

Rodrigo Galvão de Freitas

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE EUCALIPTO RESISTENTES À MANCHA-
DE-PTERIDIS CAUSADA POR *Calonectria pteridis***

Monografia apresentada ao
Departamento de Engenharia
Florestal da Universidade Federal de
Viçosa, como parte das exigências
do curso de Engenharia Florestal.

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
FEVEREIRO-2014

Rodrigo Galvão de Freitas

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE EUCALIPTO RESISTENTES À MANCHA-
DE-PTERIDIS CAUSADA POR *Calonectria pteridis***

Monografia apresentada ao
Departamento de Engenharia
Florestal da Universidade Federal de
Viçosa, como parte das exigências
do curso de Engenharia Florestal.

APROVADA em Fevereiro de 2014

Prof. Acelino Couto Alfenas
(ORIENTADOR)

Dr. Rafael Ferreira Alfenas
(CO ORIENTADOR)

Dra. Talyta Galafassi Zarpelon
(CO ORIENTADORA)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por iluminar e guiar o meu caminho, permitindo a conclusão dessa etapa de minha vida.

Aos meus pais, Rui e Maria Luisa, por todo amor, dedicação e incentivo.

Aos meus irmãos, Janaína e Ricardo, pela amizade e companheirismo.

Aos meus familiares, pelo apoio e torcida.

Aos meus amigos da UFV, por todos os momentos de alegria e força.

Aos amigos do Patomol, pela ajuda sempre que necessária e pela ótima convivência.

À Mara e Vanessa, pelo apoio nas inoculações e avaliações.

Ao professor Leonardo Bhering, pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Márcia Maria Brandão, por toda dedicação sempre que necessário.

Ao Rafael Alfenas, por toda ajuda e apoio, fundamentais na realização deste trabalho.

Ao professor Acelino, pela orientação e oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo apoio financeiro.

À Clonar pela produção das mudas e pela bolsa de iniciação científica.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Rodrigo Galvão de Freitas, filho de Rui de Paula Freitas e Maria Luisa Galvão Freitas, nasceu em 29 de dezembro de 1989, em Viçosa, Minas Gerais.

Em 2007, concluiu o Ensino Médio no Colégio Equipe, em Viçosa.

Em 2008, iniciou o curso de Engenharia Florestal, na Universidade Federal de Viçosa, sendo o mesmo concluído em março de 2014.

No período de agosto de 2008 a março de 2013 foi bolsista de Iniciação Científica no Laboratório de Patologia Florestal do DFP/Bioagro, e entre setembro de 2013 a março de 2014 foi bolsista de Iniciação Científica da Clonar Resistência a Doenças Florestais, ambos sob a orientação do Prof. Acelino Couto Alfenas.

Foi bolsista do programa Ciências Sem Fronteiras no período de março a setembro de 2013, realizando um estágio no Departamento de Fitopatologia da Iowa State University em Ames, Iowa, EUA, sob orientação do Prof. Thomas C. Harrington.

CONTEÚDO

EXTRATO.....	V
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 O gênero Calonectria e a mancha-de-pteridis.....	4
2.2 Resistência genética.....	5
3. OBJETIVO.....	7
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
4.1 Material vegetal.....	8
4.2 Produção de inóculo e inoculação.....	9
4.3 Avaliação e análise estatística.....	10
5. RESULTADOS.....	11
6. DISCUSSÃO.....	21
7. CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

EXTRATO

FREITAS, Rodrigo Galvão de. Monografia de graduação. Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2014. **Seleção de genótipos resistentes à mancha-de-pteridis causada por *Calonectria pteridis***. Orientador: Acelino Couto Alfenas. Co-orientadores: Rafael Ferreira Alfenas e Talyta Galafassi Zarpelon.

A mancha-de-pteridis, causada por *Calonectria pteridis*, é uma das principais doenças foliares da cultura do eucalipto nas regiões de clima quente e úmido do Brasil, sendo um fator limitante de produtividade, principalmente no norte e nordeste do país. Entretanto, observações de infecção no campo e inoculações sob condições controladas, indicam a existência de variabilidade para a resistência. Assim, a identificação e seleção de genótipos resistentes para o plantio e para a utilização em programas de melhoramento, constitui uma eficiente e econômica estratégia para o controle desta doença. Portanto, com o objetivo de identificar genótipos de eucalipto resistentes à mancha-de-pteridis, 14 espécies do gênero *Eucalyptus* e três do gênero *Corymbia*, com 30 mudas de cada espécie, foram inoculadas com uma suspensão de 1×10^4 conídios/mL do isolado monospório LPF059 de *Calonectria pteridis*. A avaliação da severidade da doença foi aferida 50 dias após a inoculação quantificando-se o percentual de desfolha em quatro ramos

da parte basal da copa de cada planta. As espécies, *Eucalyptus brassiana*, *E. saligna*, *E. scias* e *E. agglomerata* apresentaram maior frequência de plantas resistentes. Enquanto *C. citriodora*, *E. dunii*, *E. grandis*, *C. maculata* e *E. pilularis* foram as espécies com a maior frequência de plantas suscetíveis, com mais de 50% de desfolha. Entretanto, há uma grande variabilidade intra-específica, sendo possível encontrar fontes de resistência mesmo nas espécies consideradas suscetíveis. O resultado deste trabalho é importante para nortear os programas de melhoramento genético florestal visando à transferência da característica de resistência.

1. INTRODUÇÃO

Na década de 1970, a área total plantada com eucalipto no Brasil era concentrada nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Os plantios tinham relativamente um baixo incremento médio anual (IMA), de cerca de 25 $\text{m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ (Guimarães et al., 2010). Com o advento e o progresso das técnicas de propagação clonal por estacas, juntamente com o melhoramento genético e o emprego de modernas práticas silviculturais, tem havido um aumento significativo na produtividade das plantações de eucalipto no Brasil, atingindo média de 40 $\text{m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ (ABRAF, 2013). A crescente demanda por produtos de madeira combinado com a conscientização sobre a preservação das florestas nativas tem estimulado a expansão das plantações de eucalipto em todo o mundo, e só no Brasil são cerca de 5,1 milhões de hectares plantados (ABRAF, 2013). No entanto, a expansão das plantações para as regiões mais quentes e úmidas, o uso de materiais genéticos mais produtivos sem o prévio conhecimento de sua resistência a doenças e os sucessivos ciclos da cultura na mesma área de plantio, têm tornado as plantações cada vez mais vulneráveis à incidência de doenças (Alfenas et al., 2011). Dentre essas, merece destaque a mancha-de-pteridis, causada por *Calonectria pteridis* Crous, MJ Wingf. & Alfenas, pois incita intensa desfolha em genótipos altamente suscetíveis, principalmente em regiões quentes e úmidas que são favoráveis à sua infecção (Ferreira et al., 1995). Esta doença

é um fator limitante de produtividade em virtude da redução da área fotossintética das plantas, diminuindo o incremento volumétrico, principalmente no norte do país, onde as condições ambientais são favoráveis a incidência do patógeno. Além disso, a entrada de luz no sub-bosque em virtude da intensa desfolha propicia o crescimento de plantas invasoras submetendo a cultura aos efeitos de mato-competição (Fonseca et al., 2010).

A doença foi relatada pela primeira vez em meados dos anos 90, no sudeste da Bahia, onde causou severa desfolha em plantações de *Eucalyptus grandis* (Ferreira et al., 1995). Desde então, *C. pteridis* tem sido a espécie mais comumente encontrada em plantações comerciais, principalmente em procedências de *E. camaldulensis* Dehnh., *E. cloeziana* F. Muell., *E. grandis*, *E. saligna* Smith, *E. tereticornis* Smith, *E. urophylla* ST Blake e híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* ("urograndis"), entre outros (Alfenas et al., 2009). Na maioria das espécies de eucalipto, a doença caracteriza-se por incitar manchas foliares pequenas e arredondadas ou alongadas (Ferreira & Milani, 2002). Em clones altamente suscetíveis, a mancha foliar pode ocupar todo o limbo foliar e, conseqüentemente, causar a queda prematura das folhas (Figura 1).

As perdas por essa desfolha ainda não foram mensuradas, mas sabe-se que níveis de desrama artificial iguais ou superiores a 75% da copa de plantas de *E. grandis* com um ano de idade, pode reduzir em 45% o volume na idade de corte (sete anos) (Pulrolnik et al., 2005, Pires 2000). Níveis de desfolha causados pela doença no campo superiores a 75% são observadas com frequência em clones suscetíveis (Figura 1). Entretanto, acredita-se que a desfolha provocada por *C. pteridis* seja superior a 45% do incremento volumétrico devido à provável produção de toxinas pelo fungo (Von Wallbrunn et al., 2001; Hirota et al., 1973).

O plantio de genótipos resistentes é o método mais eficaz e mais econômico para o controle da doença no campo. Observações no campo sob infecção natural e os resultados das inoculações conduzidas em condições controladas indicam a existência de variabilidade inter e intra-específica para resistência em eucalipto (Fonseca et al., 2010, Zarpelon et al., 2011). Embora existam cerca de 700 espécies de *Eucalyptus* descritas, apenas um número limitado de espécies é plantado comercialmente no Brasil, principalmente *E.*

grandis, *E. urophylla* e seus híbridos "urograndis". Portanto, para minimizar o impacto da doença, é importante ampliar a base genética de populações através da introdução de genes de resistência a partir de outras espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia* (Grattapaglia et al.,2012; Fonseca et al., 2010).



Figura 1. Mancha foliar e desfolha em *Eucalyptus* spp. causada por *Calonectria pteridis* em Monte Dourado, Pará. A-B: Típicas lesões pequenas e arredondadas causadas por *C. pteridis*. C-D: Com o progresso da doença, as lesões mudam de cor e podem ocupar uma grande proporção da folha; E-F: desfolhamento intenso (Alfenas, 2013).

2.REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O gênero *Calonectria* e a mancha-de-pteridis

Espécies do gênero *Calonectria* foram relatadas como patógenos de grande importância em culturas florestais, agronômicas e em plantas ornamentais, causando danos econômicos principalmente em culturas como coco, amendoim, pinus e eucalipto (Cedeño & Carrero, 2000; Crous 2002; Poltronieri et al., 2003; Lombard et al., 2009). As diferentes espécies desse fungo, em eucalipto, podem causar tombamento de mudas (“damping off”), podridão de raízes, cancro, queima de brotos, manchas foliares e desfolha (Alfenas, 1986; Ferreira, 1989; Cedeño e Carrero, 2000; Alfenas et al., 2009). As perdas em virtude de doenças causadas por *Calonectria* spp. são relatadas em diversos países do mundo, como Brasil, Camarões, Costa Rica, Índia, Malásia, Cingapura, África do Sul, Venezuela e Estados Unidos (Alfenas, 1986; Crous, 2002). A penetração do fungo na planta ocorre tipicamente pelos estômatos e requer molhamento foliar (Graça et al., 2009), sendo a severidade de doenças causadas por esse patógeno, maior em regiões de clima quente e úmido (Alfenas, 1986).

Calonectria pteridis foi descrito como agente causal da mancha marrom em *Polystichum adiantiforme* (samambaia “chapéu de couro”) na Flórida em 1926 (Wolf, 1926). No Brasil, os primeiros relatos desse patógeno foram em 1975 (Hodges et al., 1975) e em 1986 (Dianese, 1986), nos estados da Bahia

e do Pará, respectivamente, sendo o causador da queima de acículas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* (Sénécl.) W.H.G. Barret & Golfari.

De acordo com Sobers (1968), o primeiro relato de *C. pteridis* em eucalipto ocorreu no final da década de 60, em *Eucalyptus cinerea* F. Muell em Benth nos Estados Unidos. Já no Brasil, foi relatado pela primeira vez no ano de 1995 causando intensa desfolha em plantios clonais de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, com um ano de idade. Em decorrência dos aspectos climáticos e da presença de hospedeiros suscetíveis em todo o território, esta doença encontra-se amplamente distribuída no Brasil (Ferreira et al., 1995).

2.2 Resistência genética

A resistência genética é a melhor estratégia para o controle de doenças de eucalipto no campo, sendo o cancro do eucalipto exemplo mundial de sucesso do uso dessa estratégia para o efetivo controle da doença (Ferreira, 1989). Esse método pode ser aplicado à mancha-de-pteridis, pois existe variabilidade inter e intra-específica para resistência em eucalipto à doença (Fonseca et al., 2010, Zarpelon et al., 2011).

A resistência genética pode ser do tipo qualitativa e quantitativa. A resistência genética qualitativa é quando as características são controladas por apenas um gene. É a chamada resistência do “tudo ou nada”, onde a planta está livre da doença ou totalmente tomada por ela, sendo de fácil visualização a diferença entre plantas suscetíveis e resistentes. Já na resistência genética quantitativa, as características são controladas por vários genes, existindo uma variação contínua nos graus de resistência, indo desde a extrema suscetibilidade até a extrema resistência. Para que seja possível distinguir genótipos resistentes é necessário quantificar a doença na planta (Bergamin Filho et al., 1995).

Em eucalipto, observações de infecções naturais em nível de campo e inoculações em condições controladas, indicam que a resistência à mancha-de-pteridis pode ser do tipo quantitativa, dificultando a separação de matérias genéticas quanto à resistência (Graça et al., 2009).

Estudos da variabilidade patogênica de isolados do patógeno são essenciais para obtenção de sucesso nos programas de melhoramento

genético (Mc Donald & Linde, 2002), devendo ser um trabalho complementar à seleção de fontes de resistência no hospedeiro (Bruton, 1998).

3. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi selecionar genótipos resistentes à mancha-de-pteridis em 14 espécies de *Eucalyptus* e em três espécies de *Corymbia*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material Vegetal

Dentre as espécies de eucalipto mais utilizadas nos programas de melhoramento, foram selecionadas sementes de 14 espécies de *Eucalyptus* e três espécies de *Corymbia* (Tabela 1). As sementes destas espécies foram semeadas em tubetes de 50 cm³ de volume, contendo substrato MecPlant, enriquecido com Superfosfato Simples (6,0 kg.m⁻³) e Osmocote[®] (19:06:10 a 1,5 kg.m⁻³). Aos 90 dias de idade, as mudas foram transplantadas para vasos de 5 L, contendo a mesma mistura de substrato anteriormente descrita. As plantas foram mantidas em estufa e adubadas quinzenalmente com 100 mL de uma solução de NPK (05:10:30 em 6 gL⁻¹) por planta, até alcançar a fase adequada para a inoculação (Graça et al., 2009). Foram utilizadas 30 plantas de cada espécie em um delineamento experimental inteiramente casualizado. Os clones CLR-221 e CLR-236 foram usados como comparadores resistentes e CLR-158 como comparador suscetível.

Tabela 1. Espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia* com suas respectivas procedências

Espécie	Procedência
CLR-221	Clonar
CLR-236	Clonar
CLR-158	Clonar
<i>E. agglomerata</i>	Cenibra
<i>E. brassiana</i>	Arcelor/Cenibra/Suzano-BA
<i>E. camaldulensis</i>	Arcelor
<i>C. citriodora</i>	Arcelor
<i>E. cloeziana</i>	Arcelor/Cenibra
<i>E. dunnii</i>	Cenibra/Suzano-SP
<i>E. grandis</i>	Arcelor/Cenibra/Suzano-BA
<i>E. longirostrata</i>	Suzano-BA
<i>C. maculata</i>	Arcelor/Cenibra
<i>E. pellita</i>	Arcelor/Cenibra/Suzano-BA
<i>E. pilularis</i>	Cenibra
<i>E. robusta</i>	Arcelor/Cenibra
<i>E. saligna</i>	Arcelor/Cenibra/Suzano-SP
<i>E. scias</i>	Cenibra
<i>E. tereticornis</i>	Arcelor/Suzano
<i>C. torelliana</i>	Arcelor
<i>E. urophylla</i>	Arcelor/Cenibra/Suzano-BA

4.2 Produção de inóculo e inoculação

Para a produção de inóculo, o isolado monospórico de *Calonectria pteridis*, LPF 059, foi repicado para placas de Petri contendo meio MEA (extrato de malte-ágar). Após a repicagem as placas foram mantidas a 25°C, com fotoperíodo de 12 h, por 20 dias.

Após esse período, visando estimular a produção de conídios, as culturas fúngicas foram submetidas a estresse físico por meio da deposição de 20 mL de água destilada e posterior raspagem da superfície da colônia, de modo a remover todo o micélio aéreo presente. A seguir, foram depositados 10 mL de água destilada estéril em cada placa. A cultura permaneceu submersa por dois dias, quando se descartou a água e o excesso de umidade foi removido. A cultura foi mantida em condições de laboratório ($\pm 25^\circ\text{C}$) por dois dias, até a esporulação do patógeno na superfície do meio de cultura.

A suspensão foi preparada com adição de 20 mL de água destilada + Tween 20 a 0,05 % e posterior remoção dos conídios mediante raspagem

com um pincel autoclavado (Alfenas et al., 2013). Após filtrar a suspensão em camada dupla de gaze a concentração de inóculo foi ajustada para 1×10^4 conídios.mL⁻¹ e posteriormente atomizada homogeneamente nas superfícies abaxial e adaxial das folhas das plantas. Para isso, utilizou-se um pulverizador costal de 5 L com bico leque nº 1001 e diâmetro de gotas de 158 µm acoplado a uma válvula de pressão constante de 2 kgf/cm⁻² na barra de pulverização. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara de nevoeiro por 48 h, com nebulização intermitente a cada 30 min durante 10 seg, a 25°C, sendo posteriormente transferidas para casa de vegetação, onde eram irrigadas a cada uma hora por 2 min.

4.3 Avaliação e análise estatística

Previamente à inoculação, foram marcados quatro ramos do terço basal de cada planta, onde foi aferido o número de folhas em cada um deles. A avaliação da severidade da doença foi feita 50 dias após a inoculação, por meio da contagem do número de folhas remanescentes, sendo quantificado o percentual de desfolha em cada ramo. A partir disso, foi calculada a desfolha de cada planta, considerando a média de desfolha dos quatro ramos (Graça et al., 2009).

Uma escala com quatro níveis de desfolha também foi utilizada para quantificar a frequência de plantas em cada nível de resistência (0 - 30% = resistente; 31 - 50% = moderadamente suscetível; 51 - 80% = suscetível e 81 - 100% = altamente suscetível). A frequência de plantas em cada classe de severidade da doença foi determinada de acordo com o nível de desfolha.

Os dados foram submetidos ao teste de agrupamento de médias Scott-Knott (P= 0,05) no programa Genes (Cruz, 2013).

5. RESULTADOS

A análise de variância da desfolha indicou efeito significativo para espécie (Tabela 2). A média de desfolha foi de 43,63% considerando todas as espécies inoculadas, e variou de 13% a 91%, indicando a existência de variabilidade inter-específica para resistência.

Tabela 2. Análise de variância da desfolha causada por *Calonectria pteridis* em espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia*

FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade(%)
Tratamentos	19	162123,22	8532,801	14,819	0*
Resíduo	453	260838,1	575,8015		
Total	472	422961,3			
CV(%)	54,99				

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Apenas *E. brassiana* agrupou com os comparadores resistentes, e *E. tereticornis*, *E. cloeziana* e *E. pellita* agruparam com o comparador suscetível. *C. citriodora*, *E. dunnii*, *E. grandis*, *C. maculata* e *E. pilularis* obtiveram as maiores médias de desfolha, e foram consideradas altamente suscetíveis. As demais espécies foram consideradas moderadamente suscetíveis (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem média de desfolha em 14 espécies de *Eucalyptus* e três espécies de *Corymbia*, 50 dias após a inoculação de *Calonectria pteridis*

Espécie	Desfolha (%)*	Scott-Knott (5%)**	Fenótipo
<i>C. citriodora</i>	90,60	A	Altamente Suscetível
<i>E. dunnii</i>	68,76	B	Altamente Suscetível
<i>E. grandis</i>	61,55	B	Altamente Suscetível
<i>C. maculata</i>	60,38	B	Altamente Suscetível
<i>E. pilularis</i>	57,46	B	Altamente Suscetível
<i>E. tereticornis</i>	52,2	C	Suscetível
CLR158	47,42	C	Suscetível
<i>E. cloeziana</i>	47,11	C	Suscetível
<i>E. pellita</i>	44,77	C	Suscetível
<i>E. robusta</i>	38,42	D	Moderadamente suscetível
<i>E. camaldulensis</i>	36,07	D	Moderadamente suscetível
<i>C. torelliana</i>	35,64	D	Moderadamente suscetível
<i>E. longirostrata</i>	33,19	D	Moderadamente suscetível
<i>E. urophylla</i>	32,94	D	Moderadamente suscetível
<i>E. agglomerata</i>	29,07	D	Moderadamente suscetível
<i>E. scias</i>	28,82	D	Moderadamente suscetível
<i>E. saligna</i>	26,72	D	Moderadamente suscetível
CLR221	22,66	E	Resistente
<i>E. brassiana</i>	16,95	E	Resistente
CLR236	12,97	E	Resistente

* Média de 30 plantas por espécie. Desfolha (%) = relação entre o número de folhas antes e o número de depois da inoculação, em quatro ramos basais da planta.

**Teste Scott & Knott ($p \leq 0,05$). Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente entre si.

Em negrito, comparador resistente (CLR236 e CLR221) e suscetível (CLR158).

A variabilidade intra-específica para resistência à doença foi observada em todas as espécies (Figura 2).

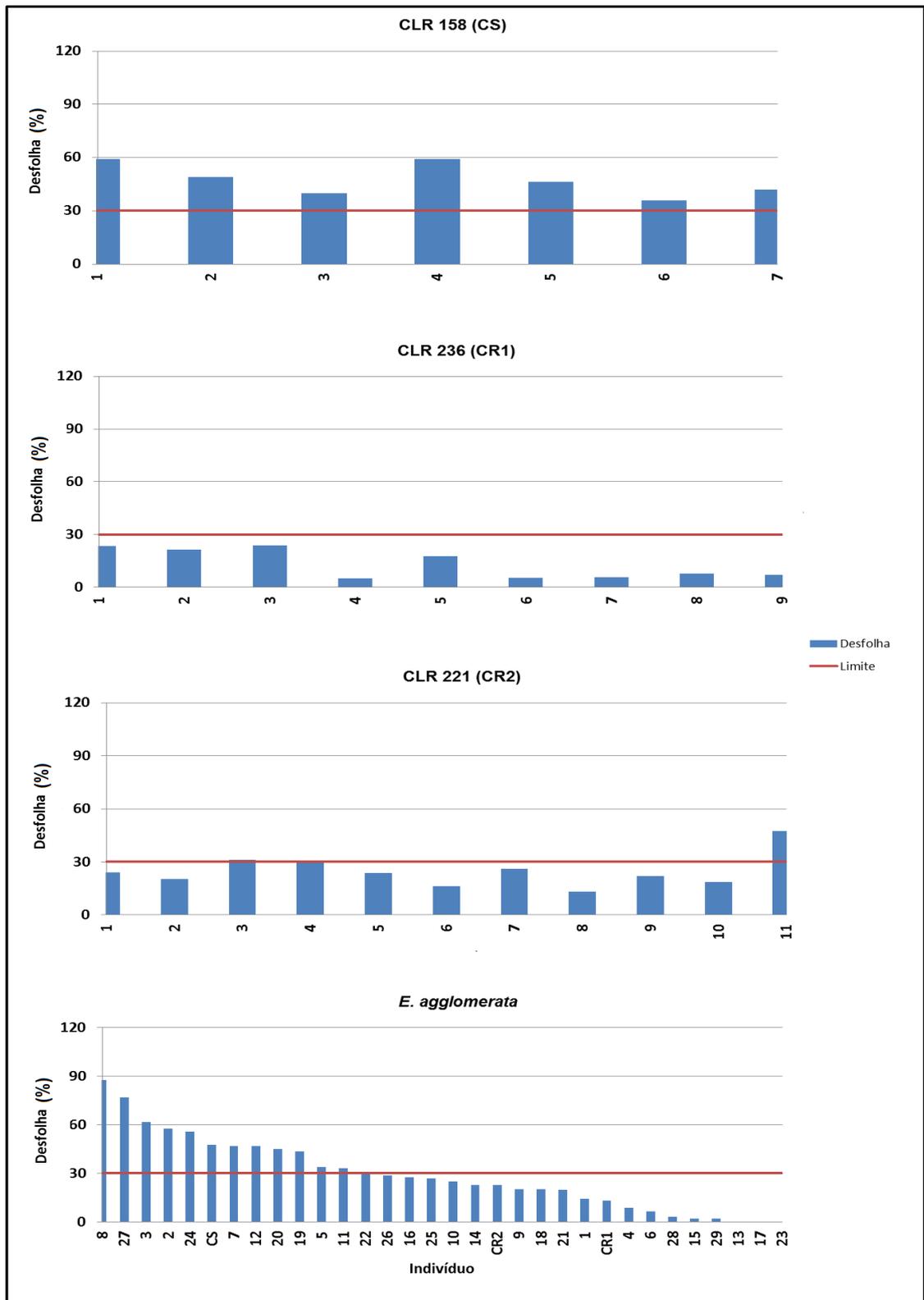


Figura 2. Variabilidade intra-específica para a resistência das espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia*. O limite de 30% representa a intensidade de desfolha em que a planta pode ser considerada resistente. CLR 158 (CS) representa o comparador suscetível, enquanto CLR 221 (CR 2) e CLR 236 (CR 1), os comparadores resistentes.

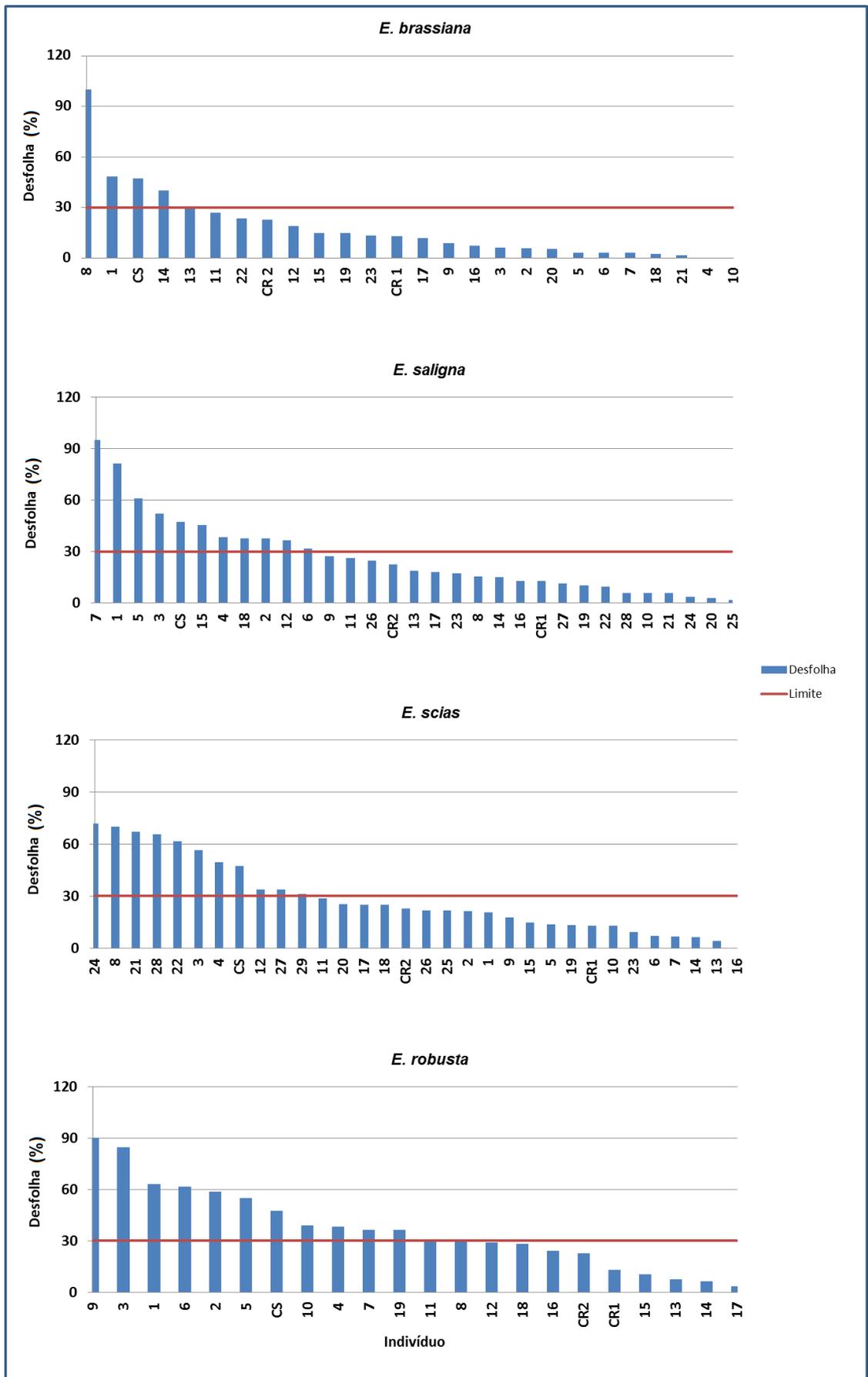


Figura 2. Continuação

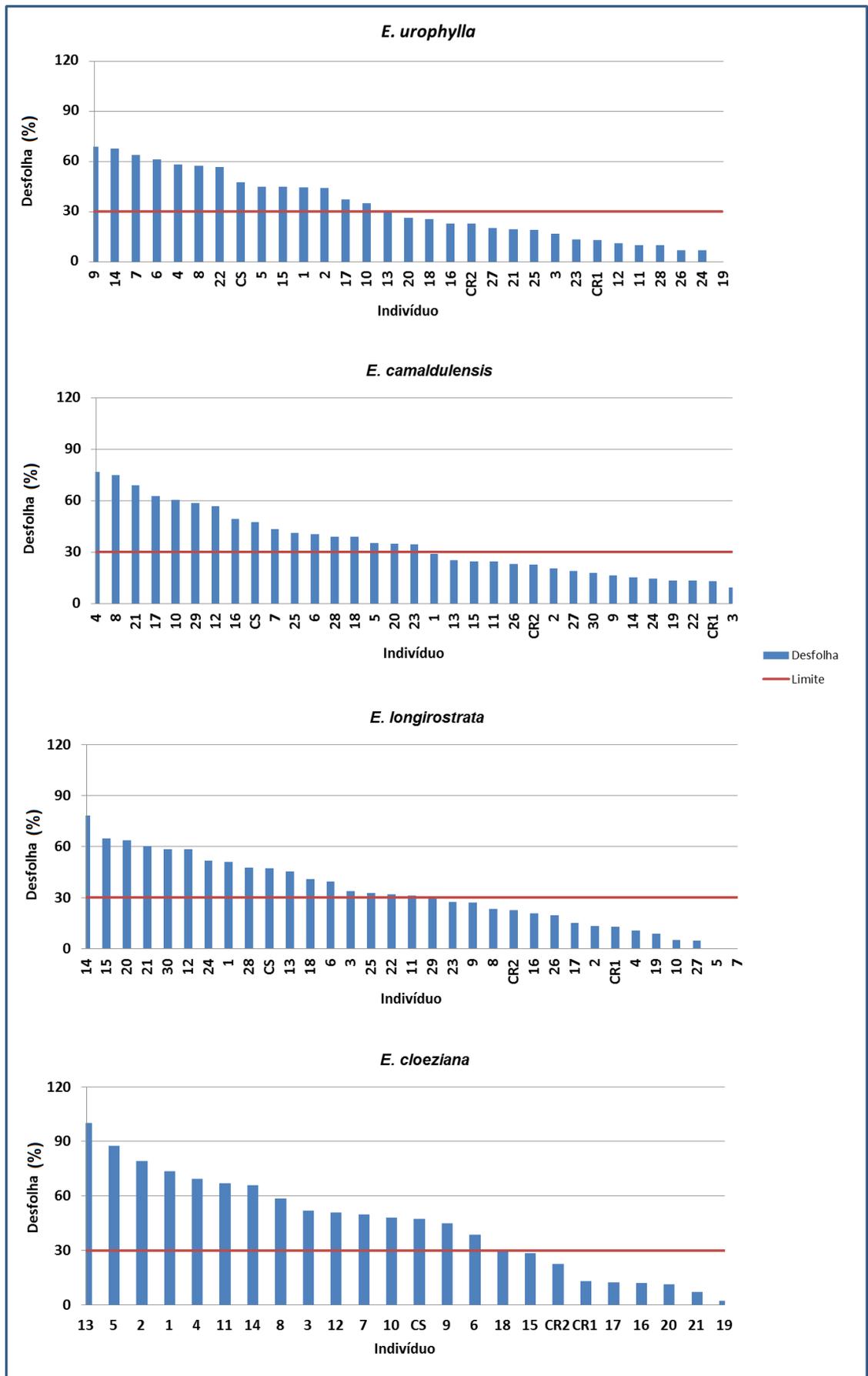


Figura 2. Continuação

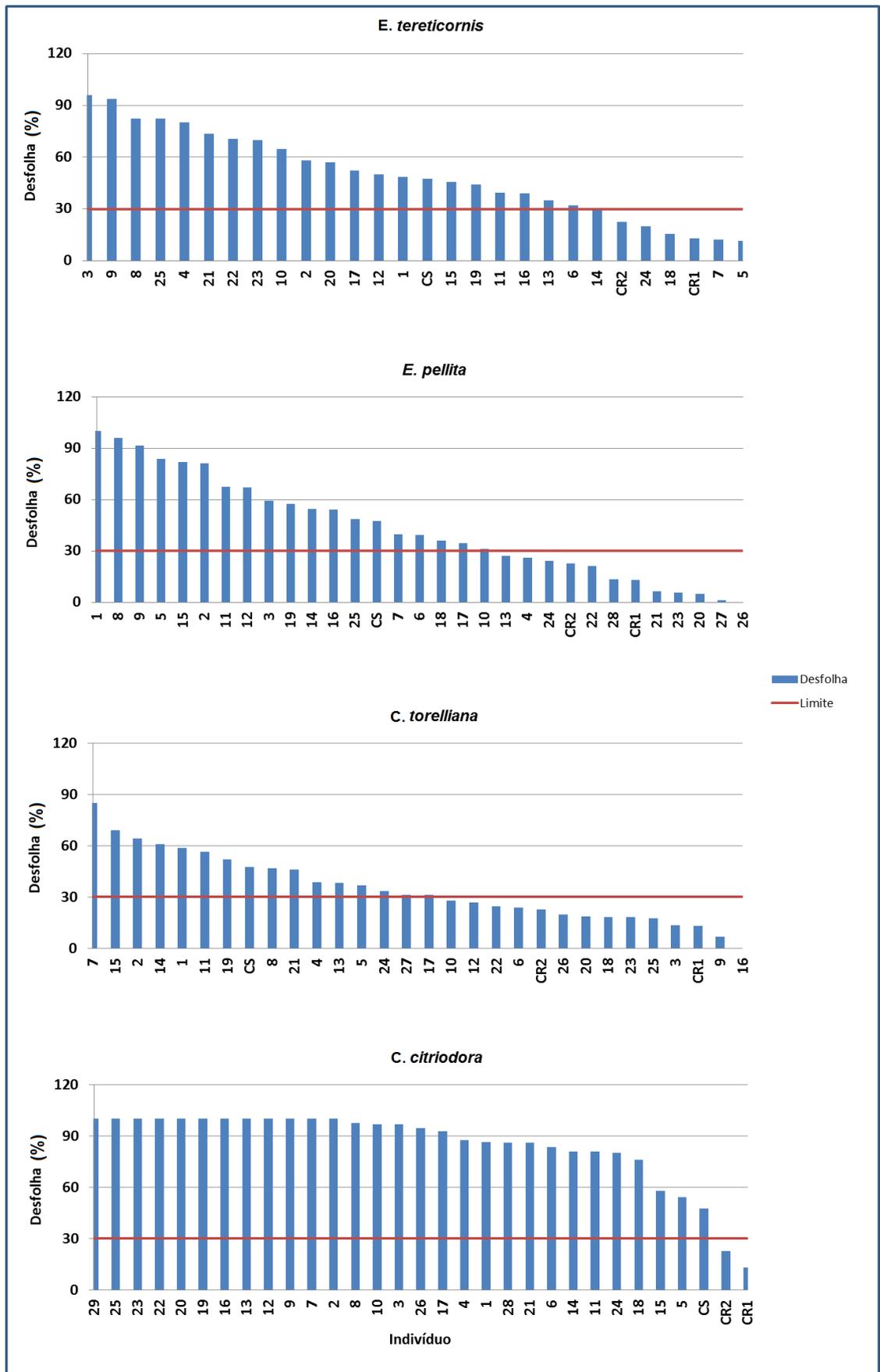


Figura 2. Continuação

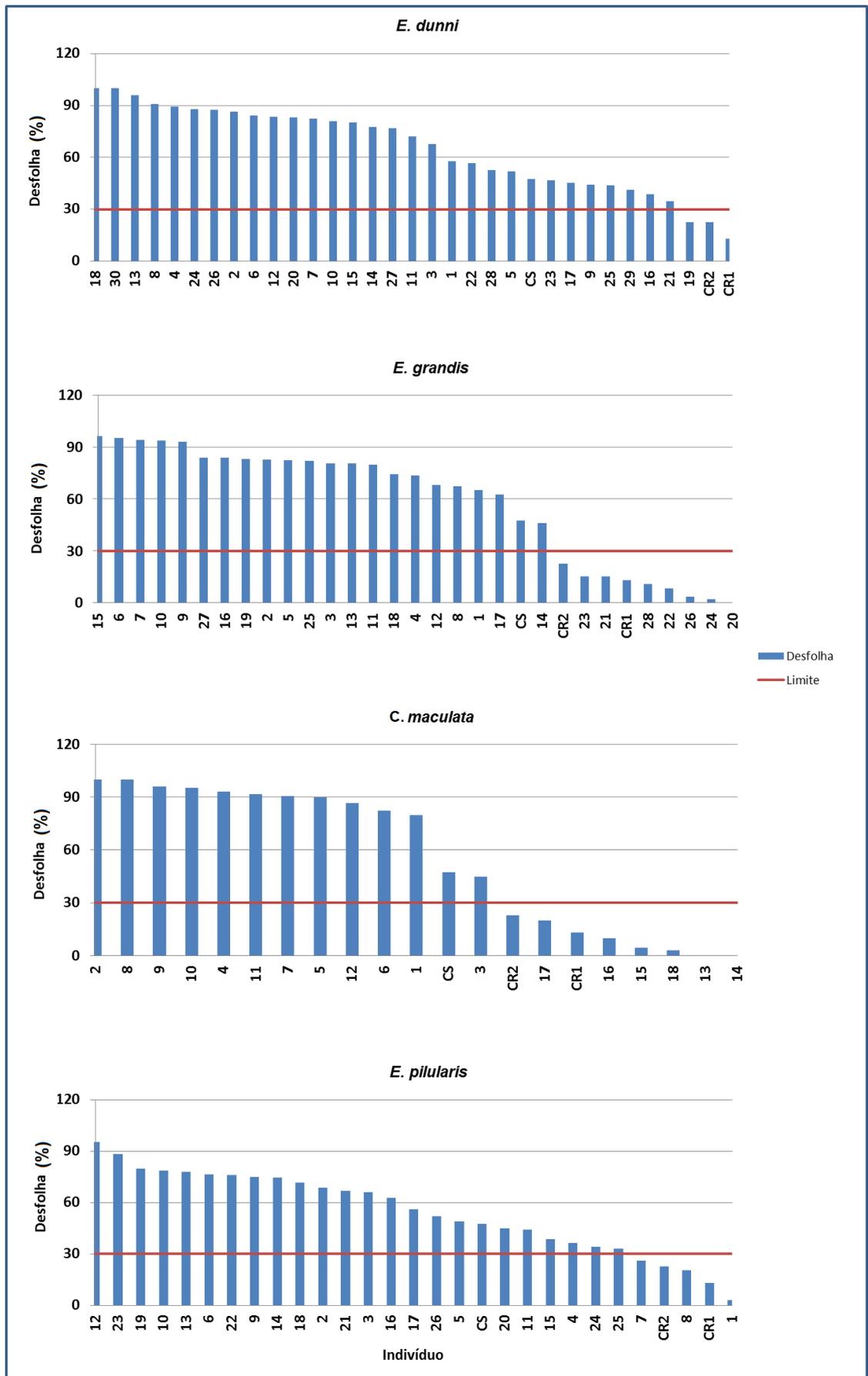


Figura 2. Continuação

As espécies, *Eucalyptus brassiana*, *E. saligna*, *E. scias* e *E. agglomerata* apresentaram maior frequência de plantas resistentes. Enquanto *C. citriodora*, *E. dunnii*, *E. grandis*, *C. maculata* e *E. pilularis* foram as espécies com a maior frequência de plantas suscetíveis, com mais de 50% de desfolha (Tabela 4).

Tabela 4. Frequência de plantas distribuídas em quatro níveis de porcentagem de desfolha em 14 espécies de *Eucalyptus* e três espécies de *Corymbia*, 50 dias após a inoculação de *Calonectria pteridis*

Espécies	Níveis de Desfolha			
	0 – 30 %*	31 – 50 %**	51 – 80 %***	81 – 100 %****
<i>E. agglomerata</i>	62.1	20.7	13.8	3.4
<i>E. brassiana</i>	87.0	8.7	0.0	4.3
<i>E. camaldulensis</i>	46.7	30.0	23.3	0.0
<i>C. citriodora</i>	0.0	0.0	21.4	78.6
<i>E. cloeziana</i>	33.3	23.8	33.3	9.5
<i>E. dunnii</i>	3.3	23.3	30.0	43.3
<i>E. grandis</i>	25.0	3.6	25.0	46.4
<i>E. longirostrata</i>	46.7	26.7	26.7	0.0
<i>C. maculata</i>	33.3	5.6	5.6	55.6
<i>E. pellita</i>	35.7	21.4	21.4	21.4
<i>E. pilularis</i>	11.5	26.9	53.8	7.7
<i>E. robusta</i>	47.4	42.1	0.0	10.5
<i>E. saligna</i>	64.3	21.4	7.1	7.1
<i>E. scias</i>	65.5	13.8	20.7	0.0
<i>E. tereticornis</i>	20.0	32.0	28.0	20.0
<i>C. torelliana</i>	44.4	29.6	22.2	3.7
<i>E. urophylla</i>	50	50	0	0

* resistente, ** moderadamente suscetível, ***, suscetível e **** altamente suscetível.

As variações dos sintomas e dos fenótipos nas espécies avaliadas são representadas pelas figuras 3 e 4.

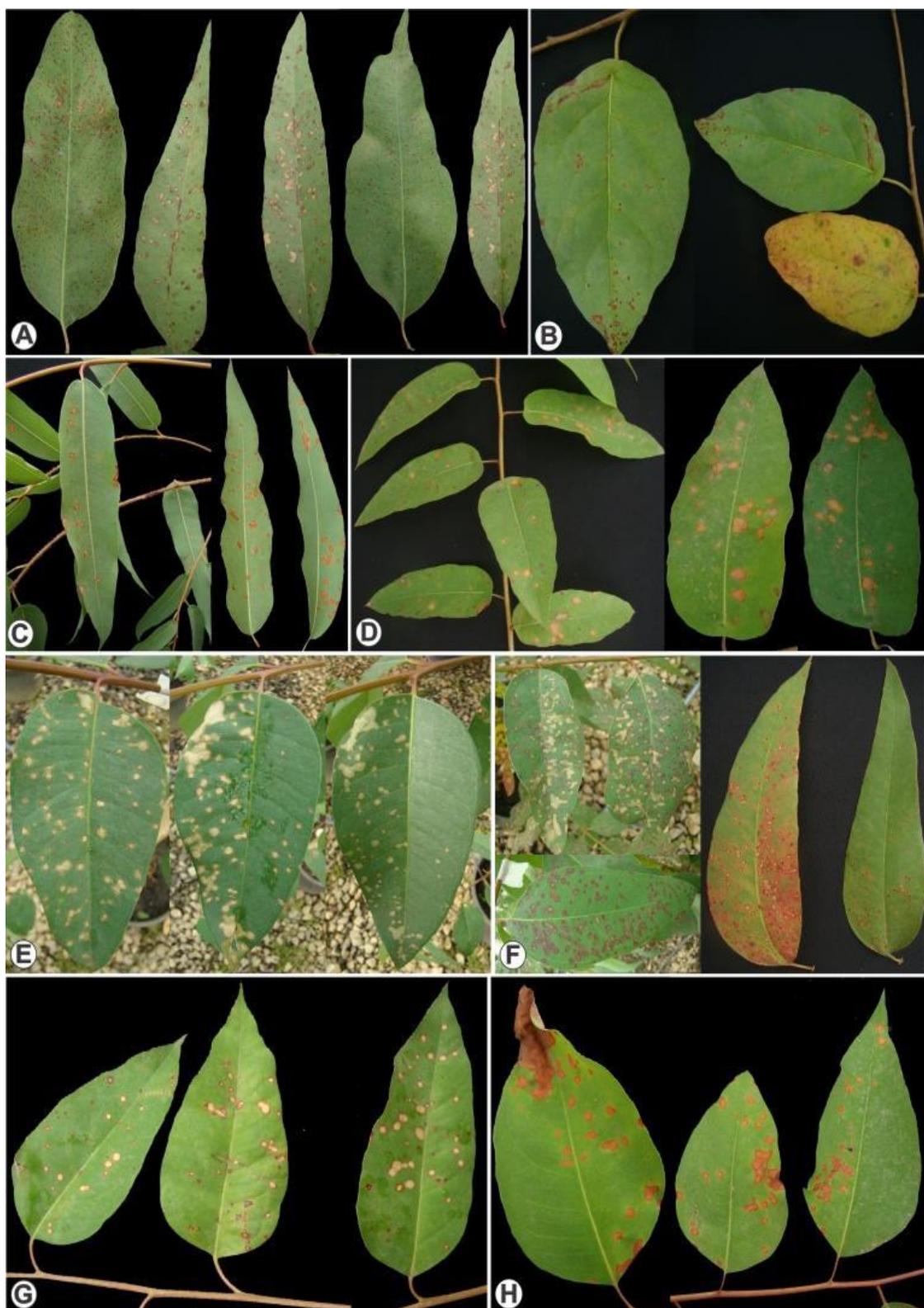


Figura 3. Variação dos sintomas em espécies de eucalipto inoculados com *Calonectria pteridis*. A- *Eucalyptus brassiana*, B- *Corymbia torelliana*, C- *Corymbia citriodora*, D- *Corymbia maculata*, E- *Eucalyptus robusta*, F- *Eucalyptus tereticornis*, G- *Eucalyptus urophylla* e H- *Eucalyptus cloeziana*.

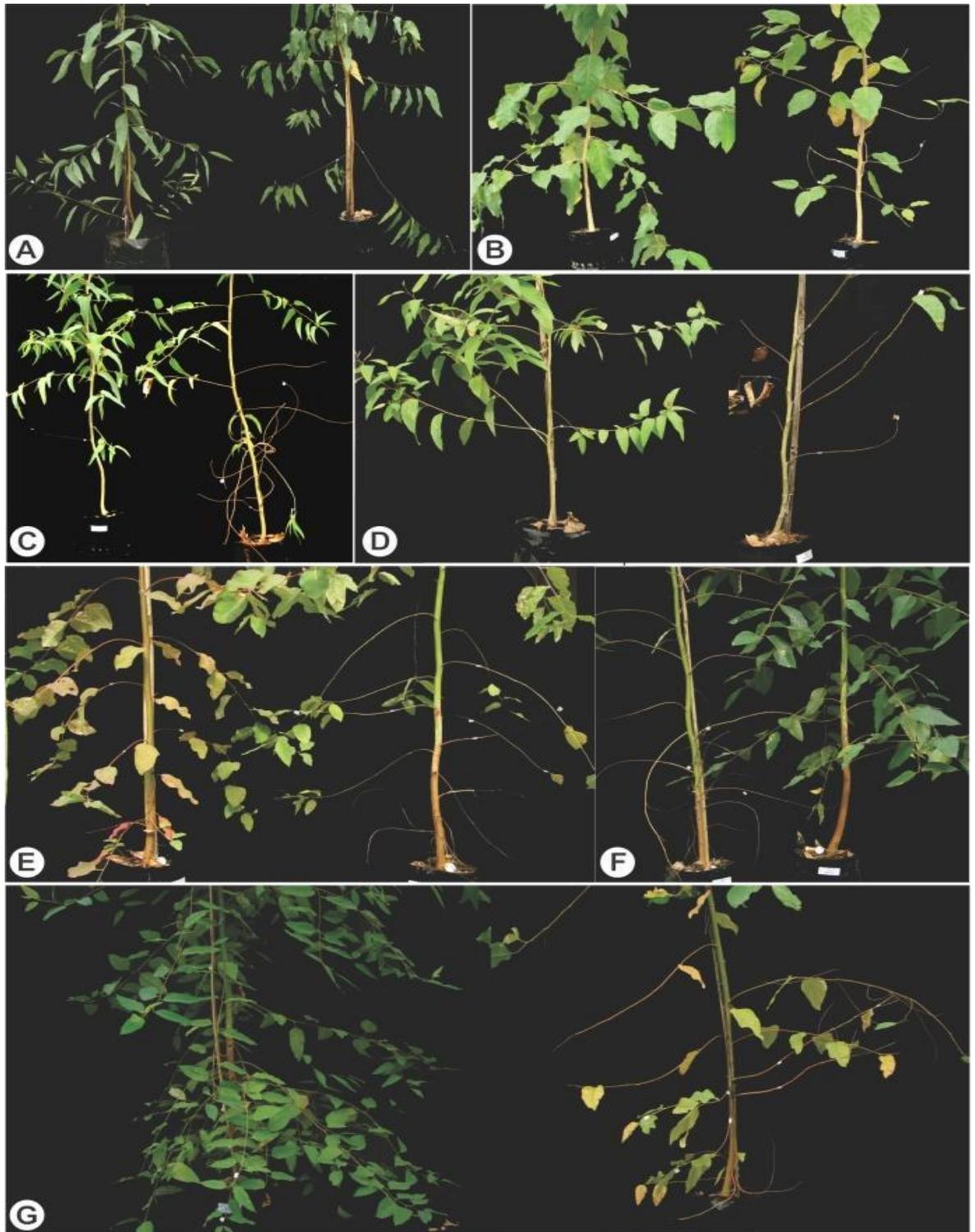


Figura 4. Variação no fenótipo de espécies de eucalipto inoculados com *Calonectria pteridis*, mostrando variabilidade intra-específica para resistência à mancha-de-pteridis. Genótipo resistente à esquerda e genótipo suscetível à direita. A - *Eucalyptus brassiana*, B- *Corymbia torelliana*, C- *Corymbia citriodora*, D- *Corymbia maculata*, E- *Eucalyptus pellita*, F- *Eucalyptus robusta* e G- *Eucalyptus urophylla*.

6. DISCUSSÃO

Assim como encontrado no campo, sob condições de infecção natural, as plantas inoculadas no presente estudo apresentaram lesões foliares pequenas, circulares ou alongadas, cinza claro a castanho-claro (Ferreira et al., 1995; Alfenas et al., 2009). Em lesões cinza claro, esporulação esparsa foi observada. Com a evolução da doença, as lesões se tornaram castanho claro e não foi observada esporulação. Intensa desfolha foi encontrada em genótipos altamente suscetíveis. Como observado em outras espécies de *Eucalyptus* sob infecção natural no campo, causada por diferentes espécies de *Calonectria* (Alfenas & Ferreira, 1979; Alfenas et al., 1979), a mancha-de-pteridis foi mais severa em folhas expandidas e a maior porcentagem de desfolha ocorreu nos ramos do terço basal da copa como anteriormente encontrado por outros autores (Guimarães et al., 2010, Graça et al., 2009).

A variabilidade inter e intra-específica para resistência de *Eucalyptus* spp., encontrada no presente estudo, possibilita a seleção de genótipos resistentes a ser utilizado para plantio comercial ou para melhoramento genético, de preferência sob polinização controlada. *Eucalyptus brassiana* foi a melhor fonte de resistência, seguido por *E. saligna*, *E. scias* e *E. agglomerata*. Apesar de um número limitado de fontes de sementes terem sido testadas, essas espécies podem não ser significativamente afetadas por *C. pteridis* no campo. No entanto, estas quatro espécies obtiveram alguns genótipos com mais de 50% de desfolha e podem ser afetados pelo fungo.

Por outro lado, *Corymbia citriodora*, *E. dunnii*, *E. grandis*, *E. pilularis* e *C. maculata* obtiveram mais de 60% de frequência de plantas classificadas como suscetíveis e altamente suscetíveis. É possível, no entanto, encontrar genótipos resistentes dentro das espécies altamente suscetíveis testando outras procedências australianas. Como espécies de *Eucalyptus* geralmente não cruzam com *Corymbia*, cruzamentos deve ser realizados entre as espécies do mesmo gênero (Dickinson et al., 2013, Fonseca et al., 2010).

Com base nos resultados dos efeitos da desrama artificial sobre o crescimento das árvores de *Eucalyptus grandis* (Pires, 2000), neste trabalho, considera-se como resistentes, as plantas apresentando até 30% de desfolha. Embora os efeitos da mancha-de-pteridis ainda não tenham sido quantificados, patógenos foliares reduzem a atividade fotossintética (Berger et al., 2007, Domiciano et al., 2009) e, conseqüentemente, o crescimento das plantas. Dependendo do nível da doença, podem haver efeitos negativos significativos sobre o crescimento da árvore no campo, como encontrado por Pires (2000) pela desrama artificial de *E. grandis* e por Alves et al. (2011) em clones de *Eucalyptus urophylla* infectados por *Puccinia psidii* Winter. Se *C. pteridis* produzir metabólitos fitotóxicos durante o processo infeccioso, é possível que os efeitos negativos da desfolha de *Eucalyptus* spp. sejam superiores que os da desrama artificial (Pires, 2000). Portanto, genótipos resistentes exibindo 0-30% de desfolha podem ser clonados e potencialmente utilizadas para plantio comercial ou para transferência de genes de resistência em programas de melhoramento genético.

Os resultados deste trabalho diferem daqueles que foram obtidos por Blum et al. (1992), onde *E. robusta*, *E. urophylla*, *C. citriodora*, *E. pellita*, *E. grandis* e *C. maculata* foram resistentes a *Calonectria brassicae* (Panwar & Borha) L. Lombard, MJ Wingf. & Crous (syn. *Cylindrocladium clavatum* Hodges & LC) e *Calonectria morgani* Crous, Alfenas MJ Wingf. (syn. *Cylindrocladium scoparium* Morgan). No entanto, estas diferenças podem ser atribuídas à fonte de sementes, método de inoculação, a idade e arquitetura das plantas.

Atualmente a maioria dos clones comerciais de *Eucalyptus* plantadas no Brasil é "urograndis" (*E. grandis* x *E. urophylla*) (Fonseca et al. , 2010). Inoculações sob condições controladas demonstraram que mais de 65% dos

clones comerciais avaliados foram suscetíveis à mancha-de-pteridis (Santos et al., 2008). Portanto, é necessário ampliar a base genética das populações de melhoramento por meio da introgressão de genes de resistência de diferentes espécies de *Eucalyptus* com características silviculturais e tecnológicas complementares superiores (Alfenas et al., 2009). Os genótipos resistentes das diferentes espécies encontradas neste trabalho serão clonados por estacas enraizadas e as repetições serão testados em campo para avaliar o seu desempenho e confirmar a sua resistência em condições de infecção natural. As plantas superiores resistentes podem ser potencialmente utilizadas para plantio comercial e, ou de reprodução.

7. CONCLUSÃO

De acordo com o presente trabalho pode-se concluir que *Eucalyptus brassiana*, *E. agglomerata*, *E. saligna* e *E. scias* foram as espécies mais resistentes, enquanto *C. citriodora*, *E. dunni*, *E. grandis*, *C. maculata* e *E. pilularis* as mais suscetíveis, porém existe variabilidade intra-específica para resistência à mancha-de-pteridis, portanto mesmo em espécies suscetíveis é possível selecionar genótipos resistentes.

Eucalyptus brassiana constitui uma excelente fonte de resistência à mancha-de-pteridis uma vez que mais de 85% das plantas avaliadas tiveram menos de 30% de desfolha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF, Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. **Anuário Estatístico da ABRAF, 2013, ano base 2012**. Brasília, 2013. 148p

ALFENAS, R.F. **Taxonomia e Biologia de *Calonectria* no Brasil**. 142p. Dissertação (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

ALFENAS A.C.; FERREIRA M.A.; ALFENAS R.F. **Impacts of emerging diseases and their control in the cultivation of eucalyptus**. In: II Brazilian Forestry, Campinas / SP. Proceedings of the II Brazilian Forestry. Piracicaba: PTSM / IPEF / ESALQ / FUPEF. v. 2. p. 115-127, 2011.

ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2 ed. Editora UFV. 2009. 442p

ALFENAS, A.C. Fungos do gênero *Cylindrocladium* como patógenos florestais no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 275-277, 1986.

ALFENAS, A.C.; FERREIRA, F. A. Mancha de folha do eucalipto no Brasil causada por três espécies de *Cylindrocladium* - Uma revisão da descrição da doença. **Revista Árvore**, v. 3 (1), p. 47-56, 1979.

ALFENAS, A.C.; MATSUOKA, A.K.; FERREIRA, F.A.; HODGES, C.S. Identificação, características culturais e patogenicidade de três espécies de *Cylindrocladium*, isolados de manchas de folha de *Eucalyptus* spp. **Fitopatologia Brasileira**, v. 4, p. 445-459, 1979.

ALFENAS, R.F.; PEREIRA O.L.; FREITAS, R.G.; FREITAS C.S.; DITA M.A.D.; ALFENAS A.C. Mass production and spore inoculation of *Calonectria pteridis* on *Eucalyptus* spp., under different environmental conditions. **Tropical Plant Pathology**, 2013 (Submetido)

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

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, 919 p.

BERGER S.; SINHA A.K.; ROITSCH T. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant–pathogen interactions. **Journal of Experimental Botany** v.58: 4019–4026, 2007.

BLUM L.E.B.; DIANESE J.C.; COSTA C.L. Comparative pathology of *Cylindrocladium clavatum* and *C. scoparium* on *Eucalyptus* spp. and screening of *Eucalyptus* provenances for resistance to *Cylindrocladium* damping-off. **Tropical Pest Management** 38:155-159, 1992.

BRUTON, B.D. Soilborne diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. **International Society of Horticultural Science**. p.143-166. 1998.

CEDEÑO L.; CARRERO C. *Cylindrocladium pteridis* causando manchas foliares em eucaliptos de Portuguesa-Venezuela. **Revista Forest Venezuela** v.44 p.101-106, 2000.

CROUS, P.W. **Taxonomy and pathology of *Cylindrocladium* (*Calonectria*) and allied genera**. APS Press, St. Paul, Minnesota, U.S.A., 2002. 278 p.

CRUZ, 2013. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35 p.271-276.

DIANESE J.C. Problemas patológicos das florestas plantadas do Vale do Rio Jari. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, n2, 274-275, 1986.

DICKINSON G.R.; WALLACE H.M.; LEE D.J. Reciprocal and advanced generation hybrids between *Corymbia citriodora* and *C. torelliana*: forestry breeding and the risk of gene flow. **Annals of Forest Science** v.70 p. 1-10, 2013.

DOMICIANO, G.P.; RESENDE, R.S.; RODRIGUES, F.A.; DAMATTA, F.M. Alteração na fotossíntese de plantas infectadas por patógenos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 17, p. 305-339, 2009.

FERREIRA F.A.; MILANI D. Visual diagnosis and control of abiotic and biotic diseases of eucalyptus in Brazil - **Visual Diagnosis and control of abiotic and biotic Eucalyptus diseases in Brazil**. Lush: International Paper & Federal University of Viçosa, 2002.

FERREIRA, F.A.; ALFENAS, A.C.; MOREIRA, A.M.; DEMUNER, N.L. Mancha-de-pteridis doença foliar de eucalipto em áreas tropicais brasileiras. **Fitopatologia brasileira**, v. 20, p. 107-110, 1995.

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

FONSECA, S.M.; RESENDE, M.D.V.; ALFENAS, A.C.; GUIMARÃES, L.M.S.; ASSIS, T.F.; GRATTAPLAGLIA, D. **Manual Prático de Melhoramento Genético do Eucalipto**. Editora UFV. Viçosa, 2010. 200p.

GRAÇA, R.N.; ALFENAS, A.C.; MAFFIA, L.A.; TITON, M.; ALFENAS, R.F.; LAU, D.; ROCABADO, J.M.A. Factors influencing infection of eucalypts by *Cylindrocladium pteridis*. **Plant Pathology**, v.58 (5), p. 971-981, 2009.

GRATTAPAGLIA D.; VAILLANCOURT R.E.; SHEPHERD M.; THUMMA B.R.; FOLEY W.; KÜLHEIM C.; POTTS B.M.; MYBURG A.A. Progress in Myrtaceae genetics and genomics: Eucalyptus as the pivotal genus. **Tree Genetics & Genomes** v.8 p.463–508, 2012

GUIMARÃES L.M.S.; TITON M.; LAU D.; ROSSE L.N.; OLIVEIRA L.S.S.; ROSADO G.C.C.; CHRISTO G.G.O; ALFENAS, A.C. *Eucalyptus pellita* as a source of resistance to rust, Ceratocystis wilt and leaf blight. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** v.10 p. 124-131, 2010.

HIROTA A.; SUZUKI A.; SUZUKI H.; TAMURA S. Isolation and biological activity of Cyl-2, a metabolite of *Cylindrocladium scoparium*. **Agricultural and Biological Chemistry** v.37 p.643-647, 1973.

HODGES C.S.; REIS M.S.; FERREIRA F.A. Uma nova enfermidade de acículas de pinus no Brasil causada por *Cylindrocladium pteridis*. **Brasil Florestal**, v.6, n21, 8-11, 1975.

LOMBARD L.; RODAS C.A.; CROUS P.W.; WINGFIELD B.D.; WINGFIELD M.J. *Calonectria (Cylindrocladium)* species associated with dying *Pinus* cuttings. **Persoonia** v.23 p.41-47, 2009

MC DONALD, B.A., LINDE, C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 349-379, 2002.

PIRES B.M. **Efeito da desrama artificial no crescimento e qualidade da madeira de *Eucalyptus grandis* para serraria**. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

POLTRONIERI L.S.; TRINDADE D.R.; ALFENAS A.C.; ALBUQUERQUE F.C.; CARVALHO J.E.U. Podridão peduncular de coco causada por *Cylindrocladium floridanum* no estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira** v.28 (1) p.106, 2003.

PULROLNIK K.; REIS G.G.; REIS M.G.F.; MONTE M.A.; FONTAN I.C.I. Crescimento de plantas de clone de *Eucalyptus grandis* (Hill ex. Maiden) submetidas a diferentes tratamentos de desrama artificial, na região do cerrado. **Revista Árvore** v.29 p.495–505,2005

SANTOS, M.R.; GUIMARÃES, L.M.S.; MAFIA, R.G.; ALFENAS, A.C. Avaliação da resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*), mancha-bacteriana (*Xanthomonas axonopodis*), murcha-de-ceratocystis (*Ceratocystis fimbriata*) e mancha-de-pteridis (*Cylindrocladium pteridis*) em clones comerciais de *Eucalyptus* spp. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. S269, 2008.

Sobers E.K. Morphology and host range of *Cylindrocladium pteridis*. **Phytopathology**, v.58, n9, 1265-70, 1968.

VON WALLBRUNN C.; LUFTMANN H.; BERGANDER K.; MEINHARDT F. Phytotoxic chaetoglobosins are produced by the plant pathogen *Calonectria morganii* (anamorph *Cylindrocladium scoparium*). *Journal of General and Applied Microbiology* v.47 p.33-38, 2001.

WOLF, F.A. Brown leaf spot of leather leaf fern. **J. Elisha Mitchell Sci. Soc.** v.42 p.55-62, 1926.

ZARPELON T.G.; GUIMARÃES L.M.S.; COUTINHO M.M.; CAPUA NETO B.; FARIA D.A.; GRATTAPAGLIA D.; ALFENAS A.C. **QTL associated with resistance to defoliation (*Cylindrocladium pteridis*) in *Eucalyptus* spp.** In: IUFRO Tree Biotechnology Conference "From genomes do Integration and delivery", 2011, Porto Seguro. IUFRO Tree Biotechnology Conference "From genomes do Integration and delivery", 2011.