al. (1994), em plantas de *Arachis* resistentes a cercosporioses, as quais apresentaram a hipoderme mais espessada no limbo foliar, em relação às plantas suscetíveis. Portanto, a hipoderme parece estar relacionada com a resistência às manchas foliares, em especial à cercosporiose.

Considerando a importância da relação entre características estruturais foliares e a cercosporiose, realizou-se o presente trabalho com o objetivo de quantificar caracteres estruturais do limbo em dois cultivares de *Arachis hypogaea*, dois acessos de *Arachis magana* e dois acessos de *Arachis stenosperma*, procurando relacioná-los com graus de resistência à cercosporiose.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados os cultivares 850 e IAC-Tatu de *Arachis hypogaea*, os acessos KGSSc 30097 e VSPmSv 13748 de *A. magna*, e os acessos VKSSv 10229 e VmiSv 9017 de *A. stenosperma*, obtidos de sementes fornecidas pelo Departamento de Genética do Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, e pelo Núcleo Experimental de Campinas do Instituto Agrônomo (IAC). De acordo com MORAES et al. (1988), o cultivar 850 foi caracterizado como resistente à cercosporiose (*Cercosporidium personatum*), enquanto o cultivar IAC-Tatu foi considerado suscetível.

As sementes foram previamente tratadas e semeadas em placas de Petri; após a germinação foram transferidas para vasos plásticos de 5 L contendo mistura de solo, areia e matéria orgânica (1:2:1), mantendo-se duas plantas por vaso em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Botânica, do IBB-UNESP. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos (dois cultivares e quatro acessos das espécies de *Arachis*) e oito repetições.

Após 90 dias, quando as plantas encontravam-se no início do florescimento, coletou-se o terceiro ou quarto folíolo da segunda folha totalmente expandida contada a partir do ápice, para cada cultivar e acesso de cada espécie estudada. Foram tomadas porções do terço médio da região internervural do limbo foliar, fixando-as em FAA 50 (formaldeído+ácido acético glacial+álcool 50%) durante 48 horas e, em seguida, conservadas em álcool 70% (JOHANSEN, 1940).

As amostras foliares foram infiltradas com historresina (GERRITS, 1991), seccionadas transversalmente em micrótomo rotatório com 7 µm de espessura, coradas com azul de toluidina 0,05% (O'BRIEN et al., 1964) e montadas entre lâminas e lamínulas em resina

sintética. Os limites e contornos dos tecidos foram desenhados com o auxílio de microscópio de projeção, sendo as áreas e espessuras determinadas por meio de mesa digitalizadora usando-se um programa computacional específico (SOUZA et al., 2005). Os dados de áreas foram transformados em valores percentuais em relação à área total da região internervural amostrada.

Para a realização de contagem e mensuração, referentes aos estômatos, tricomas, cristais e idioblastos de mucilagem, foi utilizada a técnica de impressão da epiderme foliar sobre lâmina histológica contendo cola de secagem instantânea (SOUZA et al., 2005), com 20 repetições para cada tratamento.

Os caracteres estruturais quantificados foram os seguintes: áreas ($\times 10^{-4}$ mm²) compreendendo a secção da região internervural, epiderme das faces adaxial e abaxial, parênquima, hipoderme, mesofilo e complexo estomático da face abaxial; espessuras (μ m) da folha, epiderme das faces adaxial e abaxial, parênquima, hipoderme e mesofilo; porcentagens (%) da epiderme das faces adaxial e abaxial, parênquima e hipoderme; números (por mm² de superfície da face abaxial) de tricomas, estômatos e cristais de oxalato de cálcio; número (por mm linear) de idioblasto de mucilagem da epiderme da face adaxial; e comprimento (μ m) do ostíolo de estômatos da face abaxial.

Os valores dos 22 caracteres do limbo foliar foram submetidos aos testes estatísticos multivariados de Análise de Agrupamento e Análise de Componentes Principais (SNEATH e SOKAL, 1973), a fim de agrupar os cultivares e acessos das três espécies de *Arachis* de acordo com seu grau de similaridade e verificar a capacidade discriminatória dos caracteres estruturais no processo de formação dos agrupamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dois cultivares e os quatro acessos das três espécies de *Arachis* estudadas (Figuras 1A-F) apresentam semelhanças na organização dos tecidos foliares e corroboram com as descrições feitas por METCALFE e CHALK (1957). Desta forma, as características anatômicas descritivas do limbo foliar não permitem diferenciar *A. hypogaea*, *A. magna* e *A. stenosperma* entre si. As três espécies (Figuras 1A-F) caracterizam-se, principalmente, pela ocorrência de epiderme unisseriada, idioblastos de mucilagem, parênquimas paliádico e lacunoso constituindo o mesofilo dorsiventral, e hipoderme formada por células dispostas em única camada celular.

No Quadro 1 são apresentados os valores médios dos caracteres estruturais quantitativos do limbo foliar, para os dois cultivares de *A. hypogaea*, dois acessos de *A. magna* e dois acessos de *A. stenosperma*, submetidos à análise estatística multivariada.

Na Análise de Agrupamento, representada na forma de dendrograma (Figura 2), foi possível agrupar os cultivares e acessos de *Arachis*, de forma que aqueles pertencentes a um mesmo grupo apresentaram maior similaridade que os de grupos diferentes. Houve a formação de quatro grupos principais, em nível de 0,16 na escala de distância de similaridade, os quais apresentaram a seguinte disposição: grupo 1 – constituído pelos acessos de *A. magna*; grupo 2 – formado pelos cultivares de *A. hypogaea*; grupo 3 – composto apenas pelo acesso 10229 de *A. stenosperma*; e grupo 4 – formado somente pelo acesso 9017 de *A. stenosperma*. Portanto, os caracteres estruturais quantitativos avaliados permitiram diferenciar as três espécies de *Arachis*, bem como os dois acessos de *A. stenosperma* entre si.

Verificou-se também, pela Figura 2, que *A. magna* (grupo 1) e *A. hypogaea* (grupo 2) podem se agrupar a partir do nível de 0,20 na escala de distância de similaridade,

apresentando essas espécies, conseqüentemente, maior afinidade entre si. De acordo com FERNÁNDEZ e KRAPOVICKAS (1994), os prováveis genitores do amendoim cultivado *A. hypogaea* (genoma AABB) seriam as espécies silvestres *A. ipaensis* (doador do genoma B) e *A. duranensis* (doador do genoma A); desta forma, a espécie silvestre *A. magna* estaria relacionada com o genoma B de *A. hypogaea*, por apresentar acessos morfológicamente próximos a *A. ipaensis*.

PEÑALOZA (2004), realizando estudo citogenético em amendoim, identificou no acesso 13748 de *A. magna* o cromossomo SAT do tipo 6, o qual também foi encontrado, segundo FERNÁNDEZ e KRAPOVICKAS (1994), em outros acessos dessa mesma espécie e no único acesso conhecido de *A. ipaensis*. Possivelmente, essas constatações poderiam explicar a similaridade entre *A. magna* (grupo 1) e *A. hypogaea* (grupo 2), evidenciada pelo dendrograma da Figura 2.

No Quadro 2 são apresentados os coeficientes de correlação entre os 22 caracteres estruturais quantitativos foliares dos cultivares e acessos das espécies de *Arachis*, e os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2). No conjunto, estes componentes foram responsáveis por 87,92% da informação (variância) acumulada pelos caracteres avaliados, constituindo-se em indicadores eficientes de dissimilaridade. A intensidade da contribuição destes caracteres para a discriminação dos cultivares e acessos das espécies de *Arachis* está relacionada à ocorrência de maiores valores absolutos em Y_1 e Y_2 .

Verifica-se no Quadro 2 que, para o componente principal Y_1 , os caracteres estruturais que mais contribuíram para a discriminação foram: áreas de parênquima, hipoderme, epiderme da face abaxial, mesofilo e complexo estomático da face abaxial; espessuras de parênquima, hipoderme, epiderme da face abaxial, mesofilo e folha; números de estômatos, tricomas e idioblastos de mucilagem; e comprimento do ostíolo. Esse componente (Y_1)

apresentou 71,01% da informação retida, a qual é considerada satisfatória para explicar a contribuição dos caracteres na formação dos agrupamentos.

Com relação ao componente principal Y_2 (Quadro 2), a informação retida foi de 16,91%, apresentando poder de discriminação satisfatório apenas as porcentagens de parênquima e de hipoderme, bem como os números de cristais de oxalato de cálcio e de estômatos da face abaxial.

A dispersão gráfica (Figura 3), resultante da Análise de Componentes Principais, também mostrou a formação de quatro grupos, com relação aos dois cultivares e quatro acessos das três espécies de *Arachis* estudadas, revelando haver boa concordância entre esses resultados e aqueles obtidos na Análise de Agrupamento (Figura 2).

A análise conjunta do componente principal Y_1 (Quadro 2) e da dispersão gráfica (Figura 3), mostrou que os cultivares 850 e IAC-Tatu de *A. hypogaea* (grupo 2), por revelarem sinal positivo para Y_1 , apresentaram maiores valores de áreas e espessuras da hipoderme, parênquima, epiderme da face abaxial e mesofilo, de área do complexo estomático, de espessura da folha e de comprimento do ostíolo, bem como menores valores de números de tricomas, estômatos e idioblastos de mucilagem (Quadro 1). Os acessos 10229 (grupo 3) e 9017 (grupo 4) de *A. stenosperma*, com sinal negativo para Y_1 , mostraram resultados diferentes (Quadro 1). Os acessos 30097 e 13748 de *A. magna* (grupo 1) apresentaram valores intermediários (Quadro 1), entre as outras duas espécies, revelando maior similaridade com os cultivares de *A. hypogaea*, como também foi demonstrado nos trabalhos realizados por FERNÁNDEZ e KRAPOVICKAS (1994) e PEÑALOZA (2004).

Portanto, esses caracteres estruturais do limbo foliar podem discriminar as três espécies de *Arachis* estudadas, evidenciando valor taxonômico satisfatório.

Analisando-se conjuntamente o componente principal Y_2 (Quadro 2) e a dispersão gráfica (Figura 3), constatou-se que o acesso 9017 de *A. stenosperma* (grupo 4) e o cultivar IAC-Tatu de *A. hypogaea* (grupo 2), com sinal positivo para Y_2 , apresentaram maiores valores de porcentagem de parênquima, de número de cristais de oxalato de cálcio e de estômatos na face abaxial da epiderme foliar, bem como menores valores de porcentagem de hipoderme e de número de idioblastos de mucilagem (Quadro 1), em relação ao cultivar 850 de *A. hypogaea* (grupo 2), acesso 10229 de *A. stenosperma* (grupo 3), e acessos 30097 e 13748 de *A. magna* (grupo 1), que apresentaram sinal negativo para Y_2 .

Assim, o acesso 9017 de *A. stenosperma* juntamente com o cultivar IAC-Tatu de *A. hypogaea* podem ser considerados suscetíveis à cercosporiose, enquanto os acessos 10229 de *A. stenosperma*, os dois acessos de *A. magna* e o cultivar 850 de *A. hypogaea* caracterizam-se como resistentes a essa doença, uma vez que, de acordo com MORAES et al. (1988), os cultivares IAC-Tatu e 850 de *A. hypogaea* apresentam, respectivamente, suscetibilidade e resistência à cercosporiose.

A ocorrência de menor porcentagem de hipoderme e de número de idioblasto de mucilagem, bem como de maior número de cristais de oxalato de cálcio e de estômatos na face abaxial do limbo foliar (Quadro 1), permitiram caracterizar o cultivar IAC-Tatu de *A. hypogaea* e o acesso 9017 de *A. stenosperma* como suscetíveis à cercosporiose. Os demais acessos e cultivar avaliados, por apresentarem resultados diferentes (Quadro 1), podem ser considerados como resistentes a essa doença. A presença desses caracteres estruturais no limbo foliar, como indicadores de resistência à cercosporiose, foi também constatada por HEMINGWAY (1957), ABDOU (1966), TORRES e MARTÍNEZ (1992a) e VEIGA et al. (1994), que relacionaram plantas resistentes com maiores quantidades de hipoderme e de idioblasto de mucilagem, e com menores frequências de cristais e de estômatos no limbo foliar.

O comprimento do ostíolo e a área do complexo estomático da face abaxial não mostraram relação com a resistência à cercosporiose, resultados esses concordantes com aqueles encontrados por HASSAN e BEUTE (1977) e COOK (1981). Por outro lado, a presença de maior quantidade de parênquima no limbo foliar também não apresentou relação com a resistência à cercosporiose; entretanto, esse resultado diferiu daquele obtido por HEMINGWAY (1957), MAZZANI et al. (1972) e VEIGA et al. (1994), que verificaram maior desenvolvimento desse tecido em plantas resistentes.

As diferenças estruturais encontradas nas espécies de *Arachis* estudadas podem auxiliar na sua identificação, bem como na caracterização de acessos e cultivares com diferentes graus de resistência à cercosporiose.

CONCLUSÕES

1. *A. hypogaea*, *A. magna* e *A. stenosperma* podem ser diferenciadas por meio de caracteres estruturais quantitativos do limbo foliar, relacionado com parênquima, hipoderme, epiderme da face abaxial, tricomas, estômatos e idioblasto de mucilagem.

2. A ocorrência de menor porcentagem de hipoderme e de número de idioblasto de mucilagem, bem como de maior número de cristais de oxalato de cálcio e de estômatos na face abaxial do limbo foliar, constituíram-se como caracteres estruturais indicadores de resistência à cercosporiose.

3. O acesso 9017 de *A. stenosperma* e o cultivar IAC-Tatu de *A. hypogaea* caracterizaram-se como suscetíveis à cercosporiose, e os demais acessos e cultivar avaliados como resistentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOU, Y.A.M. *The source and nature of resistance in Arachis L. species to Mycosphaerella arachidicola Jenk and Mycosphaerella berkeleyii Jenk, and factores influencing sporulation of these fungi*. North Carolina State, USA, 1966. 118p., Tese - Universit Raleigh.

ABDOU, Y.A.M.; GREGORY, W.C.; COOPER, W.E. Sources and nature of resistance to *Cercospora arachidicola* Hori and *Cercosporidium personatum* (Berk. & Curt) Deighton in *Arachis* species. *Peanut Science*, Raleigh, v.1, n.1, p.6-11, 1974.

AGRIANUAL. *Anuário estatístico da agricultura brasileira*. São Paulo, 2005. p.207-210.

AGRIOS, G.N. *Plant Pathology*. 4.ed. California: Academic Press, 1997. 635p.

AMORIM, L. Infecção. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1995. p.295-308.

COOK, M. Susceptibility of peanut leaves to *Cercosporidium personatum*. *Phytopathology*, v.71, n.8, p.787-791, 1981.

FERNÁNDEZ, A.; KRAPOVICKAS, A. Cromossomas y evolución en *Arachis* (Leguminosae). *Bonplandia*, v.8, n.1-4, p.187-220, 1994.

GERRITS, P. O. *The application of glycol methacrylate in histotechnology; some fundamental principles*. Department of Anatomy and Embryology State University Groningen, Netherlands. 1991. 80p.

HASSAN, H.N.; BEUTE, M.K. Evaluation of resistance to cercospora leaf spot in peanut germoplasm potentially useful in a breeding program. *Peanut Science*, Raleigh, v.4, p.78-83, 1977.

HEMINGWAY, J.S. The resistance of groundnuts to *Cercospora* leafspots. *Empire Journal Experimental Agriculture*, London, v.25, n.1-4, p.60-68, 1957.

JOHANSEN, D.A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc., 1940. 523p.

KOLATTUKUDY, P.E.; KÖLLER, W. Fungal penetration of the first line defensive barriers of plants. In: ALLOW, J.A. (Ed.). *Biochimical plant pathology*. Chichester: John Wiley & Sons, 1983. p.70-100.

KUMARI, D.S.; SESHAVATHARAM, V.; MURTY, U.R. Comparative leaf anatomy of the wild species and cultivated varieties of the genus *Arachis*. *Oléagineux*, Paris, v.38, n.1, p.27-40, 1983.

MARTIN, J.T. Role of cuticle in the defense against plant disease. In: HORSFALL, J.G.; BAKER, K.F. (Eds.). *Annual Review of Phytopathology*, California: Annual Reviews Inc., 1964. v.2, p.81-100.

MAZZANI, B.; ALLIEVI, J.; BRAVO, P. Relación entre la incidencia de manchas foliares por *Cercospora* spp. y algunas características varietales del maní. *Agronomía Tropical*, Venezuela, v.22, n.2, p.119-132, 1972.

McDONALD, D.; SUBRAHMANYAM, P.; GIBBONS, R.W.; SMITH, D.H. Early and late leafspot of groundnut. *ICRISAT: Infomation Bulletin*, Patancheru, v.21, p.19, 1985.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. *Anatomy to the dicotyledons*. Oxford: Clarendon Press, 1957. v.1, p.502-511.

MORAES, S.A.; GODOY, I.J.; GERIN, M.A.N.; PEDRO JR., M.J. PEREIRA, J.C.V.N.A. Epidemiologia de *Cercosporidium personatum* em genótipos de amendoim. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.13, n.3, p.255-260, 1988.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; McCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell wall by toluidine blue O. *Protoplasma*, Vienna, v.59, n.2, p.368-373, 1964.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismo de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. 3.ed., São Paulo: Ceres, 1995. p.417-453.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Mecanismos de patogenicidade em fungos. *Revisão Anual de Fitopatologia de Plantas*, Passo Fundo, v.6, p.1-47, 1998.

PEÑALOZA, A.P.S. Avanços da citogenética do gênero *Arachis* no Brasil. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE ESPECIALISTAS EM *Arachis*, 4., 2004, Brasília. *Anais*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Tecnologia, 2004. p.43-48.

PORTER, D.M.; SMITH, D.H.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. Peanut plant diseases. In: PATTEE, H.E.; YOUNG, C.T. (Eds.). *Peanut Science and Technology*. Texas: American Peanut Research and Education Society Inc, 1982. p.326-393.

SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. *Numerical taxonomy*. San Francisco: W.H.Freemam, 1973. 573p.

SOARES, J.J.; LIMA, E.F. Avaliação dos prejuízos causados à produção de amendoim à incidência de *Cercoporidium personatum* e *Cercospora arachidicola*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.16, n.1, p.130-131, 1991.

SOUZA, L.A.; ROSA, S.M.; MOSCHETA, I.S.; MOURÃO, K.S.M.; RODELLA, R.A.; ROCHA, D.C.; LOLIS, M.I.G.A. *Morfologia e anatomia vegetal: técnicas e práticas*. Ponta Grossa: UFPG, 2005. 194 p.

TORRES, E.F.C.; MARTÍNEZ, L.J.S. Prepenetracion de *Cercospora arachidicola* en tres cultivares de maní (*Arachis hypogaea*) en condiciones de laboratorio. *Fitopatologia Venezuelana*, Maracay, v.4, n.1, p.12-16, 1992a.

TORRES, E.F.C.; MARTÍNEZ, L.J.S. Histopatologia foliar de tres cultivares de maní atacados por *Cercospora arachidicola*. *Revista da Facultad de Agronomía*, Maracay, v.18, p.325-338, 1992b.

VEIGA, R.F.A.; CORSO, G.M.; CURI, P.R. Morfologia dos estômatos em folíolos de amendoim, cultivares Tatu e SO-909. *Bragantia*, Campinas, v.51, n.1, p.7-15, 1992.

VEIGA, R.F.A.; CORSO, G.M.; CURI, P.R. Aspectos da organografia e anatomia foliar do amendoim: genótipos SO-53 e SO-909. *Bragantia*, Campinas, v.53, n.1, p.1-17, 1994.

Quadro 1. Valores médios dos 22 caracteres estruturais quantitativos do limbo foliar em dois cultivares de *Arachis hypogaea*, dois acessos de *Arachis magna* e dois acessos de *Arachis stenosperma*.

Caracteres Estruturais	<i>A. hypogaea</i>		<i>A. magna</i>		<i>A. stenosperma</i>	
	850	Tatu	30097	13748	10229	9017
Área da secção região internervural	786,48	803,81	694,23	633,27	419,35	655,54
Área da epiderme da face adaxial	61,14	59,15	42,01	44,45	42,44	49,54
Área do parênquima	510,30	542,35	473,38	412,31	263,68	455,63
Área da hipoderme	164,64	144,39	133,04	127,91	78,63	105,59
Área da epiderme da face abaxial	50,40	57,92	45,80	48,60	34,60	44,78
Área do mesofilo	674,94	686,74	606,42	540,22	342,31	561,22
Área complexo estomático (abaxial)	25,16	22,25	20,09	17,61	10,91	13,94
Espessura da folha	259,46	261,92	228,48	208,40	170,31	216,03
Espessura da epiderme adaxial	19,18	19,84	13,55	15,01	13,84	16,39
Espessura do parênquima	166,87	178,87	155,95	135,14	119,30	150,72
Espessura da hipoderme	54,29	46,75	44,34	42,26	26,39	34,80
Espessura da epiderme abaxial	19,12	16,46	14,64	16,32	10,78	14,12
Espessura do mesofilo	221,16	225,62	200,29	177,40	145,69	185,52
% Epiderme da face adaxial	7,77	7,36	6,05	7,02	10,12	7,56
% Parênquima	64,88	67,47	68,19	65,11	62,88	69,50
% Hipoderme	20,93	17,96	19,16	20,20	18,75	16,11
% Epiderme da face abaxial	6,41	7,20	6,60	7,67	8,25	6,83
Nº tricomas da face abaxial	11,22	11,22	12,46	10,07	39,73	39,08
Nº estômatos da face abaxial	115,60	122,26	127,70	183,50	212,40	309,10
Nº cristais de oxalato da face abaxial	72,09	199,47	214,63	328,91	190,87	586,14
Nº idioblasto de mucilagem (adaxial)	1,98	1,65	4,28	5,32	6,29	4,61
Comprimento do ostíolo (abaxial)	25,83	24,50	20,69	19,04	18,70	17,41

Área = $\times 10^{-4}$ mm². Espessura e Comprimento = μ m.

Nº tricomas, estômatos e cristais = mm² de superfície. Nº idioblasto de mucilagem = mm linear.

Quadro 2. Coeficientes de correlação entre 22 caracteres estruturais quantitativos foliares em dois cultivares de *Arachis hypogaea*, dois acessos de *Arachis magna* e dois acessos de *Arachis stenosperma*, e os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2).

Caracteres Estruturais	Y_1	Y_2
Área da secção da região internervural	0,9147	0,3999
Área da epiderme da face adaxial	0,7223	0,2966
Área do parênquima	0,8597	0,4901
Área da hipoderme	0,9764	0,0675
Área da epiderme da face abaxial	0,8671	0,3453
Área do mesofilo	0,9097	0,4012
Área do complexo estomático da face abaxial	0,9917	- 0,0152
Espessura da folha	0,9392	0,3097
Espessura da epiderme da face adaxial	0,6977	0,3609
Espessura do parênquima	0,8586	0,4055
Espessura da hipoderme	0,9705	0,0469
Espessura da epiderme da face abaxial	0,8937	0,1723
Espessura do mesofilo	0,9353	0,3075
% Epiderme da face adaxial	- 0,5806	- 0,3473
% Parênquima	0,1792	0,8194
% Hipoderme	0,4639	- 0,7262
% Epiderme da face abaxial	- 0,6458	- 0,4413
Nº de tricomas da face abaxial	- 0,8759	0,2272
Nº de estômatos da face abaxial	- 0,8026	0,5694
Nº de cristais de oxalato da face abaxial	- 0,5341	0,7887
Nº de idioblasto de mucilagem da face adaxial	- 0,9013	- 0,2444
Comprimento do ostíolo da face abaxial	0,8962	- 0,1950
Informação Retida (%)	71,01	16,91
Informação Acumulada (%)	71,01	87,92

Área = $\times 10^{-4}$ mm². Espessura e Comprimento = μ m.

Nº tricomas, estômatos e cristais = mm² de superfície. Nº idioblasto de mucilagem = mm linear.

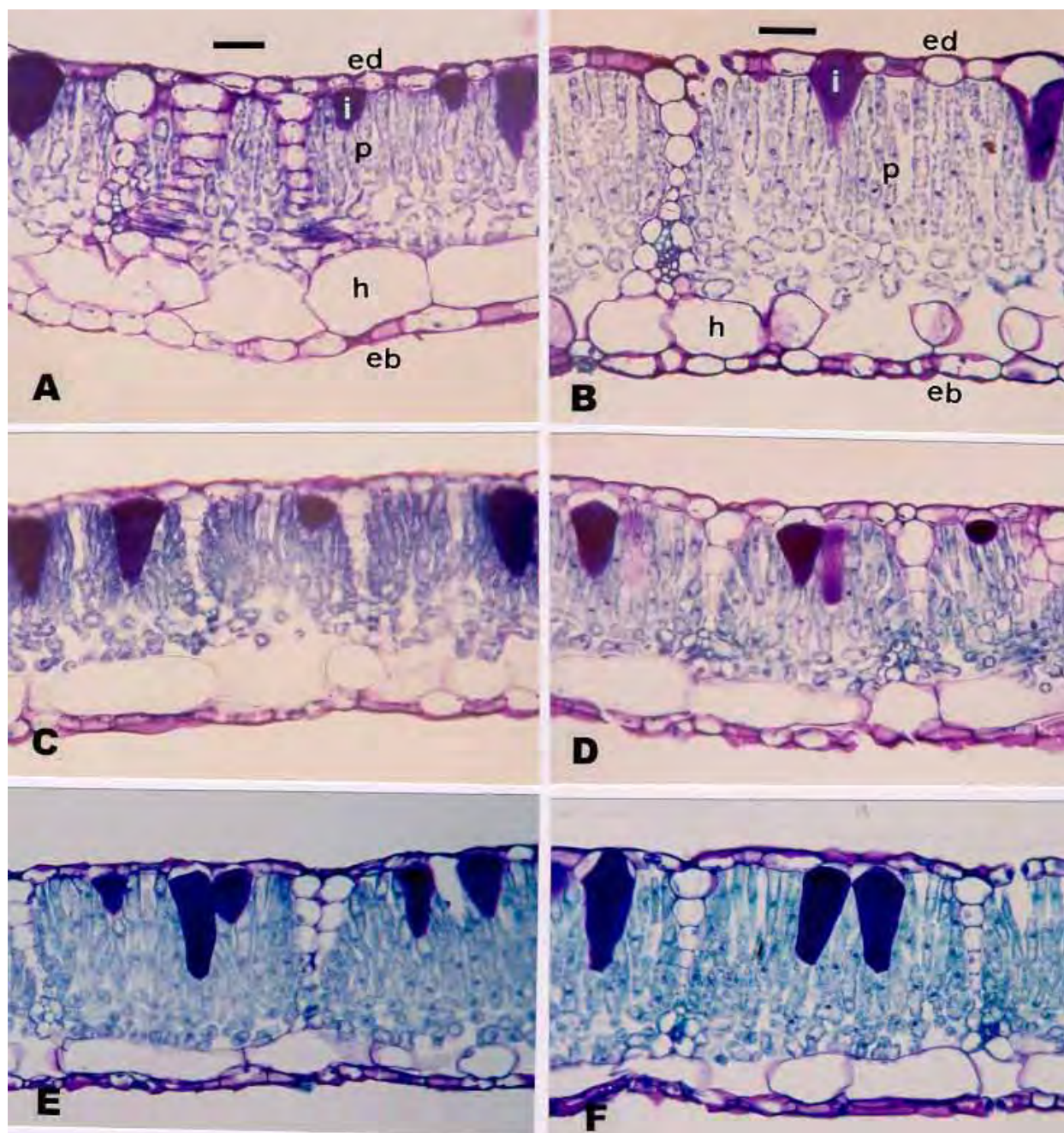


Figura 1. Secções transversais da região internervural do limbo foliar de espécies de *Arachis*.

A) *A. hypogaea* cultivar 850; **B)** *A. hypogaea* cultivar IAC-Tatu; **C)** *A. magna* acesso 30097; **D)** *A. magna* acesso 13748; **E)** *A. stenosperma* acesso 10229; **F)** *A. stenosperma* acesso 9017. ed: epiderme da face adaxial. eb: epiderme da face abaxial. h: hipoderme. i: idioblasto de mucilagem. p: parênquima. Barra = 46 μ m.

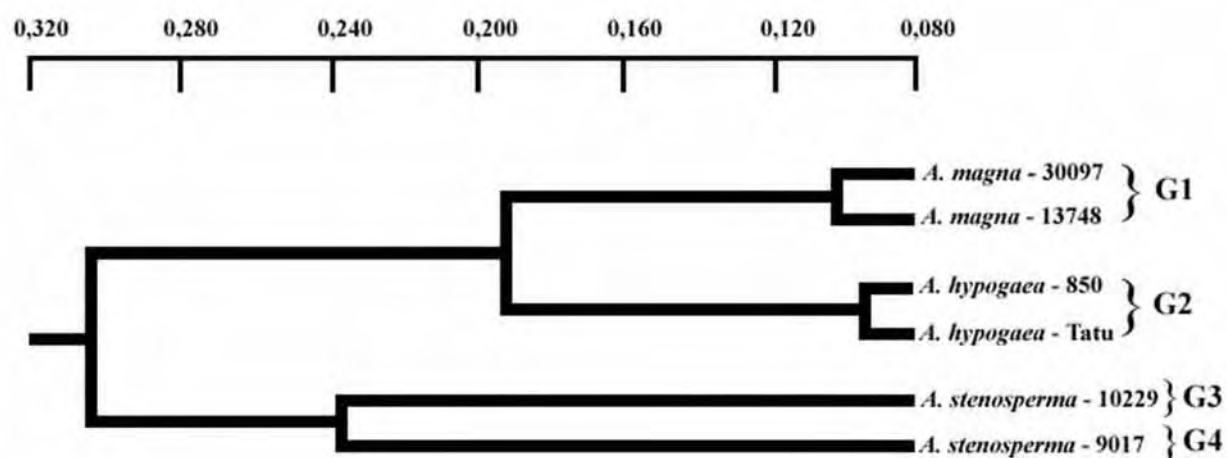


Figura 2. Análise de agrupamento de dois cultivares (850 e Tatu) de *Arachis hypogaea*, dois acessos (30097 e 13748) de *Arachis magna* e dois acessos (10229 e 9017) de *Arachis stenosperma*, utilizando-se a Distância Euclidiana Média, com base em 22 caracteres estruturais quantitativos do limbo foliar. G: grupos.

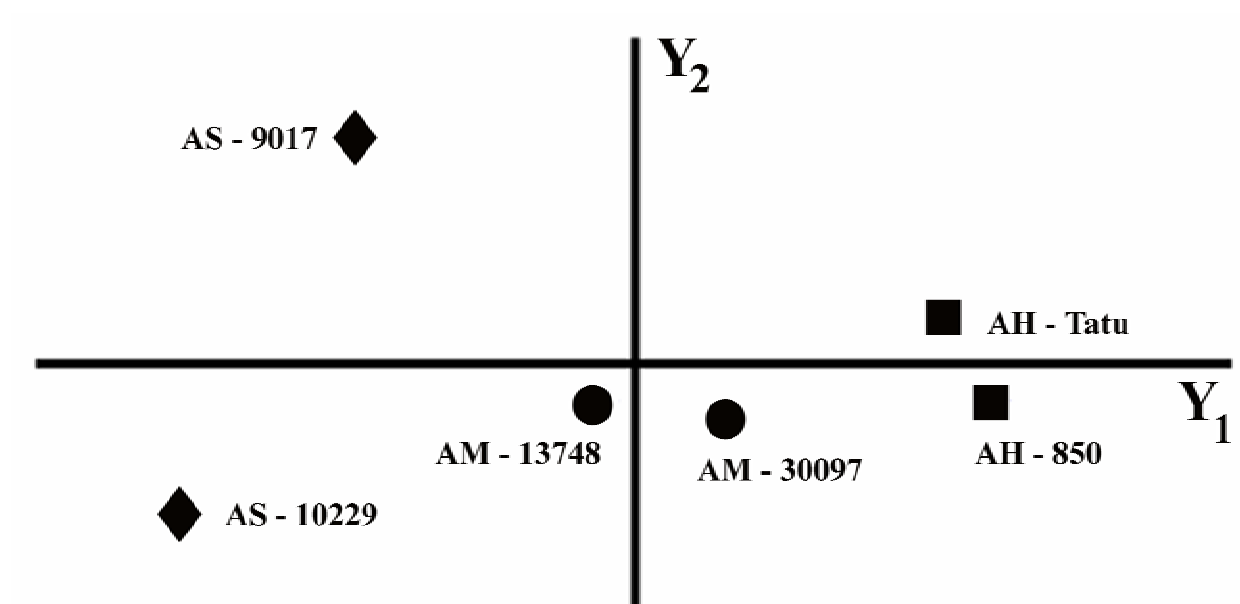


Figura 3. Dispersão gráfica de dois cultivares (850 e Tatu) de *Arachis hypogaea* (AH), dois acessos (30097 e 13748) de *Arachis magna* (AM) e dois acessos (10229 e 9017) de *Arachis stenosperma* (AS), utilizando-se os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2), para o conjunto dos 22 caracteres estruturais quantitativos do limbo foliar.

CAPÍTULO III

DISCRIMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE AMENDOIM (*Arachis* spp.) POR MEIO DA ANÁLISE FRACTAL DE CARACTERES MORFOLÓGICOS FOLIARES

ABSTRACT – (Discrimination of peanut species (*Arachis* spp.) using fractal analysis of morphological leaf traits). Fractal analysis techniques have been applied to determine the complexity of shapes, and to discriminate and characterize plant species. The objective of this work was to discriminate *A. hypogaea* L. cultivars, as well as accessions wild species of *A. magna* Krapov., W.C. Gregory & C.E. Simpson and *A. stenosperma* Krapov. & W.C. Gregory, using the fractal analysis. Completely expanded leaves were collected and digitized as monochromatic images; the fractal dimension values of four morphological characters: leaf system, leaf blade, leaf margin and venation system. The fractal analysis of the images was performed by the Box-Counting method. Values obtained were submitted to Cluster Analysis and Principal Components Analysis multivariate statistical tests. Three principal groups were obtained: the first comprised the *A. hypogaea* cultivars and *A. magna* accessions; the second consisted of one *A. stenosperma* accession; the third consisted of the other accession of the same species. Greater similarity was obtained between individuals of the first group. It was verified that the four morphological characters analyzed showed high discriminatory power, allowing both *A. stenosperma* accessions to be discriminated, as well as the separation of this species from the other two species studied. Therefore, the Box-Counting method can be used to discriminate peanut species and accessions; its future applicability for other plant species is thus suggested.

Key words - *A. hypogaea*, *A. magna*, *A. stenosperma*, fractal dimension, leaf morphology.

RESUMO – (Discriminação de espécies de amendoim (*Arachis* spp.) por meio da análise fractal de caracteres morfológicos foliares). As técnicas de análise fractal têm sido aplicadas na determinação da complexidade das formas e na discriminação e caracterização de espécies vegetais. O presente trabalho teve como objetivo discriminar os cultivares de *A. hypogaea* L., bem como os acessos das espécies silvestres de *A. magna* Krapov., W.C. Gregory & C.E. Simpson e *A. stenosperma* Krapov. & W.C. Gregory por meio da análise fractal. Folhas totalmente expandidas foram coletadas e digitalizadas em imagens monocromáticas, determinando-se o valor da dimensão fractal de quatro caracteres morfológicos: sistema foliar, limbo foliar, bordo foliar e sistema de venação. A análise fractal dessas imagens foi realizada pelo método “Box-Counting”. Os valores obtidos foram submetidos aos testes estatísticos multivariados de Análise de Agrupamento e Análise de Componentes Principais. Foram obtidos três grupos principais: o primeiro formado pelos cultivares de *A. hypogaea* e pelos acessos de *A. magna*; o segundo por um dos acessos de *A. stenosperma*; o terceiro pelo outro acesso dessa mesma espécie. Houve maior similaridade entre os indivíduos do primeiro grupo. Verificou-se que os quatro caracteres morfológicos analisados mostraram alto poder discriminatório, permitindo discriminar os dois acessos de *A. stenosperma*, bem como essa espécie das outras duas estudadas. Portanto, o método “Box-Counting” pode ser utilizado na discriminação de espécies e acessos de amendoim, sugerindo-se, desta forma, a sua aplicabilidade futura para outras espécies vegetais.

Palavras-chave - *A. hypogaea*, *A. magna*, *A. stenosperma*, dimensão fractal, morfologia da folha.

Introdução

Com produção anual superior a 34 milhões de toneladas (Agrianual 2005), o amendoim é considerado a quarta oleaginosa mais plantada no mundo, devido ao fato de possuir grande quantidade de óleo e proteína nas sementes (Godoy *et al.* 1999), sendo consumido mundialmente na forma de óleos, pastas comestíveis e *in natura* (Singh *et al.* 1993, Hammons 1994).

Das 80 espécies descritas, o Brasil apresenta exclusivamente 48 (Valls & Simpson 1994, Jarvis *et al.* 2003). No entanto, sua produção limita-se a aproximadamente 213.200 toneladas/ano (Agrianual 2005), a qual é considerada não significativa em decorrência do grande número de doenças fúngicas da parte aérea (Porter *et al.* 1982, Soares & Lima 1991), tornando-se indispensável o uso de fungicidas para o controle, favorecendo assim o alto custo da produção (Porter *et al.* 1982, Moraes *et al.* 2002).

As espécies silvestres de amendoim são fontes de genes dominantes que conferem resistência a duas ou mais doenças no mesmo genótipo, podendo ser exploradas para o melhoramento do amendoim cultivado (Prestes & Goulart 1995).

Métodos de sequenciamento genético e AFLP (“Amplified Fragment Length Polymorphism”), são considerados muito eficientes na identificação de diferentes acessos de amendoim silvestre e cultivado (Gimenes *et al.* 2002), porém esses métodos são demorados e com custos muito elevado.

A análise da dimensão fractal tem sido aplicada com sucesso, quando se deseja determinar e/ou estimar a complexidade das formas e fenômenos naturais (Mandelbrot 1997).

Souza & Buckeridge (2004) realizaram uma ampla revisão referente aos sistemas complexos como novas formas de ver a Botânica, apresentando conceitos básicos relacionados à complexidade e dados de alguns exemplos de suas aplicações em diferentes

áreas da Botânica, destacando-se a morfologia fractal das plantas. Esses mesmos autores relataram que os objetos com características fractais possuem auto-similaridade em sua estrutura, e são gerados por processos de crescimento que proporcionam uma ocupação não-homogênea do espaço, possibilitando a utilização de modelos baseados na geometria fractal para a simulação do padrão de crescimento das plantas.

De acordo com Mandelbrot (1983, 1997), na geometria fractal os objetos são representados por dimensões intermediárias podendo assumir valores não inteiros, enquanto na geometria euclidiana as dimensões são inteiras, ou seja, um ponto possui dimensão 0 (0D), uma reta dimensão 1 (1D), um plano dimensão 2 (2D) e um sólido dimensão 3 (3D).

Borkowski (1999) enfatizou a realização de estudos utilizando medidas de dimensão fractal, ou seja, medidas fracionárias da dimensão geométrica de um objeto qualquer, para estudar a complexidade da forma de folhas, possibilitando a discriminação de espécies por computador associadas a outros tipos de medidas morfométricas, as quais, segundo Vlcek & Cheung (1986), podem também ser úteis para a identificação de híbridos.

De maneira geral, a análise da dimensão fractal é o indicador direto da maior complexidade da forma de um determinado objeto, pois quanto maior o valor da sua dimensão maior o nível de complexidade da forma avaliada (Souza & Buckeridge 2004).

Esse tipo de análise tem sido empregada na discriminação e identificação de espécies vegetais (Vlcek & Cheung 1986, Peitgen & Saupe 1988, Peitgen *et al.* 1992, Borkowski, 1999, Mancuso 1999, 2001, 2002, Pita *et al.* 2002, Plotze *et al.* 2003, 2005), podendo também ser utilizada na avaliação e comparação de padrões da arquitetura do sistema radicular de plantas (Berntson 1994, 1996, Nielsen *et al.* 1999, Walk *et al.* 2004), e no estudo da estrutura e propriedades da textura de frutos submetidos a maiores períodos de armazenamento em condições normais (Kubík 2005).

Vlcek & Cheung (1986) diferenciaram nove espécies de árvores através da dimensão fractal da forma das folhas, com a utilização do método “Box-Counting”. Borkowski (1999), empregando o método do compasso, discriminou 10 espécies de árvores por meio de características da dimensão fractal, baseada na complexidade e forma das folhas. Mancuso (1999, 2001, 2002) identificou diferentes genótipos de uva através da dimensão fractal pelo método “Box-Counting”, aplicada em imagens binarizadas das folhas. Pita *et al.* (2002) analisaram a auto-similaridade dos ramos foliares de aspargo, utilizando-se a dimensão fractal pelo método “Box-Counting”. Plotze *et al.* (2003, 2005) identificaram 10 espécies arbóreas através da dimensão fractal foliar, segundo a complexidade das formas de suas nervuras e bordos, empregando-se os métodos “Box-Counting” e “Minkowsky”.

Com relação ao amendoim (*Arachis hypogaea*), Akasaka *et al.* (1998) analisaram a dimensão fractal do sistema radicular, incluindo aspectos morfológicos das ramificações laterais e a formação de nódulos radiculares. Entretanto, a literatura consultada revelou que poucos foram os trabalhos realizados relacionando a cultura do amendoim com a determinação da dimensão fractal, por meio de características morfológicas e/ou anatômicas da planta.

Assim sendo, o presente trabalho teve como objetivo discriminar os cultivares 850 e Tatu de *A. hypogaea* L., bem como os acessos 30097 e 13748 de *A. magna* Krapov., W.C. Gregory & C.E. Simpson (espécie silvestre), e 10229 e 9017 de *A. stenosperma* Krapov. & W.C. Gregory (espécie silvestre), por meio da análise fractal de diferentes caracteres morfológicos foliares.

Material e métodos

As plantas de amendoim foram cultivadas em vasos plásticos com capacidade de cinco litros, contendo uma mistura de solo-areia-matéria orgânica (1:2:1) e mantidos em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP. Após 90 dias, quando as plantas encontravam-se no início do florescimento, coletaram-se 20 folhas totalmente expandidas (repetições) de cada acesso e cultivar para cada espécie estudada (Tabela 1).

Para se proceder à determinação da dimensão fractal do sistema foliar (folha completa), do limbo foliar e do bordo foliar foi tomada a terceira ou quarta folha contada a partir do ápice da planta, para cada indivíduo. A seguir, essas folhas foram digitalizadas com 300 dpi de resolução e binarizadas com auxílio do programa PhotoShop 6.0 (Figuras 1 a 18).

O software HarFa 5.0 foi utilizado para efetuar a determinação da dimensão fractal pelo método “Box-Counting” (Peitgen & Saupe 1988), a qual baseia-se na divisão da imagem em caixas de tamanhos variáveis, relacionando o tamanho dessas caixas com o número daquelas que contenham pelo menos uma parte do objeto analisado (Figuras de 25 a 28).

Os três caracteres morfológicos, referentes às dimensões fractais do sistema foliar, do limbo foliar e do bordo foliar, foram submetidos aos testes estatísticos multivariados de Análise de Agrupamento e Análise de Componentes Principais (Sneath & Sokal 1973), com a finalidade de, respectivamente, agrupar os cultivares e acessos das três espécies de *Arachis* de acordo com seu grau de similaridade, e verificar a capacidade discriminatória dos caracteres morfológicos no processo de formação dos agrupamentos.

Resultados e Discussão

Os valores médios da dimensão fractal dos três caracteres morfológicos foliares, dos dois cultivares e dos quatro acessos de amendoim estudados, estão apresentados na Tabela 2.

O resultado da Análise de Agrupamento, representado na forma de dendrograma (Figura 29), permitiu agrupar os cultivares e acessos de *Arachis* estudados, de forma que aqueles pertencentes a um mesmo grupo apresentaram maior similaridade que os de grupos diferentes.

Verificou-se a formação de três grupos principais, ao nível de 0,048 da escala de distância de similaridade, os quais apresentaram a seguinte disposição: grupo 1 – constituído pelos cultivares de *A. hypogaea* e pelos acessos de *A. magna*; grupo 2 – formado apenas pelo acesso 10229 de *A. stenosperma*; grupo 3 – composto somente pelo acesso 9017 de *A. stenosperma*.

A Tabela 3 apresenta os coeficientes de correlação entre os três caracteres morfológicos foliares dos cultivares e acessos das espécies de *Arachis*, e os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2). No conjunto, estes componentes foram responsáveis por 99,90% da informação acumulada pelos caracteres avaliados, constituindo-se em indicadores eficientes de dissimilaridade, comportando-se, portanto, como caracteres diferenciadores entre os indivíduos estudados. A intensidade da contribuição destes caracteres para a discriminação dos acessos está relacionada à ocorrência de maiores valores absolutos em Y_1 e Y_2 .

Verifica-se na Tabela 3 que, para o primeiro componente principal (Y_1), os três caracteres morfológicos avaliados apresentaram alto poder discriminatório, uma vez que esse componente foi responsável por 96,81% da informação contida no conjunto desses caracteres.

A dispersão gráfica (Figura 30), resultante da Análise de Componentes Principais, também mostrou a formação de três grupos, com relação aos dois cultivares e quatro acessos das três espécies de *Arachis* estudadas, revelando haver boa concordância entre esses resultados e aqueles obtidos da Análise de Agrupamento (Figura 29).

A análise conjunta do primeiro componente principal (Tabela 3) e da dispersão gráfica (Figura 30), mostrou que os acessos de *A. stenosperma* constituintes dos grupos 2 e 3 apresentaram menores valores da dimensão fractal do sistema foliar, do limbo foliar, bem como maior dimensão do bordo foliar, em relação aos indivíduos de *A. hypogaea* e *A. magna*, formadores do grupo 1 (Tabela 2).

Desta forma, a análise das dimensões fractais dos caracteres morfológicos foliares avaliados, determinados pelo método “Box-Counting”, possibilitaram discriminar os dois acessos de *A. stenosperma*, bem como essa espécie das outras duas estudadas. Resultados semelhantes, referentes à diferenciação de diferentes espécies vegetais, empregando-se a análise da dimensão fractal, foram também obtidos por Vlcek & Cheung (1986), Borkowski (1999), Mancuso (1999, 2001, 2002), Pita *et al.* (2002) e Plotze *et al.* (2003, 2005).

A diferenciação das espécies de *Arachis* foi determinada pela complexidade da morfologia foliar, avaliada por meio da dimensão fractal dos caracteres estudados. O método empregado na análise da dimensão fractal mostrou-se como uma ferramenta alternativa na identificação de espécies, apresentando facilidade de execução e baixo custo, quando comparado com os métodos utilizados tradicionalmente em biologia molecular.

Agradecimentos – Ao CNPq pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor (Proc. 2987204518005241).

Referências bibliográficas

- AGRIANUAL. 2005. FNP Consultoria & AgroInformativos.
- AKASAKA, Y., MII, M., DAIMON, H. 1998. Morphological alterations and root nodule formation in *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transgenic hairy roots of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Annals of Botany* 81:355-362.
- BERNTSON, G.M. 1996. Fractal geometry, scaling, and the description of plant root architecture. *In: Plant Roots* (Y. Waisel, A. Eshel, V. Kafkafi, eds.) The Hidden Half. Marcel Dekker, New York. p.259-272.
- BERNTSON, G.M. 1994. Root systems and fractals: How reliable are calculations of fractal dimensions? *Annals of Botany* 73:281-284.
- BORKOWSKI, W. 1999. Fractal dimension based features are useful descriptors of leaf complexity and shape. *Canadian Journal of Forestry Research* 29:1301-1310.
- FUCHS, C.H. 1963. Fuchsin staining with NaOH clearing for lignified elements of whole plants or plants organs. *Stain Technology* 38:141-144.
- GIMENES, M.A., LOPES, C.R., VALLS, J.F.M. 2002. Genetic relationships among *Arachis* species based on AFLP. *Genetics and Molecular Biology* 25:349-353.
- GODOY, J.R., MORAES, S.A., SIQUEIRA, W.J., PEREIRA, J.C.V.N.A., MARTINS, A.L.M., PAULO, E.D. 1999. Produtividade, estabilidade e adaptabilidade de cultivares de amendoim em três níveis de controle de doenças foliares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34:1183-1191.
- HAMMONS, R.O. 1994. The origin and history of the groundnut. *In: SMARTT, J. The Groundnut Crop: A scientific basis for improvement. Cap.2. Chapman & Hall, London. p. 24-42.*

- JARVIS, A., FERGUSON, M.E., WILLIAMS, D.E., GUARINO, L., JONES, P.G., STALKER, H.T., VALLS, J.F.M., PITTMAN, R.N., SIMPSON, C.E., BRAMEL, P. 2003. Biogeography of wild *Arachis* assessing conservation status and setting future priorities. *Crop Science* 43:1100-1108.
- KUBÍK, L. 2005. Fractal analysis of apple flesh structure. *Harmonic and Fractal Image Analysis*.
http://www.fch.vutbr.cz/lectures/imagesci/download_ejournal/20_L.Kubik.pdf (acesso em 15/01/2005)
- MANCUSO, S. 2002. Discrimination of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaf shape by fractal spectrum. *Vitis* 41:137-142.
- MANCUSO, S. 2001. The fractal dimension of grapevine leaves as a tool for ampelographic research. *HarFa: Harmonic and Fractal Image Analysis*.
http://www.fch.vutbr.cz/lectures/imagesci/download_ejournal/02_S.Mancuso.pdf (acesso em 15/01/2005).
- MANCUSO, S. 1999. The fractal geometry-based image analysis of grapevine leaves using the box counting algorithm. *Vitis* 38:97-100.
- MANDELBROT, B. 1997. *Fractals: Form, Chance and Dimension*. W.H. Freeman. San Francisco.
- MANDELBROT, B. 1983. *The fractal geometry of nature*. W.H. Freeman. San Francisco.
- MORAES, S.A., GODOY, I.J., PEREIRA, J.C.V.N.A., MARTINS, A.L.M. 2002. Sistema de aviso para o controle de mancha preta do amendoim cultivar IAC-Caiapó baseado na precipitação pluvial. *Summa Phytopathologica* 28:229-235.

- NIELSEN, K.L., MILLER, C.R., BECK, D., LYNCH, J.P. 1999. Fractal geometry of root systems: Field observations of contrasting genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under different phosphorus regimes. *Plant and Soil* 206:181-190.
- PEITGEN, H.O., JURGENS, H., SAUPE, D. 1992. Chaos and fractals: new frontiers of science. Springer-Verlag, Nova York.
- PEITGEN, H.O., SAUPE, D. 1988. The Science of Fractal Images. Springer-Verlag, New York.
- PITA, J.R.C., GALÁN, A.S., GARCÍA, R.C. 2002. Fractal dimension and self-similarity in *Asparagus plumosus*. *Fractals* 10:429-434.
- PLOTZE, R.O., FALVO, M., BRUNO, O.M. 2003. Identificação de espécies arbóreas através da dimensão fractal. *In: Anais do I Workshop de tecnologia da Informação Aplicada ao Meio Ambiente*. SBC, Itajaí. v.1, p.1770-1779.
- PLOTZE, R.O., FALVO, M., PÁDUA, J.G., BERNACCI, L.C., VIEIRA, M.L.C., OLIVEIRA, G.C.X., BRUNO, O.M. 2005. Leaf shape analysis using the multiscale Minkowski fractal dimension, a new morphometric method: a study with *Passiflora* (Passifloraceae). *Canadian Journal of Botany Research* 83:287-301.
- PORTER, D.M., SMITH, D.H. & RODRIGUEZ-KÁBANA, R. 1982. Peanut plant diseases (H.E Pattee & C.T. Young, eds.). *Peanut Science and Technology*. American Peanut Research and Education Society, Texas. p.326-410.
- PRESTES, A.M., GOULART, L.R. 1995. Transferência de resistência a doenças de espécies silvestres para espécies cultivadas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas* 3:315-363.
- SINGH, B., SINGH, B. & KHANDELWAL, R.B. 1993. Effect of phosphatic fertilizers, gypsum and their mode of application on yield, oil and protein content of groundnut (*Arachis hypogaea* L). *Indian Journal of Agronomy* 38:p.56-59.

- SNEATH, P.H.A., SOKAL, R.R. 1973. Numerical taxonomy. W.H. Freeman, San Francisco.
- SOARES, J.J., LIMA, E.F. 1991. Avaliação dos prejuízos causados à produção de amendoim à incidência de *Cercoporiidium personatum* e *Cercospora arachidicola*. Fitopatologia Brasileira 16:130-131.
- SOUZA, G.M., BUCKERIDGE, M.S. 2004. Sistemas complexos: novas formas de ver a Botânica. Revista Brasileira de Botânica 27:407-419.
- VALLS, J. F. M.; SIMPSON, C.E. 1994. Taxonomy, natural distribution, and attributes of *Arachis*. In: Biology and Agronomy of Forage *Arachis* (P.C. Kerridge & B. Hardy, eds.). Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, p.1-18.
- VLCEK, J.; CHEUNG, E. 1986. Fractal analysis of leaf shapes. Canadian Journal of Forestry Research 16:124-127.
- WALK, T.C., ERP, E.V., LYNCH, J.P. 2004. Modelling applicability of fractal analysis to efficiency of soil exploration by roots. Annals of Botany 94:119-128.

Tabela 1. Cultivares e acessos das espécies de *Arachis* utilizadas e seus respectivos Município, Estado e País de coleta.

Table 1. *Arachis* species cultivars and accessions used and their respective city, state and country of harvesting.

Cultivares/Acessos	Espécies	Município/Estado/País
cv. 850	<i>A. hypogaea</i>	---
cv. IAC-Tatu	<i>A. hypogaea</i>	---
KGSSc 30097	<i>A. magna</i>	San Ignacio de Velasco/Bolívia
VSPmSv 13748	<i>A. magna</i>	Porto Esperidião/MT/Brasil
VKSSv 10229	<i>A. stenosperma</i>	Santo Antonio Leverger/MT/Brasil
VmiSv 9017	<i>A. stenosperma</i>	Cananéia/SP/Brasil

Tabela 2. Valores médios da dimensão fractal dos quatro caracteres morfológicos foliares de dois cultivares e quatro acessos de três espécies de *Arachis*.

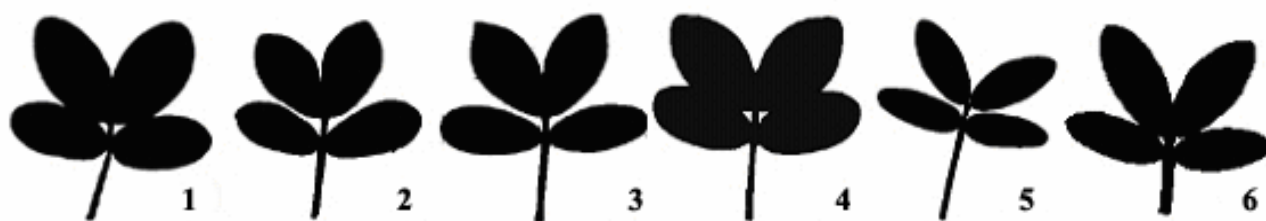
Table 2. Mean values of four leaf morphologic characters fractal dimension of two cultivars and four accessions of three *Arachis* species.

Espécies Cultivar/Acesso	Dimensão Fractal			
	Sistema Foliar	Limbo Foliar	Bordo Foliar	Sistema de Venação
<i>A. hypogaea</i> – 850	1,748	1,760	1,165	1,526
<i>A. hypogaea</i> – Tatu	1,690	1,705	1,185	1,492
<i>A. magna</i> – 30097	1,679	1,693	1,181	1,508
<i>A. magna</i> – 13748	1,705	1,722	1,173	1,512
<i>A. stenosperma</i> – 10229	1,637	1,655	1,200	1,461
<i>A. stenosperma</i> – 9017	1,598	1,606	1,215	1,377

Tabela 3. Coeficientes de correlação entre quatro caracteres morfológicos foliares de dois cultivares e quatro acessos de três espécies de *Arachis*, e os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2).

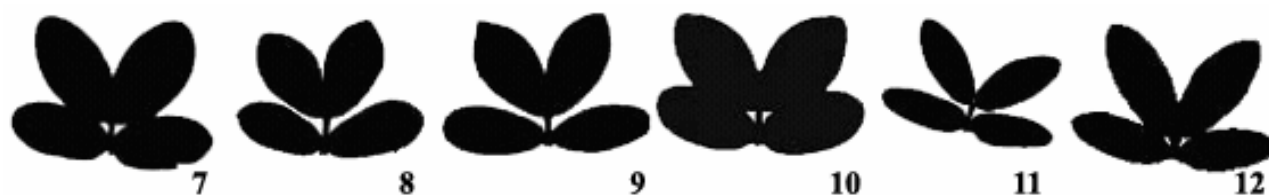
Table 3. Correlation coefficients among four leaf morphologic characters of two cultivars and four accessions of three *Arachis* species and two prime principal components (Y_1 and Y_2).

Caracteres Morfológicos	Y_1	Y_2
Dimensão fractal do sistema foliar	0,9881	0,1526
Dimensão fractal do limbo foliar	0,9944	0,1026
Dimensão fractal do bordo foliar	- 0,9909	- 0,0218
Dimensão fractal do sistema de venação	0,9691	- 0,2468
Informação Retida (%)	96,81	3,09
Informação Acumulada (%)	96,81	99,90



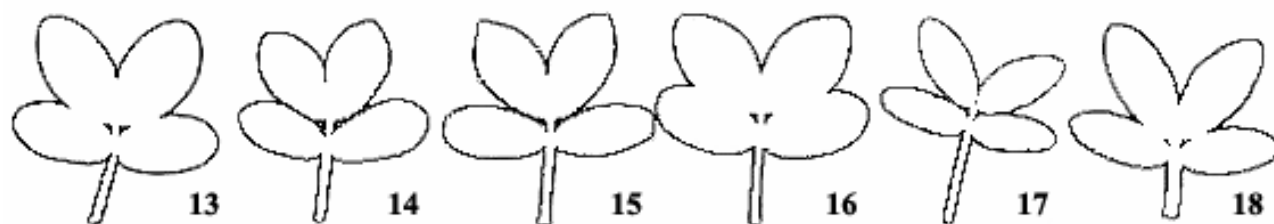
Figuras 1 – 6. Imagens monocromáticas do sistema foliar das espécies de *Arachis*. 1. *A. hypogaea* (cv. 850); 2. *A. hypogaea* (cv. Tatu); 3. *A. magna* (acesso 30097); 4. *A. magna* (acesso 13748); 5. *A. stenosperma* (acesso 10229); 6. *A. stenosperma* (acesso 9017).

Figures 1 - 6. Monochromatic images of leaf system of the species *Arachis*. 1. *A. hypogaea* (cv. 850); 2. *A. hypogaea* (cv. Tatu); 3. *A. magna* (accession 30097); 4. *A. magna* (accession 13748); 5. *A. stenosperma* (accession 10229); 6. *A. stenosperma* (accession 9017).



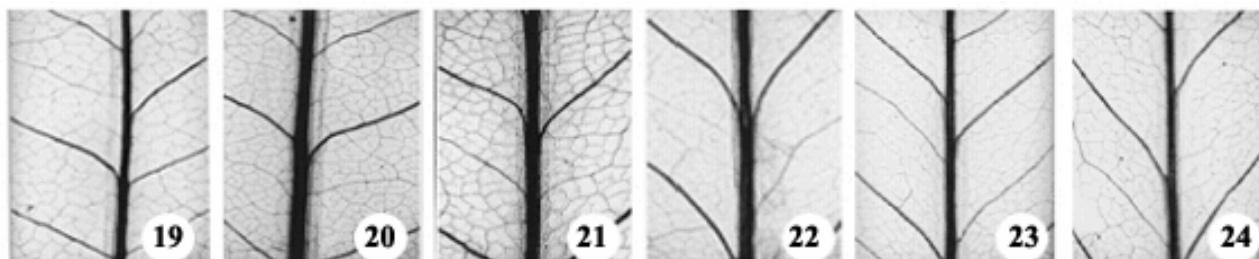
Figuras 7 - 12. Imagens monocromáticas do limbo foliar das espécies de *Arachis*. 7. *A. hypogaea* (cv. 850); 8. *A. hypogaea* (cv. Tatu); 9. *A. magna* (acesso 30097); 10. *A. magna* (acesso 13748); 11. *A. stenosperma* (acesso 10229); 12. *A. stenosperma* (acesso 9017).

Figures 7 – 12. Monochromatic images of the leaf blade of the species of *Arachis*. 7. *A. hypogaea* (cv. 850); 8. *A. hypogaea* (cv. Tatu); 9. *A. magna* (accession 30097); 10. *A. magna* (accession 13748); 11. *A. stenosperma* (accession 10229); 12. *A. stenosperma* (accession 9017).



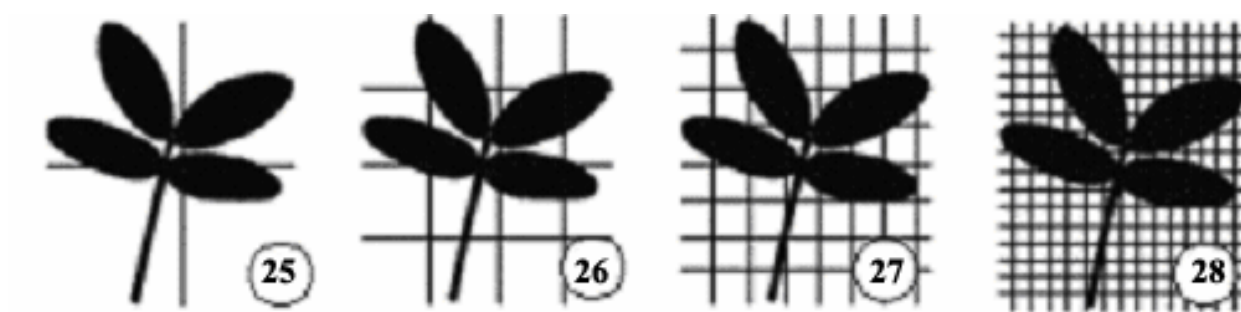
Figuras 13 - 18. Imagens monocromáticas do bordo foliar das espécies de *Arachis*. 13. *A. hypogaea* (cv. 850); 14. *A. hypogaea* (cv. Tatu); 15. *A. magna* (acesso 30097); 16. *A. magna* (acesso 13748); 17. *A. stenosperma* (acesso 10229); 18. *A. stenosperma* (acesso 9017).

Figures 13 - 18. Monochromatic images of the leaf margin of the species of *Arachis*. 13. *A. hypogaea* (cv. 850); 14. *A. hypogaea* (cv. Tatu); 15. *A. magna* (accession 30097); 16. *A. magna* (accession 13748); 17. *A. stenosperma* (accession 10229); 18. *A. stenosperma* (accession 9017).



Figuras 19 - 24. Imagens monocromáticas do sistema de venação da região mediana de folíolos das espécies de *Arachis*. 19. *A. hypogaea* (cv. 850); 20. *A. hypogaea* (cv. Tatu); 21. *A. magna* (acesso 30097); 22. *A. magna* (acesso 13748); 23. *A. stenosperma* (acesso 10229); 24. *A. stenosperma* (acesso 9017).

Figures 19 – 24. Monochromatic images of the venation system of the medium region of leaflet of species *Arachis*. 19. *A. hypogaea* (cv. 850); 20. *A. hypogaea* (cv. Tatu); 21. *A. magna* (accession 30097); 22. *A. magna* (accession 13748); 23. *A. stenosperma* (accession 10229); 24. *A. stenosperma* (accession 9017).



Figuras 25 - 28. Imagens monocromáticas da folha do acesso 10229 de *Arachis stenosperma*, dividida em quatro diferentes tamanhos de caixas. 25. $1/4$; 26. $1/16$; 27. $1/64$; 28. $1/256$

Figures 25 - 28. Monochromatic images of the leaf of accession 10229 of *Arachis stenosperma*, divided in four different sizes of boxes. 25. $1/4$; 26. $1/16$; 27. $1/64$; 28. $1/256$.

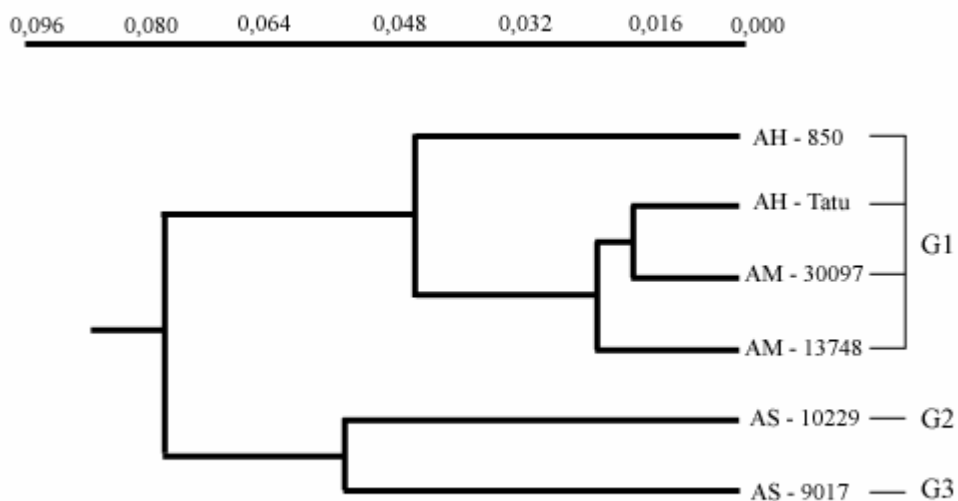


Figura 29. Análise de agrupamento de dois cultivares e quatro acessos de três espécies de *Arachis*, utilizando-se a Distância Euclidiana Média, com base em quatro caracteres morfológicos foliares. AH: *A. hypogaea*; AM: *A. magna*; AS: *A. stenosperma*; 850, Tatu: Cultivares; 30097, 13748, 10229, 9017: Acessos.

Figure 29. Cluster Analysis of two to cultivars and four accessions of three species of *Arachis*, using in the distance Euclidean average, on the basis of four foliares morphologic characters. AH: *A. hypogaea*; AM: *A. magna*; AS: *A. stenosperma*; 850, Tatu: Cultivars; 30097, 13748, 10229, 9017: Accessions.

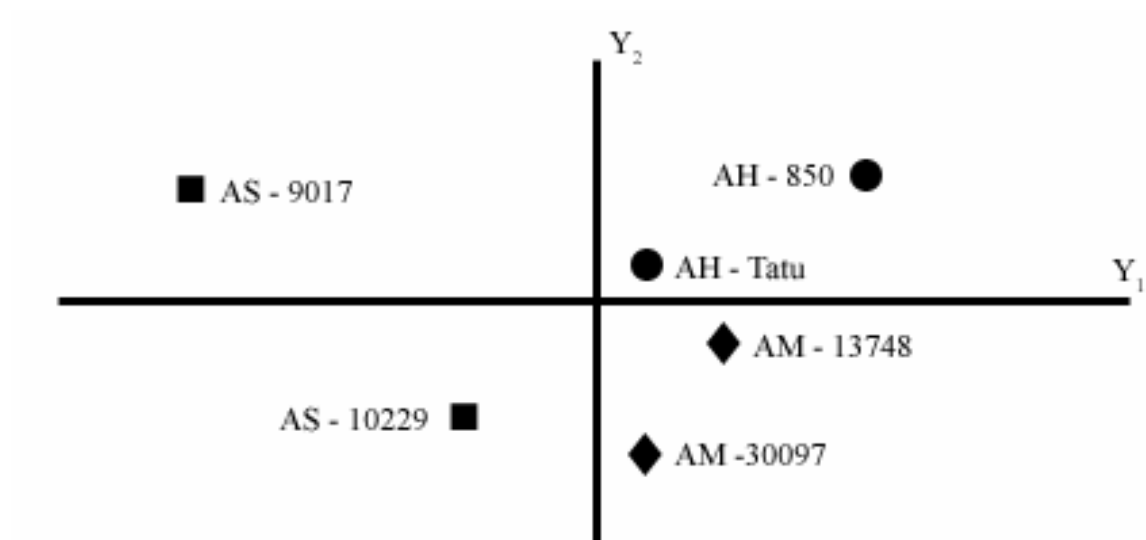


Figura 30. Dispersão gráfica de dois cultivares e quatro acessos de três espécies de *Arachis*, utilizando-se os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2), para o conjunto dos quatro caracteres morfológicos foliares. AH: *A. hypogaea*; AM: *A. magna*; AS: *A. stenosperma*; 850, Tatu: Cultivares; 30097, 13748, 10229, 9017: Acessos.

Figure 30. Graphical dispersion of two to cultivars and four accessions of three species of *Arachis*, using the two first principal components (Y_1 and Y_2), for the set of the four foliares morphologic characters. AH: *A. hypogaea*; AM: *A. magna*; AS: *A. stenosperma*; 850, Tatu: Cultivars; 30097, 13748, 10229, 9017: Accessions.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos interdisciplinares, associando a morfologia e a fitopatologia, são de fundamental importância para o melhor entendimento dos diferentes níveis de resistência apresentados pelo hospedeiro, quando exposto à ação do patógeno.

Assim, a realização de cada capítulo desta dissertação possibilitou relacionar os caracteres estruturais foliares de cultivares, acessos e espécies de amendoim, com graus de resistência à cercosporiose.

A revisão de literatura apresentada evidenciou que poucos foram os trabalhos realizados, relacionando a estrutura (morfologia e anatomia) foliar com a ocorrência de cercosporiose em plantas de amendoim.

Os caracteres estruturais quantitativos do limbo foliar podem ser utilizados como indicadores de resistência à cercosporiose, em cultivares e acessos de diferentes espécies de *Arachis*.

A análise da dimensão fractal de caracteres morfológicos foliares e a avaliação de caracteres estruturais quantitativos do limbo foliar possibilitaram diferenciar as espécies de *Arachis* estudadas.