

MARISÂNGELA RODRIGUES DOS SANTOS

**RESISTÊNCIA GENÉTICA À FERRUGEM EM *Eucalyptus pellita* E *E. urophylla*
x *E. grandis***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFRV**

T

S237r
2011

Santos, Marisângela Rodrigues dos, 1982-
Resistência genética à ferrugem em *Eucalyptus pellita* e
E. urophylla x *E. grandis* / Marisângela Rodrigues dos Santos.
– Viçosa, MG, 2011.
viii, 37f. : il. ; 29cm.

Orientador: Acelino Couto Alfenas.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Eucalipto - Resistência a doenças e pragas. 2. Eucalipto -
Melhoramento genético. 3. *Eucalyptus pellita*.
4. *Eucalyptus urophylla*. 5. *Eucalyptus grandis*. I. Universidade
Federal de Viçosa. II. Título.

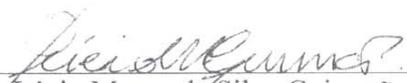
CDD 22. ed. 581.35

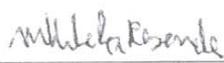
MARISÂNGELA RODRIGUES DOS SANTOS

RESISTÊNCIA GENÉTICA À FERRUGEM EM *Eucalyptus pellita* e *E. urophylla*
x *E. grandis*

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento, para
obtenção do título de *Magister*
Scientiae.

APROVADA: 30 de março de 2011.


Pesq. Lúcio Mauro da Silva Guimarães
(Co-orientador)


Pesq. Marcos Deon Vilela de Resende
(Co-orientador)


Prof. Gleiber Quintão Furtado


Prof. Acelino Couto Alfenas
(Orientador)

Aos meus pais,
João e Zita
Aos meus irmãos,
Geraldo, Ronaldo, Elisângela e Solange
Aos meus sobrinhos,
Letícia, Lucas, Aline, João Vitor e Arthur

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade de realização dos cursos de graduação e mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Cursos de Pós-Graduação (Capes) pelo apoio financeiro e logístico.

Ao Prof. Acelino Couto Alfenas pela amizade, pelos conselhos, ensinamentos, pela orientação, pelas críticas e sugestões, além do apoio durante a realização deste trabalho.

Ao Dr. Lúcio Mauro da Silva Guimarães, pela orientação, paciência, pelas críticas, sugestões e inúmeras revisões desse trabalho.

Ao Dr. Marcos Deon Vilela de Resende pela orientação e ajuda nas análises dos dados.

Ao Dr. Douglas Lau e Dr. Alexandre Alves Alonso pela valiosa revisão deste trabalho.

À Veracel S.A., pelo financiamento parcial de pesquisa e fornecimento dos genitores e progênes para a execução deste trabalho, em especial a David Evandro Fernandes, Leonardo Novaes Rosse, Karina Carniele Zamprogno e Sézar Augusto.

Ao meu namorado, Felipe Bermudez Pereira, pela atenção, paciência, pelo carinho, companheirismo e amor.

À Márcia Brandão, pela amizade, pelo carinho e pela disponibilidade em ajudar sempre.

Ao Benjamin Peres pela amizade, aconselhamentos, paciência e imprescindível ajuda na finalização deste trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório de Patologia Florestal – BIOAGRO/UFV pela amizade e ajuda na realização dos experimentos, em especial a Bruno, Ricardo, Daniele, Rodrigo Neves, Talyta, Marcela, Camila Freitas, Rodrigo Galvão, Mara e Sr. João.

Aos amigos do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento.

Aos meus pais João Rodrigues e Zita Barbosa e aos meus irmãos Geraldo, Ronaldo, Solange e Elisângela, que mesmo longe, sempre me apoiaram, me incentivaram, torceram por mim e me deram força pra sempre seguir em frente.

A todos os meus amigos, de longe e de perto, que de uma forma ou outra contribuíram pra realização deste trabalho, em especial à Flávia, Carla, Cíntia, ao Felipe Rodrigues e Azul que sempre estiveram prontos a me ajudar.

BIOGRAFIA

Marisângela Rodrigues dos Santos filha de João Rodrigues dos Santos e Zita Barbosa dos Santos nasceu em Coronel Fabriciano, Minas Gerais, em 25 de setembro de 1982.

Cursou o Ensino Fundamental na Escola Municipal Vereador Nicanor Ataíde no período de 1989 a 1997 e o Ensino Médio na Escola Estadual Alberto Giovannini de 1998 a 2000.

Em setembro de 2003, ingressou no curso de Engenharia Florestal, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), no qual foi bolsista de iniciação científica, sob a orientação do Professor Acelino Couto Alfenas. Graduiu-se em 25 de janeiro de 2008, obtendo o título de Engenheira Florestal.

De fevereiro de 2008 a fevereiro de 2009 foi Bolsista de Aperfeiçoamento no Laboratório de Patologia Florestal sob a orientação do Prof. Acelino Couto Alfenas.

Em março de 2009, iniciou o curso de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade Federal de Viçosa, sob orientação do mesmo professor.

Em março de 2011, submeteu-se ao exame final de defesa de dissertação para obtenção do título de *Magister Scientiae* em Genética e Melhoramento na Universidade Federal de Viçosa.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
ARTIGO 1 - HERANÇA DA RESISTÊNCIA À FERRUGEM DO EUCALIPTO (<i>PUCCINIA PSIDII</i>) EM PROGÊNIES DE <i>EUCALYPTUS PELLITA</i>	8
RESUMO	8
INTRODUÇÃO.....	8
MATERIAL E MÉTODOS.....	10
<i>Material Vegetal</i>	10
<i>Inoculação</i>	10
<i>Avaliação da resistência</i>	11
RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
ARTIGO 2 – RESISTÊNCIA À FERRUGEM DO EUCALIPTO (<i>PUCCINIA PSIDII</i>) EM GENITORES <i>EUCALYPTUS GRANDIS</i>, <i>E. UROPHYLLA</i> E SEUS HÍBRIDOS.....	24
RESUMO	24
INTRODUÇÃO.....	25
MATERIAL E MÉTODOS.....	26
<i>Material vegetal</i>	26
<i>Inoculação</i>	26
<i>Avaliação da resistência</i>	26
<i>Delineamento Experimental</i>	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
CONCLUSÕES GERAIS	37

RESUMO

SANTOS, Marisângela Rodrigues dos. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2011. **Resistência genética à ferrugem em *Eucalyptus pellita* e *E. urophylla* x *E. grandis*.** Orientador: Acelino Couto Alfenas. Coorientadores: Lúcio Mauro da Silva Guimarães e Marcos Deon Vilela de Resende

A ferrugem do eucalipto causada pelo fungo *Puccinia psidii* é, atualmente, uma das principais enfermidades da cultura do eucalipto no Brasil. O controle da doença tem sido realizado por meio do plantio de espécies, progênies ou clones resistentes. Nos últimos anos, o caráter resistência tem sido incorporado nos programas de melhoramento genético da cultura a fim de se obterem genótipos resistentes e superiores para plantio comercial. No entanto, a fim de traçar a estratégia de melhoramento, é fundamental determinar o modelo de herança da resistência. O presente trabalho objetivou determinar a base genética da resistência em famílias de irmãos completos de *E. pellita* e de *E. urophylla* x *E. grandis* por meio de inoculações, sob condições controladas, do isolado monopostular UFV-2 (raça 1) de *P. psidii*. Os resultados de inoculação de 441 indivíduos oriundos de quatro progênies de *E. pellita* indicaram que a resistência é de caráter quantitativo onde vários genes atuam na resposta de defesa da planta. No segundo estudo empregaram-se 58 genitores de *E. grandis*, 92 de *E. urophylla* e 607 indivíduos de 31 progênies oriundas do cruzamento de *E. grandis* x *E. urophylla*. Entre os genitores avaliados 32% foram resistentes à ferrugem, sendo que 88% são de *E. urophylla*. Na avaliação das progênies encontrou-se um maior número de indivíduos suscetíveis (1R:3S), indicando um padrão de segregação distinto do modelo monogênico, proposto para *E. grandis*. As segregações encontradas neste trabalho demonstram que o controle da resistência é mais complexo e está mais próximo de um modelo oligogênico, onde mais de um gene atua na resposta de defesa da planta.

ABSTRACT

SANTOS, Marisângela Rodrigues dos. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2011. **Genetic resistance to rust in *Eucalyptus pellita* and *E. urophylla* x *E. grandis*.** Advisor: Acelino Couto Alfenas. Co-advisors: Lúcio Mauro da Silva Guimarães and Marcos Deon Vilela Resende.

Eucalyptus rust caused by *Puccinia psidii* is currently one of the main eucalypt in Brazil. Disease control has been accomplished by planting rust resistance genotypes. In the last years, this character has been incorporated into eucalypt resistance breeding programs to obtain resistant and superior genotypes for commercial planting. However, to set the breeding strategy, it is crucial to identify the pattern of rust resistance inheritance. This study aimed to determine the genetic basis of rust resistance in full-sib families of *E. pellita* and *E. urophylla* x *E. grandis*. The eucalypt seedlings were inoculated with the *P. psidii* single pustule isolate UFV2. The segregation pattern of inoculation of 441 individuals from four progeny of *E. pellita* indicate that resistance is a quantitative trait where several genes act in the plant defense response. In the second study 58 *E. grandis* parents, 92 *E. urophylla* and 607 individuals of 31 progenies originated from crosses between *E. grandis* x *E. urophylla* were evaluated. Between the evaluated parents rated 32% were resistant to the rust and among those 88% were *E. urophylla*. A large number of susceptible individuals (1R: 3S) were observed in the progeny indicating a distinct pattern of segregation from the expected single gene model proposed for *E. grandis*. The segregation found in this study show that the resistance control is more complex and it is closer to an oligogenic model, where more than one gene works in the plant defense response.

INTRODUÇÃO GERAL

O eucalipto (*Eucalyptus* spp.) pertence à família Myrtaceae, sendo originário da Austrália, Indonésia e Papua Nova Guiné, com cerca de 600 espécies e subespécies (Santos et al., 2001). Atualmente as espécies do gênero *Eucalyptus* são as essências florestais mais plantadas no mundo, com aproximadamente 18 milhões de hectares (FAO, 2010). O Brasil ocupa lugar de destaque como um dos países de maior área plantada com eucalipto, com aproximadamente 4,5 milhões de hectares. Estima-se que 67% dessa área estejam distribuídos nas regiões Sul e Sudeste, para a produção de madeira para celulose e papel (ABRAF, 2010). No Brasil os programas de melhoramento do eucalipto são baseados, principalmente, nos híbridos interespecíficos entre as espécies *E. grandis* Hill ex Maiden e *E. urophylla* S. T. Blake. Além dessas, possuem importância econômica as espécies: *E. benthamii* Maiden et Cabbage, *E. brassiana* S. T. Blake, *E. camaldulensis* Dehn, *E. citriodora* Hook, *E. cloeziana* F. Muell, *E. dunnii* Maiden, *E. saligna* Sm, *E. globulus* La Bill, *E. pilularis* Sm, *E. tereticornis* Sm, *E. pellita* F. Muell e *E. smithii* R.T. Baker (Fonseca et al., 2010).

Nos últimos anos a área plantada com eucalipto no Brasil tem aumentado consideravelmente. A demanda crescente de madeira dos diferentes segmentos do setor produtivo, aliado aos preços atrativos de alguns produtos florestais, tem sido os fatores preponderantes na expansão da eucaliptocultura. Entretanto, com a ampliação das áreas plantadas, tem sido crescente o surgimento de enfermidades que afetam a cultura e causam perdas significativas na produção. Dentre essas, a ferrugem do eucalipto, causada pelo fungo *Puccinia psidii* Winter é, atualmente, uma das principais doenças da eucaliptocultura (Alfenas et al., 2009).

A ferrugem do eucalipto foi observada pela primeira vez no Brasil em 1929 (Gonçalves, 1929) e formalmente descrita por Jofilly (1944) em plantas de *E. citriodora* Hook. A primeira epidemia relevante de *P. psidii* em eucalipto ocorreu em 1973 no Espírito Santo, onde cerca de 400.000 mudas de *E. grandis* oriundas de sementes da África do Sul foram descartadas em decorrência da doença (Ferreira, 1983). *Puccinia psidii* apresenta uma ampla distribuição geográfica, principalmente nas Américas do Sul e Central (Coutinho et al., 1998), nas Ilhas do Caribe (Laudon & Waterston, 1965; Di Stefano et al., 1998), na Jamaica (Maclachlan, 1938), na Flórida - EUA (Marlatt & Kimbrough, 1979; Rayachhetry et al., 1997), no Havaí - EUA (Uchida et al., 2006), e recentemente no Japão (Kawanishi et al., 2009) e provavelmente na Austrália, onde a

doença foi atribuída a *Uredo rangeli* (Carnegie, 2010). Há também um relato não confirmado de sua ocorrência em Taiwan (Wang, 1992). Além do eucalipto, *P. psidii* infecta 77 espécies pertencentes a 17 gêneros da família Myrtaceae (USDA Fungal Databases, 2011).

A ferrugem do eucalipto incide em mudas na fase de viveiro, plantios novos de até dois anos de idade, brotações no campo após o corte raso e em jardim e mini-jardim clonal (Alfenas et al., 2009). A doença caracteriza-se pela presença de pústulas urediniospóricas de coloração amarela intensa. Os sintomas são observados nos tecidos jovens de folhas e hastes de mudas e brotações após corte raso (Ferreira, 1983; Alfenas et al., 2009). Sob condições de temperaturas mais elevadas observam-se também pústulas teliospóricas de coloração marrom (Ruiz et al., 1989a). Em genótipos altamente suscetíveis, as pústulas podem coalescer e recobrir a superfície das brotações causando deformações, perda da dominância apical, redução do crescimento e, eventualmente, ocasionar a morte da planta (Alfenas et al., 2009).

A ampla variabilidade genética inter e intra-específica para resistência à ferrugem em *Eucalyptus* spp., permite o controle da doença por meio do plantio de clones, progênies ou espécies resistentes (Carvalho et al., 1998; Dianese et al., 1984; Alfenas et al., 1997; Xavier et al., 2007). As principais espécies plantadas no Brasil, *E. grandis* e *E. urophylla*, possuem ampla variabilidade genética para resistência, apesar de serem consideradas como predominantemente suscetível e resistente, respectivamente (Zauza et al., 2010). Quanto às demais espécies destacam-se *E. tereticornis*, *E. pellita* e *E. camaldulensis* como predominantemente resistentes; e *E. globulus*, *E. nitens* e *E. cloeziana* como predominantemente suscetíveis (Zauza et al., 2010).

Atualmente, a resistência à ferrugem aliada às características de crescimento e qualidade da madeira está entre os principais critérios de seleção de genótipos para plantios comerciais ou para serem utilizados nos programas de melhoramento genético (Fonseca et al., 2010). Um dos fatores que contribuíram para o sucesso na seleção de genótipos resistentes é o método de inoculação (Ruiz et al., 1989b) e de avaliação da severidade da doença (Junghans et al., 2003b).

Entretanto, para que o programa de melhoramento genético visando resistência à ferrugem do eucalipto tenha sustentabilidade, além da seleção de genótipos resistentes, é essencial conhecer a base genética da resistência. Com esse objetivo, Junghans et al., (2003a), a partir de estudos em famílias de irmãos completos de *E. grandis*, demonstraram que parte da variação fenotípica da resposta de defesa à ferrugem é

controlada por um loco de efeito principal, denominado *Ppr1* (*Puccinia psidii* resistance gene 1). Foi sugerido também nesse trabalho que genes de efeito secundários e, ou modificadores podem interferir na resistência conferida por *Ppr1*, fazendo com que esse tenha uma penetrância incompleta e, ou uma expressividade variável dependendo do *background* genético, o que remete a um modelo de herança poligênico. Aparentemente, a resistência conferida por *Ppr1* está associada a uma resposta de hipersensibilidade, uma vez que em genótipos resistentes visualiza-se necrose das células localizadas no sítio de penetração do fungo (Xavier, 2002).

A partir do estudo de Junghans et al., (2003a) outros trabalhos têm ajudado a entender a base genética da resistência à ferrugem em eucalipto, principalmente em cruzamentos interespecíficos. Alves (2008) estudou o controle genético da resistência à ferrugem em cruzamentos interespecíficos envolvendo as seguintes espécies: *E. grandis*, *E. dunnii*, *E. globulus*, *E. urophylla* e *E. camaldulensis* e atribuiu a resistência a presença de dois genes independentes com epistasia recessiva dupla. Em outro recente trabalho, Teixeira et al., (2009) analisou a herança da resistência à ferrugem em progênies interespecíficas de eucalipto, sob condições naturais de infecção, e os resultados indicaram um controle da resistência por um gene de efeito principal e pelo menos três alelos, com interações entre os alelos. No entanto, trabalhos realizados em condições de infecção natural de *P. psidii* devem ser vistos com cautela uma vez que sob tais condições pode haver a ocorrência de plantas escapes classificadas erroneamente como resistentes.

O gene *Ppr1* foi mapeado em uma progênie de *E. grandis* estando fortemente ligado ao marcador RAPD AT9₉₁₇ (Junghans et al., 2003a). Posteriormente, Zamprogno et al., (2008) ao trabalharem com uma progênie interespecífica não relacionada encontraram um marcador RAPD AK₀₁ ligado em repulsão a 20 cM do gene de resistência. Entretanto, em função das limitações inerentes à técnica de RAPD, o uso da informação de ligação tem ficado restrita ao *pedigree* utilizado para o mapeamento, limitando o compartilhamento interexperimental de dados e a possibilidade de validação do gene, aspecto fundamental para a seleção assistida por marcadores. Recentemente, Mamani et al., (2010) ao trabalharem com a mesma progênie de *E. grandis* utilizada por Junghans et al., (2003a), posicionaram o gene *Ppr1*, via marcadores microssatélites, no grupo de ligação (GL) 3 do mapa de referência de *Eucalyptus*, ligado ao marcador Embra125. Posteriormente, Alves (2008) e Rosado et al., (2010), utilizando distintas progênies interespecíficas e metodologias, mapearam um QTL para resistência à

ferrugem também no GL 3. Assim, é provável que os genes/QTLs de resistência descritos independentemente por Junghans et al., (2003a), Alves (2008) e Rosado et al., (2010) ocupem o mesmo loco.

Embora nos últimos anos tenham sido realizados vários estudos sobre resistência genética à ferrugem em eucalipto, muitos pontos ainda precisam ser esclarecidos. Por exemplo, em avaliações da resistência de progênies derivadas de cruzamentos entre *E. grandis* suscetível e *E. urophylla* resistente, as progênies, em sua maioria, segregaram na proporção 1:3 (resistente:suscetível), o que não era esperado se a resistência em *E. urophylla* fosse dominante e controlada por um gene de efeito principal. Além disso, não se conhece a herança da resistência em *E. urophylla* e *E. pellita*, potenciais fontes de resistência à ferrugem.

Sendo assim, o presente trabalho objetivou determinar a base genética da resistência em progênies de *E. pellita* e de *E. urophylla* x *E. grandis* por meio de inoculações controladas.

Esta dissertação encontra-se dividida em dois artigos:

- Artigo 1: Herança da resistência à ferrugem do eucalipto (*Puccinia psidii*) em progênies de *Eucalyptus pellita*
- Artigo 2: Resistência à ferrugem do eucalipto (*Puccinia psidii*) em genitores de *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* e seus híbridos

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAF, **Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas**. Anuário estatístico da ABRAF 2010. Disponível em: <<http://www.abraflor.org.br/>>. Acesso em: 10/05/10.
- Alfenas AC, Zauza EAV, Mafia RG and Assis TF (2009) **Clonagem e doenças do eucalipto**. Editora UFV, 2 ed., Viçosa, 500p.
- Alfenas AC, Valle LAC, Xavier AA, Brommonschenkel SH, Grattapaglia D, Silva CC, Bertolucci FL and Penchel R (1997) Eucalyptus rust: genetic variability of elite clones and histological characterization of the resistance reaction. **Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypt 2**: 60–64.
- Alves AA (2008) **Herança e mapeamento genético da resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) em cruzamentos interespecíficos de *Eucalyptus***. Viçosa. 58p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento - Universidade Federal de Viçosa).
- Carnegie AJ, Lidbetter JR, Walker J, Horwood MA, Tesoriero L, Glen M and Priest MJ (2010) *Uredo rangelli*, a taxon in the guava rust complex, newly recorded on Myrtaceae in Australia. **Australasian Plant Pathology 39**: 463-466.
- Carvalho ADO, Alfenas AC, Maffia LA and Carmo MGF (1998) Resistance of *Eucalyptus* species, progenies and prevarnences to *Puccinia psidii*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira 33**: 139-147.
- Coutinho TA, Wingfield MJ, Alfenas AC and Crous PW (1998) *Eucalyptus* rust: a disease with the potential for serious international implications. **Plant Disease 82**: 819-825.
- Dianese JC, Moraes TSD and Silva AR (1984) Reponse of *Eucalyptus* species to field infection by *Puccinia psidii*. **Plant Disease 68**: 314-316.
- Di Stefano JF, Fournier LA, Carranza J, Marin W and Mora A (1998) Invasive potential of *Syzigium jambos* (Myrtaceae) in forest fragments: the case of Ciudad Colon, Costa Rica. **Revista de Biologia Tropical 46**: 567-573.
- FAO, **Food and Agriculture Organization** Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/381/default.aspx>>. Acesso em 10/05/10.
- Ferreira FA (1983) Ferrugem do eucalipto. **Revista Árvore 7**: 91-109.
- Fonseca SM, Resende MDV, Alfenas AC, Guimaraes, LMS, Assis TF and Grattapaglia D (2010) **Manual prático de melhoramento genético do eucalipto**. Editora UFV, Viçosa, 200p.
- Gonçalves S (1929) Lista preliminar das doenças das plantas do estado do Espírito Santo. **Ministério da Agricultura**:1-12.
- Joffily J (1944) Ferrugem do eucalipto. **Bragantia 4**: 75-87.
- Junghans DT, Alfenas AC, Brommonschenkel SH, Oda S, Mello EJ and Grattapaglia D (2003a) Resistance to rust (*Puccinia psidii* Winter) in *Eucalyptus*: mode of inheritance and mapping of a major effect locus with RAPD markers. **Theoretical Applied Genetics 108**: 175-180.

- Junghans DT, Alfenas AC and Maffia LA (2003b) Escala de notas para a quantificação da ferrugem do eucalipto. **Fitopatologia Brasileira** **28**: 184-188.
- Kawanishi T, Uematsu S, Kakishima M, Kagiwada S, Hamamoto H, Horie H and Namba S (2009) First report of rust disease on ohia and the causal fungus, *Puccinia psidii*, in Japan. **General Plant Pathology** **75**: 428-431.
- Laudon GF and Waterston JM (1965) *Puccinia psidii* CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria **56**.
- Maclachlan JD (1938) A rust of the pimento tree in Jamaica, B.W.I. **Phytopathology** **28**: 157-170.
- Mamani EMC, Bueno NW, Faria DA, Guimaraes LMS, Lau D, Alfenas AC and Grattapaglia D (2010) Positioning of the major locus for *Puccinia psidii* rust resistance (*Ppr1*) on the *Eucalyptus* reference map and its validation across unrelated pedigrees. **Tree Genetics & Genomes** **6**, p. 10.1007/s11295.
- Marlatt RB and Kimbrough JW (1979) *Puccinia psidii* on *Pimenta dioica* in South Florida. **Plant Disease** **63**:510-512.
- Rayachhetry MB, Elliott MT and Van TK (1997) Natural epiphytotic of the rust *Puccinia psidii* in *Malaleuca quinquenervia* in Florida. **Plant Disease** **81**:831.
- Rosado TB, Tomaz RS, Ribeiro Junior MF, Rosado AM, Guimaraes LMS, Araujo EF, Alfenas AC and Cruz, CD (2010) Detection of QTL associated with rust resistance using IBD-based methodologies in exogamic *Eucalyptus* spp. populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **10**: 321-328.
- Ruiz RAR, Alfenas AC and Ferreira FA (1989a) Influência de temperatura, luz e origem do inóculo sobre a produção de uredinósporos e teliósporos de *Puccinia psidii*. **Fitopatologia Brasileira** **14**: 70-73.
- Ruiz RAR, Alfenas AC, Ferreira FA and Valle FXR (1989b) Influência de temperatura, do tempo de molhamento foliar, fotoperíodo e da intensidade de luz sobre a infecção de *Puccinia psidii* em eucalipto. **Fitopatologia Brasileira** **14**: 55-61.
- Santos AF, Auer CG and Grigollet Jr. A (2001) Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle. **Circular Técnica** **45**: 1-20.
- Teixeira JEC, Guedes FTP, Dias DC, Bonine CAV and Camargo LEA (2009) Análise da herança da resistência a *Puccinia psidii* em progênies de híbridos interespecíficos de eucalipto avaliadas sob condições naturais de infecção. **Tropical Plant Pathology** **34**: 203-210.
- Uchida J, Zhong S and Killgore E (2006) First report of a rust disease on ‘Ohi’a caused by *Puccinia psidii* in Hawaii. **Plant Disease** **90**: 524.
- USDA Fungal Databases Disponível em: <<http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>> Acesso em 15/02/11.
- Xavier AA, Sanfuentes EV, Junghans DT and Alfenas AC (2007) Resistência de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus nitens* à ferrugem (*Puccinia psidii*). **Revista Árvore** **31**: 731-735
- Xavier AA (2002) **Histopatologia da interação *Puccinia psidii* e virulência de isolados do patógeno em espécies de Myrtaceae**. Viçosa. 71p. Tese (Doutorado em Fitopatologia - Universidade Federal de Viçosa).

- Zamprogno KC, Furtado EL, Marino CL, Bonine CAV and Dias DC (2008) Utilização de análise de segregantes agrupados na identificação de marcadores ligados a genes que controlam resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) em *Eucalyptus* spp. **Summa Phytopathologica** 34: 253-255.
- Zauza EAV, Alfenas AC, Old K, Couto MMF, Graça RN and Maffia LA (2010) Myrtaceae species resistance to rust caused by *Puccinia psidii*. **Australasian Plant Pathology** 39: 406-411.
- Wang WY (1992) Survey of *Eucalyptus* diseases in Taiwan. Bulletin of the Taiwan. Forestry Research Institute 7: 179–194.

ARTIGO 1 - HERANÇA DA RESISTÊNCIA À FERRUGEM DO EUCALIPTO (*PUCCINIA PSIDII*) EM PROGÊNIES DE *EUCALYPTUS PELLITA*

Para submissão na revista Crop Breeding and Applied Biotechnology

RESUMO

A ferrugem do eucalipto, causada pelo fungo *Puccinia psidii* é, atualmente, uma das principais enfermidades em plantios comerciais de eucalipto. A ampla variabilidade genética inter e intraespecífica para a resistência à ferrugem em *Eucalyptus* spp., tem permitido o controle da doença por meio de plantio de clones, progênies ou espécies resistentes. Entretanto, em programas de melhoramento genético, além da seleção de genótipos resistentes, é essencial conhecer a base genética da resistência. Assim, o presente trabalho objetivou estudar a base genética da resistência em *E. pellita* por meio de inoculações em quatro progênies oriundas de cruzamentos controlados. As inoculações foram realizadas em condições controladas com o isolado monopostular UFV-2 (raça 1) de *P. psidii*. Após a avaliação, as plantas foram reconduzidas e reinoculadas para confirmação do fenótipo. Todas as progênies segregaram, sendo que a progênie PE40 x PE18 apresentou uma maior frequência de indivíduos resistentes. A herdabilidade da resistência à ferrugem em *E. pellita* mostrou-se moderada, indicando ser uma característica de herança quantitativa.

Palavras chave: *Eucalyptus pellita*, resistência genética, ferrugem do eucalipto, herdabilidade.

INTRODUÇÃO

A ferrugem, causada por *Puccinia psidii* Winter é, atualmente, uma das principais enfermidades da eucaliptocultura. O patógeno infecta órgãos tenros da parte aérea de mudas em viveiro e plantas jovens no campo, podendo causar redução do crescimento e perda da dominância apical (Ferreira, 1983). Em genótipos altamente

suscetíveis pode causar ainda deformações, necroses, hipertrofia, minicancros e morte das porções terminais de crescimento (Alfenas et al., 2009). O patógeno, primeiramente descrito em mudas de *Psidium guajava* L., por Winter (1884), tem sido relatado em mais de 77 espécies de Myrtaceae, como goiabeira, jambeiro, jabuticabeira, araçazeiro, pitangueira e jamelãozeiro, dentre outras (Alfenas et al., 1989) e encontra-se em ampla dispersão mundial. Além da América do Sul e Central, o fungo já foi registrado na Flórida (Marlatt et al., 1979), na Califórnia (Mellano, 2006), no Havaí (Uchida et al., 2006), no Japão (Kawanishi et al., 2009) e provavelmente na Austrália, onde a doença foi atribuída a *Uredo rangeli* (Carnegie, 2010).

A ampla variabilidade genética inter e intraespecífica para a resistência à ferrugem em *Eucalyptus* spp., tem permitido o controle da doença por meio do plantio de clones, progênies ou espécies resistentes (Carvalho et al., 1998; Dianese et al., 1984; Alfenas et al., 1997; Xavier et al., 2007; Zauza et al., 2010). Entretanto, a primeira fase de um programa de melhoramento genético, visando à obtenção de genótipos resistentes é a determinação da base genética da resistência, a fim de orientar os cruzamentos. A partir de estudos em famílias de irmãos germanos de *E. grandis*, Junghans et al., (2003a) demonstraram que parte da variação fenotípica da resposta de defesa à ferrugem é controlada por um gene dominante de efeito principal, denominado *Ppr1* (*Puccinia psidii* resistance gene 1). O locus *Ppr1* foi posicionado no mapa de referência genética de *Eucalyptus* sobre o grupo de ligação 3 e foi validado em duas progênies não relacionadas, o que confirmou a hipótese de que *Ppr1* controla grande parte da variação da resistência à ferrugem (Mamani et al., 2010).

Estudos de herança da resistência à ferrugem em cruzamentos interespecíficos de *Eucalyptus* spp encontraram resultados distintos em todos os trabalhos com distorções de segregação distintas de um modelo de herança simples. (Junghans et al., 2003a; Rosado, 2007; Alves 2008; Teixeira et al., 2009). Os resultados obtidos por Teixeira et al., (2009) devem ser vistos com cautela uma vez que os estudos foram realizados em condições de infecção natural de *P. psidii* o que pode levar a ocorrência de plantas escape.

Esses estudos de herança da resistência (Junghans et al., 2003a; Alves, 2008; Teixeira et al., 2009; Rosado et al., 2010) têm focado em *E. grandis* ou híbridos interespecíficos envolvendo, principalmente, *E. grandis* e *E. urophylla*, que constituem a base da eucaliptocultura brasileira. Entretanto, para reduzir o impacto das doenças na eucaliptocultura é fundamental a ampliação da base genética dos clones comerciais pela

introgressão de novos genes de resistência de outras espécies. Entre estas, *E. pellita* é uma fonte promissora de resistência a doenças, principalmente à ferrugem (Zauza et al., 2010; Guimarães et al., 2010). Assim, o presente trabalho objetivou determinar a base genética da resistência de *E. pellita* a partir de inoculações de *P. psidii* sob condições controladas.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

Utilizaram-se quatro progênies originárias de cruzamentos controlados envolvendo quatro genitores de *E. pellita*, avaliados previamente quanto a resistência à ferrugem (Guimarães et al., 2010). Foram inoculadas 130 plantas do cruzamento PE40xPE18, 90 plantas do PE40xPE151, 128 plantas do PE40xPE40 e 93 plantas do PE40xPE47.

Inoculação

As mudas das progênies foram identificadas individualmente e em seguida transplantadas para vasos de 2 L de capacidade, contendo substrato MecPlant[®] complementado com 6 Kg.m⁻³ de fosfato supersimples e 3 Kg.m⁻³ de Osmocote[®] (19-6-10) e inoculadas 30 dias após o transplantio. Para inoculação, utilizou-se uma suspensão de inóculo a 2x10⁴ urediniósporos/mL do isolado monopustular UFV-2 (raça 1) de *P. psidii*, predominante nas diferentes regiões do Brasil (Xavier, 2002). O isolado foi mantido em mudas de jambeiro (*Syngysium jambos*), mediante reinoculações periódicas a cada 20 dias. A inoculação foi realizada conforme descrito por Ruiz et al., (1989). A suspensão de inóculo foi atomizada homogeneamente nas superfícies abaxial e adaxial das folhas das mudas, com o auxílio de um atomizador De Vilbiss n^o 15, acoplado a um compressor elétrico ajustado para 0,6-0,8 Kg/cm² de pressão. Após a inoculação, as mudas foram mantidas em câmara de nevoeiro a 25°C no escuro por 24 h. Em seguida, foram transferidas para câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 h e intensidade luminosa de 40 µmol.s⁻¹.m⁻², e temperatura média de 22°C.

Avaliação da resistência

A avaliação da severidade da doença foi realizada aos 12 e 20 dias após a inoculação utilizando-se a escala de notas desenvolvida por Junghans et al., (2003b). Essa escala compreende quatro classes de severidade, baseadas no tamanho das pústulas: S0 = imunidade ou reação de hipersensibilidade (HR) do tipo “fleck” ou necrótico; S1 = pequenas pústulas, < 0,8 mm de diâmetro; S2 = pústulas de tamanho médio, de 0,8 a 1,6 mm de diâmetro; e S3 = pústulas grandes > 1,6 mm de diâmetro. Plantas S0 e S1 foram consideradas resistentes e plantas S2 e S3 suscetíveis (Junghans et al., 2003b). Após as avaliações, efetuou-se a verificação das pressuposições de segregação mendeliana da resistência através de um teste de χ^2 ($p \leq 0,05$), tomando por base os diferentes modelos genéticos propostos. Para cada planta analisada foi considerada a maior nota, de acordo com a escala utilizada, nas duas inoculações realizadas. Após a avaliação as plantas foram podadas, reconduzidas por 30 dias e reinoculadas visando à confirmação dos resultados por meio da mesma escala de notas e avaliação da área foliar lesionada, por meio de imagens digitalizadas e processadas no programa QUANT (Vale et al., 2003), em duas folhas de cada planta que possuíam pústulas representativas de toda a planta aos 20 dias após a inoculação. Foram avaliadas 105 (128) plantas do cruzamento PE40xPE40, 66 (90) do PE40xPE151, 85 (93) do PE40xPE47 e 76 (130) do PE40xPE18. O número de plantas foi inferior ao da primeira avaliação devido à morte durante a recondução das mudas. Para análise quantitativa dos dados de área foliar lesionada os parâmetros genéticos e fenotípicos foram estimados pelo método dos Modelos Lineares Mistos (REML – Máxima Verossimilhança Residual e BLUP – Melhor Predição Linear não Viesada). O seguinte modelo misto foi empregado: $y = Xr + Za + e$, em que y é o vetor de dados, r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral, g é o vetor dos efeitos genéticos aditivos (assumidos como aleatórios), e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos. Estimativas de componentes de variância (via REML) e da herdabilidade em sentido restrito foram obtidas após ajuste do modelo para os experimentos com as famílias no programa Selegen-Reml/Blup® (Resende, 2002). O estimador $\hat{h}_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2}$ foi empregado para computo da herdabilidade individual no sentido restrito, em que $\hat{\sigma}_a^2$ é a estimativa da variância genética aditiva e $\hat{\sigma}_e^2$ é a

estimativa da variância residual. Os dados foram também submetidos à análise de repetibilidade através das quantificações da área foliar lesionada em duas folhas de cada planta. O seguinte modelo misto foi empregado: $y = X_m + W_p + e$, em que y é o vetor de dados, m é o vetor dos efeitos de medição (assumidos como fixos) somados à média geral, p é o vetor dos efeitos permanentes de plantas (efeitos genotípicos + efeitos de ambiente permanente) (assumidos como aleatórios) e e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos. O estimador $\hat{\rho} = \frac{\hat{\sigma}_p^2}{\hat{\sigma}_p^2 + \hat{\sigma}_e^2}$ foi empregado para computo da repetibilidade individual, em que $\hat{\sigma}_p^2$ é a estimativa da variância fenotípica permanente entre plantas e $\hat{\sigma}_e^2$ é a estimativa da variância residual. A fim de confirmar a paternidade dos indivíduos das progênies, tentativas de fenotipagem foram realizadas por meio de marcadores microssatélites (SSRs). Para isso, o DNA dos indivíduos das progênies, bem como dos parentais, foi extraído seguindo-se o protocolo proposto por Doyle & Doyle, (1990) com modificações propostas por Grattapaglia & Sederoff, (1994) e quantificado em espectrofotômetro. Foram utilizados microssatélites previamente desenvolvidos por Brondani et al., (1998; 2002), todos identificados pelo acrônimo EMBRA. Primeiramente, efetuou-se uma triagem dos SSRs nos parentais e em seis indivíduos da progênie para a seleção de marcadores polimórficos. Seis marcadores microssatélites foram organizados e empregados na genotipagem dos indivíduos das famílias. A genotipagem de SSRs foi realizada em 7 μ L de reação contendo 2 ng de DNA genômico, 0,2 mM de dNTP, tampão de PCR 1x, 0,1 μ M de cada primer, 0,5 unidade de enzima Taq polimerase e 1,55 μ L de água MiliQ. Os ciclos de PCR foram realizados em Termociclador PTC – 100TM (MJ. Research, INC.) e incluíram uma etapa inicial de desnaturação a 94°C por 5 min, seguida de 35 ciclos com os seguintes passos: 94°C por 1 min, 57°C por 1 min para o anelamento do *primer* e 72°C por 1 min para extensão das novas cadeias de DNA; e, para finalizar, um último passo de 72°C por 30 min.

Os fragmentos amplificados foram separados em gel nativo de poliacrilamida a 10% (p/v) com acrilamida/bis-acrilamida na proporção de 29:1. Foram utilizadas cubas verticais (BioRed) com capacidade para 30 amostras em gel de 0,5 mm de espessura. Às amostras a serem corridas foram adicionados 5 μ L de corante Tipo IV (0,25% azul de bromofenol e 40% de sacarose). Foram aplicados 10 μ L de cada amostra em cada

canaleta do gel e, posteriormente, as amostras foram submetidas a um campo elétrico com voltagem constante de 100 Volts. Após 5 horas, submetidos à eletroforese, os géis ficaram imersos em solução de brometo de etídio na concentração de 1µg/mL por 30 minutos. Posteriormente, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta pelo sistema de fotodocumentação Eagle Eye II (Stratagene).

Para determinar o tamanho dos alelos, utilizou-se o padrão de peso molecular de 10 pb DNA *ladder* (Life Technologies), o qual consiste de 33 fragmentos de DNA fita dupla variando de 10 a 330 pb em múltiplos de 10 pb.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as progênies de *E. pellita* segregaram para resistência à ferrugem. O número de plantas resistentes foi sempre superior ao número de plantas suscetíveis, mesmo no cruzamento envolvendo o genitor suscetível (PE47) (Tabela 2 e Figura 1). Analisando-se os valores genotípicos de cada família (Tabelas 2 e 3), a que apresentou o menor valor foi a família PE40 x PE18, ou seja, o cruzamento entre esses genitores gerou uma progênie com frequência de indivíduos resistentes maior que a frequência de indivíduos resistentes nos outros três cruzamentos avaliados e, portanto, é o cruzamento mais indicado para a seleção visando à resistência à ferrugem. O cruzamento que apresentou menor frequência de indivíduos resistentes como esperado foi o PE40 x PE47, já que envolvia um genitor suscetível e, portanto, maior valor genotípico (Tabela 3). Com base nas segregações obtidas foram testados três modelos de herança já descritos para controle genético da resistência à ferrugem, a fim de se verificar o ajuste aos padrões de segregação encontrados.

No primeiro, considerou-se a resistência à ferrugem como herança mendeliana simples, sendo controlada por um alelo dominante de efeito principal, conforme descrito por Junghans et al., (2003a) para *E. grandis*. Segundo esse modelo, os genitores resistentes PE18, PE40 e PE151 seriam heterozigotos (Aa), e o genitor suscetível PE47 homozigoto recessivo (aa) para o gene que controla o caráter (Tabela 4). O modelo monogênico não explica totalmente os padrões de segregação obtidos uma vez que apenas a progênie oriunda da autofecundação do genitor PE40 ajustou-se ao modelo proposto (P=30,7%). As outras progênies, oriundas do cruzamento do genitor PE40 com

os genitores PE18, PE47 e PE151, apresentaram significativos desvios da razão esperada.

No segundo modelo assumiu-se que a resistência à ferrugem tem herança digênica (Tabela 5). Este modelo possui respaldo no estudo de herança realizado por Alves (2008). De acordo com esse modelo, a resistência à ferrugem é controlada por dois genes independentes que interagem epistaticamente. Para testar esse modelo, assumiu-se que os genitores resistentes possuem os dois genes responsáveis pela característica em heterozigose (AaBb) e o genitor suscetível é homocigoto recessivo ou heterocigoto para apenas um dos genes (aabb, A_bb ou aaB_) (Tabela 5). Essa hipótese teve bom ajuste à razão de segregação esperada. Entretanto, esse resultado foi possível apenas quando se consideraram as plantas resistentes, com base nas notas S1, como suscetíveis. Nesse caso, o genitor PE18, classificado anteriormente como resistente, seria na verdade suscetível à ferrugem.

Nesse trabalho, a classificação das plantas com notas S1 como resistentes segue o proposto por Junghans et al., (2003b) para *E. grandis*. Apesar de serem consideradas resistentes essas plantas apresentam pústulas puntiformes. Uma explicação, para a hipótese levantada anteriormente, é que as plantas S1 apesar de não possuírem o gene de resistência de efeito principal, possuem genes de efeitos menores que retardam a esporulação do fungo, indicando portanto, que a resistência não é controlada por apenas dois genes e sim, genes de efeito principal que juntamente com outros genes de efeitos secundários interagem para apresentar a resposta de defesa na planta.

No terceiro e último modelo considerou-se a existência de um alelo letal dominante em homocigose co-segregando com o gene de resistência, sendo esse responsável pela distorção na segregação das progênies estudadas. Nesse caso, os genitores PE18, PE40 e PE151 seriam heterocigotos para o gene de resistência (Aa) e PE47 homocigoto recessivo (aa) (Tabela 6). Esse modelo foi proposto com base nos resultados obtidos por Rosado (2007) que encontrou segregações 2:1 em diversas progênies de *Eucalyptus* spp. De acordo com esse modelo, as plantas homocigotas para o gene de resistência não são viáveis. A hipótese desse modelo foi aceita em duas progênies (PE40 x PE40 e PE40 x PE151) e rejeitada nas outras duas (PE40 x PE18 e PE40 x PE47).

Uma das hipóteses que explicam a possível presença de genes deletérios nas progênies de *E. pellita* é que a maioria dos plantios comerciais de *Eucalyptus* no Brasil são feitos com *E. grandis*, *E. urophylla* e seus híbridos. Portanto, essas espécies já

encontram-se em um estágio de domesticação superior em comparação a *E. pellita*, que ainda é uma espécie pouco plantada comercialmente e, portanto, pouco melhorada. Assim, ao se realizar um cruzamento envolvendo essa espécie a possibilidade de genes deletérios co-segregando e, conseqüentemente, interferindo no padrão de segregação mendeliano clássico é maior. Como nenhum dos modelos avaliados em conjunto não mostram coerência para explicar as distorções nas segregações encontradas, é mais plausível considerar a resistência à ferrugem como uma característica quantitativa, onde vários genes atuam na resposta de defesa da planta.

A herdabilidade no sentido restrito da resistência à ferrugem foi estimada em 37,3% quando utilizou-se as notas S0, S1, S2 e S3 (Junghans et al., 2003b) e 32,7% quando utilizou-se os valores reais de área lesionada nos cálculos das estimativas. Em ambos os casos, encontrou-se uma herdabilidade moderada, o que reforça a hipótese de que muitos genes atuam na resistência à ferrugem em *E. pellita*. Pinto (2010) encontrou valores semelhantes (37% em condições controladas de infecção e 48% em condições de infecção natural) de herdabilidade individual no sentido restrito para resistência à ferrugem em progênies de meio-irmãos de *E. dunii*. Os valores de acurácia encontrados foram altos (Tabela 7). Segundo Resende (1995) quanto maior a acurácia, maior a precisão de seleção e, conseqüentemente maior o ganho genético. Outros parâmetros genéticos para resistência à ferrugem em progênies de *E. pellita* foram obtidos (Tabela 7).

O coeficiente de repetibilidade nesse estudo foi de 92% para as análises com dados de porcentagem média de área lesionada na folha (Tabela 7), com acurácia de 96%, ou seja, apenas uma folha é suficiente para a quantificação da área lesionada no programa Quant. Alves (2008) obteve coeficiente de repetibilidade igual a 84,53% em relação a duas diferentes avaliações da doença utilizando escala de notas, aos 20 dias após a inoculação cada uma. Esses resultados demonstram que é necessária apenas uma avaliação e a quantificação de uma folha da planta para uma eficiente análise dos dados.

Os diferentes padrões de segregação para resistência à ferrugem em progênies de *E. pellita* e o fato de nenhum dos modelos de herança testados acima terem explicado satisfatoriamente os resultados encontrados demonstram que o controle genético dessa característica é complexo. Além disso, os valores de herdabilidade encontrados nesse trabalho indicam que o controle da resistência à ferrugem apresenta uma herança quantitativa, onde vários genes atuam na resposta de defesa da planta.

Outro fato importante é que a correlação genética entre as avaliações realizadas segundo a escala de notas e a porcentagem real de área lesionada na folha foi de apenas 32% (Tabela 7). Isso demonstra que existe uma variação fenotípica da doença que a escala de notas não está sendo capaz de capturar que pode ser devido a genes de menor efeito ou a fatores como concentração e distribuição de inóculo na folha, idade do inóculo, estado nutricional e idade das plantas inoculadas.

Os resultados da análise de microssatélites não foram conclusivos, uma vez que não se obteve resolução suficiente para proceder a análise dos géis. Isso pode ter ocorrido porque os marcadores microssatélites utilizados foram desenvolvidos para *E. grandis* e não são transferíveis para *E. pellita*. Novas genotipagens em eletroforese capilar devem ser realizadas, bem como estudo de marcadores ligados ao loco *Ppr1* para verificar se o gene de resistência em *E. pellita* é homólogo ao de *E. grandis*.

O controle da resistência à ferrugem em *Eucalyptus pellita* parece ser quantitativo e poligênico, onde vários genes atuam na resposta de defesa da planta. Novos estudos com um número maior de cruzamentos e genotipagens com marcadores moleculares devem ser realizados para esta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas AC, Zauza EAV, Mafia RG and Assis TF (2009) **Clonagem e doenças do eucalipto**. Editora UFV, 2. ed., Viçosa, 500p.
- Alfenas AC, Valle LAC, Xavier AA, Brommonschenkel SH, Grattapaglia D, Silva CC, Bertolucci FL and Penchel R (1997) Eucalyptus rust: genetic variability of elite clones and histological characterization of the resistance reaction. **Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypt 2**: 60–64.
- Alfenas AC, Demuner NL and Barbosa MM (1989) A ferrugem e as opções de controle. *Correio Agrícola* 1: 18-20.
- Alves AA (2008) **Herança e mapeamento genético da resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) em cruzamentos interespecíficos de *Eucalyptus***. Viçosa. 58p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento - Universidade Federal de Viçosa).
- Brondani RPV, Brondani C and Grattapaglia D (2002) Towards the construction of a genus wide reference linkage map for eucalyptus based on microsatellite markers. **Molecular and General Genomics** 267: 338-347.

- Brondani RPV, Brondani C, Tarchini R and Grattapaglia D (1998) Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **Theoretical Applied Genetics** **97**: 816-827.
- Carnegie AJ, Lidbetter JR, Walker J, Horwood MA, Tesoriero L, Glen M and Priest MJ (2010) *Uredo rangelli*, a taxon in the guava rust complex, newly recorded on Myrtaceae in Australia. **Australasian Plant Pathology** **39**: 463-466.
- Carvalho ADO, Alfenas AC, Maffia LA and Carmo MGF (1998) Resistance of *Eucalyptus* species, progenies and prevariances to *Puccinia psidii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **33**: 139-147.
- Dianese JC, Moraes TSD and Silva AR (1984) Reponse of *Eucalyptus* species to field infection by *Puccinia psidii*. **Plant Disease** **68**: 314-316.
- Doyle JJ and Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus** **12**: 13-15.
- Ferreira FA (1983) Ferrugem do eucalipto. **Revista Árvore** **7**: 91-109.
- Grattapaglia D and Sederoff RR (1994) Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla* using a pseudo-testcross mapping strategy and RAPD markers. **Genetics** **137**: 1121-1137.
- Guimarães LMS, Titon M, Lau D, Rosse L, Oliveira LSS, Rosado CCG, Christo GGO and Alfenas AC (2010) *Eucalyptus pellita* as a source of resistance to rust, ceratocystis wilt and leaf blight. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **10**: 124-131.
- Junghans DT, Alfenas AC, Brommonschenkel SH, Oda S, Mello EJ and Grattapaglia D (2003a) Resistance to rust (*Puccinia psidii*) in *Eucalyptus*: Mode of inheritance and mapping of major gene with RAPD markers. **Theoretical Applied Genetics** **108**: 175-180.
- Junghans DT, Alfenas AC and Maffia LA (2003b) Escala de Notas para a quantificação da ferrugem em *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira** **28**: 184-188.
- Kawanishi T, Uematsu S, Kakishima M, Kagiwada S, Hamamoto H, Horie H and Namba S (2009) First report of rust disease on ohia and the causal fungus, *Puccinia psidii*, in Japan. **General Plant Pathology** **75**: 428-431.
- Mamani EMC, Bueno NW, Faria DA, Guimaraes LMS, Lau D, Alfenas AC and Grattapaglia D (2010) Positioning of the major locus for *Puccinia psidii* rust resistance (*Ppr1*) on the *Eucalyptus* reference map and its validation across unrelated pedigrees. **Tree Genetics & Genomes** **6**, p. 10.1007/s11295.
- Marlatt RB and Kimbrough JW (1979) *Puccinia psidii* on *Pimento dioica* in South Florida. **Plant Disease** **63**: 510-512.
- Mellano V. Rust on Myrtle Found in San Diego County (2006). USDA - **Retail Nursery Newsletter** **1**: 6.
- Pinto CS (2010) **Variabilidade genética em progênies de meios-irmãos de *Eucalyptus dunii* Maiden para resistência à ferrugem (*Puccinia psidii* Winter) em diferentes ambientes**. Botucatu. 48p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal - Universidade Estadual Paulista).
- Resende MDV (2002) **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 975p.

- Resende MDV (1995) Delineamento de experimentos de seleção para maximização da acurácia seletiva e do progresso genético. **Revista Árvore** **19**: 479-500.
- Rosado TB, Tomaz RS, Ribeiro Junior MF, Rosado AM, Guimaraes LMS, Araujo EF, Alfenas AC and Cruz, C.D (2010) Detection of QTL associated with rust resistance using IBD-based methodologies in exogamic *Eucalyptus* spp. populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **10**: 321-328.
- Rosado TB (2007) **Mapeamento de gene letal, responsável pela distorção de segregação e detecção de QTL para resistência a ferrugem (*Puccinia psidii*) em *Eucalyptus* spp.** 123p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento – Universidade Federal de Viçosa).
- Ruiz RAR, Alfenas AC, Ferreira FA and Ribeiro do Vale FXR (1989) Influência da temperatura, do tempo de molhamento foliar, fotoperíodo e da intensidade de luz sobre a infecção de *Puccinia psidii* em eucalipto. **Fitopatologia Brasileira** **14**: 55-61.
- Teixeira JEC, Guedes FTP, Dias DC, Bonine CAV and Camargo LEA (2009) Análise da herança da resistência a *Puccinia psidii* em progênies de híbridos interespecíficos de eucalipto avaliadas sob condições naturais de infecção. **Tropical Plant Pathology** **34**: 203-210.
- Uchida J, Zhong S and Killgore E (2006) First report of a rust disease on ‘Ohi’a caused by *Puccinia psidii* in Hawaii. **Plant Disease** **90**: 524.
- Vale FXR, Fernandes Filho EI, Liberato JR (2003) QUANT: A software plant disease severity assessment. 8th **International Congress of Plant Pathology, Christchurch New Zealand** **8**: 105.
- Xavier AA, Sanfuentes EV, Junghans DT and Alfenas AC (2007) Resistência de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus nitens* à ferrugem (*Puccinia psidii*). **Revista Árvore** **31**: 731-735.
- Xavier AA (2002) Histopatologia da interação *Puccinia psidii* e virulência de isolados do patógeno em espécies de Myrtaceae. 71p. Tese (Doutorado em Fitopatologia – Universidade Federal de Viçosa).
- Zauza EAV, Alfenas AC, Old K, Couto MMF, Graca RN and Maffia LA (2010) Myrtaceae species resistance to rust caused by *Puccinia psidii*. **Australasian Plant Pathology** **39**: 406-411.
- Winter G (1884) Repertorium. Rabenhorstii fungi europaei et extraeuropaeei. Centuria XXXI et XXXII. **Hedwigia** **23**, 164–175.

Tabela 1 – Genitores de *Eucalyptus pellita*, origem e fenótipo da resistência à ferrugem, causada por *Puccinia psidii*, inoculados sob condições controladas de acordo com Guimarães et al., (2010)

Genitor	Origem	Classe de severidade*	Fenótipo da resistência
PE18	Melville	S1	Resistente
PE40	Melville	S0	Resistente
PE151	Cardwell	S0	Resistente
PE47	Melville	S3	Suscetível

* Baseada na escala de nota desenvolvida por Junghans et al., (2003b)

Tabela 2 – Classificação dos indivíduos das progênies de *Eucalyptus pellita* inoculadas com *Puccinia psidii* baseando-se na escala de notas de Junghans et. al., (2003b)

Família	Total de plantas	Classes de severidade					
		Resistentes		%	Suscetível		%
		S0	S1		S2	S3	
PE40 (R) x PE18 (R)	130	66	41	82	14	9	18
PE40 (R) x PE151 (R)	90	44	17	68	10	19	32
PE40(R)x PE 40(R)	128	69	22	71	8	29	29
PE40 (R) x PE47 (S)	93	51	8	63	8	26	37

Tabela 3 – Valores genotípicos para as progênes de *Eucalyptus pellita* inoculadas com *Puccinia psidii*

Família	Valores genotípicos		Acurácia	
	Escala de notas*	Área lesionada (%)	Escala de notas*	Área lesionada (%)
PE40 (R) x PE18 (R)	0,30	0,21	0,845	0,834
PE40 (R) x PE40 (R)	0,89	0,48	0,841	0,829
PE40(R)x PE151 (R)	1,14	1,73	0,846	0,837
PE40 (R) x PE47 (S)	1,37	2,23	0,843	0,832

* Baseada na escala de notas desenvolvida por Junghans et al., (2003b) e convertida em notas de 0 a 3

Tabela 4 – Herança da resistência à ferrugem do eucalipto (*Puccinia psidii*) em *Eucalyptus pellita* baseada no modelo monogênico dominante

Progênie	Número de plantas	Configuração Alélica	R (S0+S1)	S (S2 + S3)	Esperado	Hipótese	χ^2	P(%)
PE40 (R) x PE18 (R)	130	Aa x Aa	107	23	97.5 - 32.5	3:1	3,7	5,4
PE40 (R) x PE40 (R)	128	Aa x Aa	91	37	96 - 32	3:1	1,04	30,7
PE40(R)x PE151 (R)	90	Aa x Aa	61	29	67.5 - 22.5	3:1	2,5	11,3
PE40 (R) x PE47 (S)	93	Aa x aa	59	34	46.5 - 46.5	3:1	6,72	0,9

1) R = Resistente; S = suscetível; S0, S1, S2 e S3 de acordo com a escala de notas de Junghans et al., (2003b)

Tabela 5 – Herança da resistência à ferrugem do eucalipto (*Puccinia psidii*) em *Eucalyptus pellita* baseado no modelo oligogênico, com a resistência sendo conferida por dois alelos dominantes, sendo que as plantas S1 foram consideradas suscetíveis

Progênie	Número de plantas	Configuração Alélica	R (S0)	S (S1 + S2 + S3)	Esperado	Hipótese	χ^2	P(%)
PE40 (R) x PE18 (S)	130	AaBb x aaBB	66	64	65 - 65	1:1	1,58	86
PE40 (R) x PE40 (R)	128	AaBb x AaBb	69	59	72 - 56	9:7	0,28	59,2
PE40(R)x PE151 (R)	90	AaBb x AaBb	44	46	50.625 - 39.375	9:7	1,98	15,9
PE40 (R) x PE47 (S)	93	AaBb x aaBB	51	42	46.5 - 46.5	1:1	0,87	35

1) R = Resistente; S = suscetível; S0, S1, S2 e S3 de acordo com a escala de notas de Junghans et al., (2003b)

Tabela 6 – Herança da resistência à ferrugem do eucalipto (*Puccinia psidii*) em *Eucalyptus pellita* baseado no modelo monogênico dominante e assumindo a presença de um alelo letal ligado ao gene de resistência

Progênie	Número de plantas	Conf. Alélica	R (S0+S1)	S (S2 + S3)	Esperado	Hipótese	χ^2	P(%)
PE40 (R) x PE18 (R)	130	Aa x Aa	107	23	86.67 – 43.33	2:1	14,3	0
PE40 (R) x PE40 (R)	128	Aa x Aa	91	37	85.33 - 42.67	2:1	1,12	28,8
PE40 (R) x PE151 (R)	90	Aa x Aa	61	29	60 - 30	2:1	0,05	82,3
PE40 (R) x PE47 (S)	93	Aa x aa	59	34	59 - 34	1:1	6,72	0,95

1) R = Resistente; S = suscetível; S0, S1, S2 e S3 de acordo com a escala de notas de Junghans et al., (2003b)

Tabela 7 – Estimativas de parâmetros genéticos para resistência à ferrugem em progênies de *Eucalyptus pellita* inoculadas com *Puccinia psidii*.

Parâmetros genéticos	Valores	
	Escala de notas	Área foliar lesionada (%)
Média geral	0,85	0,96
Variância fenotípica individual	1,66	8,28
Variância genotípica entre progênies de irmãos germanos	0,31	1,35
Variância residual dentro da parcela	1,35	6,93
Herdabilidade individual no sentido restrito	0,37 +/- 0.127	0,32 +/- 0.119
Herdabilidade aditiva dentro da parcela	0,23	0,19
Acurácia de seleção de família	0,99	0,96
Repetibilidade	1,00	0,92
Correlação genética entre as avaliações realizadas segundo a escala de notas e a porcentagem real de área lesionada na folha	32%	

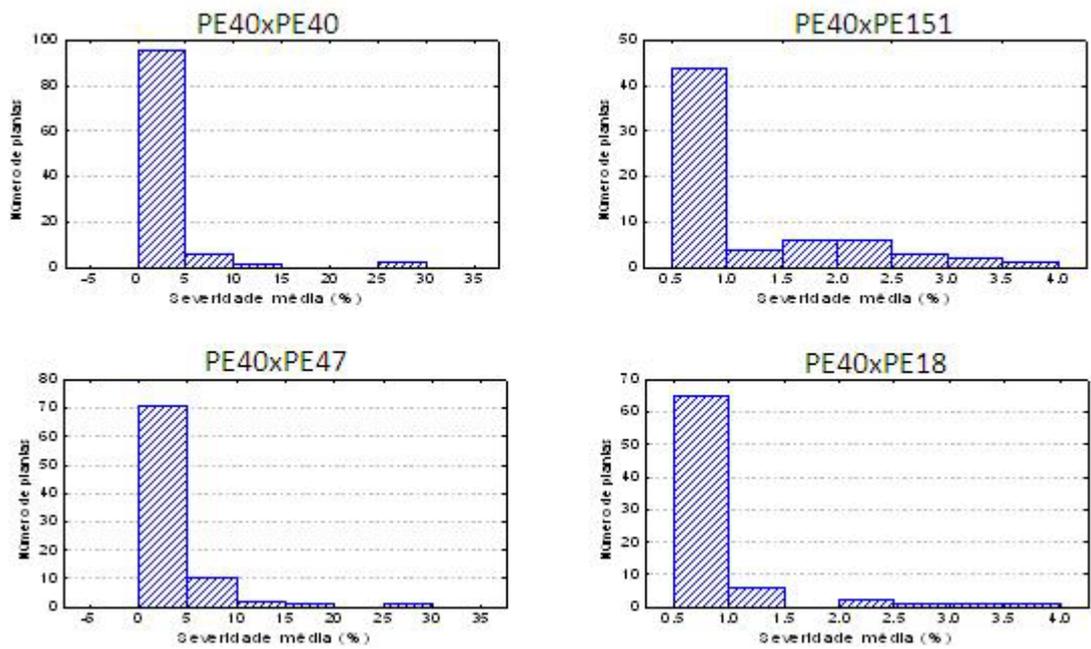


Figura 1 – Distribuição de frequência baseada na porcentagem média de área lesionada na folha de progênies de *Eucalyptus pellita* inoculadas com *Puccinia psidii*

ARTIGO 2 – RESISTÊNCIA À FERRUGEM DO EUCALIPTO (*Puccinia psidii*) EM GENITORES *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* E SEUS HÍBRIDOS

Para submissão na revista *Crop Breeding and Applied Biotechnology*

RESUMO

Atualmente, as plantações de eucalipto no Brasil são predominantemente clonais e constituídas principalmente por *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* e seus híbridos. No entanto, *E. grandis* é uma das espécies mais suscetíveis à ferrugem do eucalipto (*Puccinia psidii*), uma das principais doenças que afetam a cultura. Assim, é importante determinar novas fontes de resistência à ferrugem e sua transferibilidade em cruzamentos interespecíficos para uso nos programas de melhoramento genético da cultura. Neste trabalho, avaliou-se a resistência à ferrugem do eucalipto em genitores de *E. grandis* e *E. urophylla* e progênies derivadas de cruzamentos controlados entre as duas espécies. Avaliaram-se 58 genitores de *E. grandis*, 92 de *E. urophylla* e 607 indivíduos de 31 progênies. As inoculações foram realizadas em condições controladas com o isolado monopostular UFV-2 (raça 1) de *P. psidii*. Dentre os genitores avaliados, 32% foram resistentes à ferrugem, independentemente da espécie, sendo a maior parte (88%) de *E. urophylla*. Nas avaliações das progênies derivadas de cruzamentos entre as duas espécies e envolvendo um genitor de *E. urophylla* resistente, as progênies, em sua maioria, segregaram na proporção 1R:3S, indicando um padrão de segregação diferente do modelo monogênico dominante proposto para *E. grandis*. A herdabilidade encontrada é moderada, indicando que vários genes atuam na resposta de defesa da planta. Esses resultados indicam que o controle da resistência em *E. urophylla* é mais complexo e está mais próximo de um modelo oligogênico.

Palavras chave: ferrugem, *Puccinia psidii*, *Eucalyptus*, doença.

INTRODUÇÃO

A ferrugem, causada por *Puccinia psidii* Winter, é atualmente uma das mais importantes enfermidades da cultura do eucalipto (Alfenas et al., 2009). Sob condições de ambiente favorável, o patógeno infecta órgãos tenros da parte aérea de mudas em viveiro e plantas jovens no campo, podendo causar redução de crescimento e perda de dominância apical (Ferreira et al., 1983), além da morte de brotações após o corte raso, bem como a morte e o refugo de mudas para o plantio. Em genótipos altamente suscetíveis pode causar ainda deformações, necroses, hipertrofia, minicancros e morte das porções terminais de crescimento (Alfenas et al., 2009). *Puccinia psidii* apresenta uma ampla distribuição geográfica, principalmente nas Américas do Sul e Central (Glen et al., 2007), na Jamaica (Maclachlan, 1938), na Flórida (Marlatt et al., 1979), na Califórnia (Mellano, 2006) e, mais recentemente, no Havaí (Uchida et al., 2006) e no Japão (Kawanishi et al., 2009) e infecta mais 77 espécies pertencentes a 17 gêneros da família Myrtaceae (USDA Fungal Databases, 2011).

Em função do potencial de impactos negativos da doença na eucaliptocultura, a seleção de plantas resistentes à ferrugem têm sido incluída nos principais programas de melhoramento, baseando-se na metodologia de inoculação (Ruiz et al., 1989) e avaliação da doença em condições controladas (Junghans et al., 2003b). A ampla variabilidade genética inter e intraespecífica para resistência à ferrugem encontrada em diferentes espécies de eucalipto (Zauza et al., 2010) têm permitido a seleção de plantas resistentes para plantio comercial (Carvalho et al., 1998; Dianese et al., 1984; 1986; Alfenas et al., 1997; Xavier et al., 2007 e Guimarães et al., 2010).

Apesar da seleção de plantas resistentes à ferrugem ser eficiente, como os programas de melhoramento genético no setor florestal são de médio e longo prazo, é fundamental conhecer o fenótipo dos genitores de modo a se obter uma progênie onde se possa realizar a seleção. Atualmente, a eucaliptocultura brasileira e seus programas de melhoramento genético são baseados em *E. grandis*, *E. urophylla* e seus híbridos (“urograndis”) (Fonseca et al., 2010). No entanto, *E. grandis* é considerada uma das espécies mais suscetíveis à ferrugem do eucalipto (Zauza et al., 2010) e não há estudos sobre a transferibilidade da resistência de *E. urophylla* para progênies híbridas. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar, sob condições controladas, a resistência à

ferrugem em genitores e progênies híbridas dessas duas espécies a fim de embasar a seleção de genótipos resistentes para plantios.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Avaliou-se a resistência de 58 genitores de *E. grandis* e 92 genitores de *E. urophylla* de várias procedências (Tabelas 3 e 4), bem como 607 indivíduos de 31 progênies derivadas de cruzamentos controlados entre as duas espécies (Tabela 2). Para isso, mudas com 60 dias de idade foram transplantadas para vasos de 2 L de capacidade contendo uma mistura de solo: areia: esterco (3:1:1) suplementadas com superfosfato (18% P₂O₅) a 1 g dm⁻³ e adubadas uma vez por semana com 100 mL de Ouro Verde® (15-15-20 NPK) a 7,5 g L⁻¹. As plantas foram mantidas em condições de casa de vegetação durante 30 dias antes da inoculação.

Inoculação

Uma suspensão de inóculo a 2×10^4 urediniósporos mL⁻¹ do isolado monopustular UFV-2 (Junghans et al., 2003b) de *P. psidii* foi atomizada homoganeamente nas superfícies abaxial e adaxial das folhas das mudas, com o auxílio de um atomizador De Vilbiss nº 15, acoplado a um compressor elétrico ajustado para 0,6-0,8 Kgf cm⁻² de pressão. Após a inoculação, as mudas foram mantidas em câmara de nevoeiro a 25 ± 2°C no escuro por 24 h. Em seguida, foram transferidas para câmara de crescimento (fotoperíodo de 12 h, intensidade luminosa de 40 μM fótons s⁻¹ m⁻² e temperatura média de 22 ± 2°C) por 20 dias (Ruiz et al., 1989).

Avaliação da resistência

A severidade da doença foi avaliada aos 20 dias após a inoculação, utilizando-se a escala de notas preconizada por Junghans et al., (2003b). Essa escala compreende quatro classes de severidade, baseadas no tamanho das pústulas: S0 = imunidade ou reação de hipersensibilidade (HR) do tipo “fleck” ou necrótico; S1 = pequenas pústulas, < 0,8 mm de diâmetro; S2 = pústulas de tamanho médio, de 0,8 a 1,6 mm de diâmetro; e

S3 = pústulas grandes > 1,6 mm de diâmetro. Plantas S0 e S1 foram consideradas resistentes e plantas S2 e S3 suscetíveis (Junghans et al., 2003b).

Delineamento Experimental

Para os genitores, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), contendo dez réplicas clonais por tratamento (avaliação de um genitor de *E. grandis* ou *E. urophylla*). Para as progênes, também foi conduzido um DIC, com 13 a 21 plantas por progênie, dependendo da capacidade de germinação. As progênes foram inoculadas e avaliadas duas vezes durante o experimento. Para isso, as plantas foram podadas e reinoculadas após o lançamento de novas gemas vegetativas (cerca de 30 dias). Plantas de *Syzygium jambos* (L.) Alston foram usadas como controle suscetível e na multiplicação do inóculo. Um teste de χ^2 foi usado para testar a hipótese de herança mendeliana dos fenótipos da doença. Para análise quantitativa dos dados os parâmetros genéticos e fenotípicos foram estimados pelo método dos Modelos Lineares Mistos (REML – Máxima Verossimilhança Residual e BLUP – Melhor Predição Linear não Viesada). O seguinte modelo misto foi empregado: $y = Xr + Za + e$, em que y é o vetor de dados, r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral, g é o vetor dos efeitos genéticos aditivos (assumidos como aleatórios), e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos. Estimativas de componentes de variância (via REML) e da herdabilidade em sentido restrito foram obtidas após ajuste do modelo para os experimentos com as famílias no programa Selegen-Reml/Blup® (Resende, 2002). O estimador $\hat{h}_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2}$ foi empregado para computo da herdabilidade individual no sentido restrito, em que $\hat{\sigma}_a^2$ é a estimativa da variância genética aditiva e $\hat{\sigma}_e^2$ é a estimativa da variância residual.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maioria dos genitores inoculados de ambas as espécies foi suscetível à ferrugem (Tabela 1), independente de sua procedência (Tabela 3 e 4). No presente

trabalho, *E. urophylla* apresentou, contudo, um maior número de plantas resistentes que *E. grandis* (Tabela 1), o que corroborou com os resultados de Zauza et al., 2010. Esses resultados indicam que, como nas duas espécies há genótipos altamente resistentes (nota S0) ou altamente suscetíveis (nota S3), é fundamental avaliar a resistência por meio de inoculações sob condições controladas a fim de selecionar os genitores para cruzamentos, ainda que haja segregação dependendo de sua constituição genética (Tabela 3).

Dos genitores de *E. grandis* avaliados apenas seis (G18, G91, G169, G253, G419 e G549) foram resistentes independente de suas procedências (Tabela 3). Desses, três (G169, G253 e G549) foram imunes à ferrugem (notas S0), enquanto os outros apresentaram pústulas puntiformes (G18, G91 e G419) (notas S1). Na prática, espera-se que a esporulação puntiforme não interfira no desenvolvimento das plantas (Junghans et al., 2003a) e, portanto, tais plantas podem ser selecionadas para plantio no campo.

Como a maioria dos programas de melhoramento de eucalipto baseia-se em cruzamentos interespecíficos *E. grandis* x *E. urophylla*, a resistência à ferrugem nas progênies oriundas dos cruzamentos avaliados nesse trabalho depende quase que exclusivamente de *E. urophylla*. Nas avaliações das progênies derivadas de cruzamentos entre as duas espécies e envolvendo um genitor de *E. urophylla* resistente, as progênies, em sua maioria, segregaram na proporção 1:3 (resistente:suscetível) (Tabela 3). Este tipo de segregação (1R:3S) indica que o controle genético da resistência nessas progênies é distinto da resistência descrita para *E. grandis* (Junghans et al., 2003a). A diferença na segregação encontrada neste trabalho para a resistência controlada por um gene de efeito principal pode ser devido a três fatores principais: 1 - pequeno número de indivíduos amostrados; 2- a penetrância incompleta do gene de resistência no “background” do cruzamento interespecífico; e, ou 3 - a presença de mais de um gene de resistência de efeito principal, o que poderia explicar a proporção 1R:3S encontrada.

Em recente trabalho, Alves (2008) propôs um modelo de herança oligogênica (digênica) para explicar a segregação da resistência em progênies provenientes de cruzamentos interespecíficos de *Eucalyptus* spp.. De acordo com esse modelo, para ativar os mecanismos de resistência é necessário que os dois genes R estejam presentes de modo que eles possam interagir epistaticamente. Assim, a quebra por meio da hibridação de ligações epistáticas favoráveis à resistência nas espécies puras podem levar à suscetibilidade nos híbridos. Baseando-se no modelo digênico proposto por

Alves (2008) foi hipotetizado uma configuração alélica dos genes de efeito principal para os genitores que explicam as segregações obtidas (Tabela 3).

Progênes derivadas do cruzamento entre genitores de *E. urophylla* considerados resistentes, com notas S1, cruzadas com genitores de *E. grandis*, suscetíveis, foram suscetíveis à ferrugem (Tabela 3). Esse resultado contraria a hipótese apresentada por Junghans et al., (2003a) no estudo sobre a herança da resistência à ferrugem em *E. grandis*, que considerou as plantas que apresentaram esporulação puntiforme (notas S1) como resistentes e contendo o gene de resistência de efeito principal. Os resultados encontrados neste trabalho indicam que os genitores de *E. urophylla* resistentes (notas S1) não possuem o(s) gene(s) de resistência de efeito principal, mas provavelmente vários genes de defesa que atuam em conjunto na contenção do avanço da colonização do patógeno. A segregação conjunta desses poligenes impossibilitou a obtenção de plantas resistentes (S1) nas progênes avaliadas, em parte devido ao limitado número de indivíduos fenotipados. Assim, quando da obtenção de progênes interespecíficas “urograndis” visando a seleção de plantas resistentes à ferrugem, deve-se evitar utilizar genitores resistentes, classificados com base em notas S1.

Resultados da análise quantitativa dos dados (Tabela 2) revelaram herdabilidade no sentido restrito de 39% em progênes híbridas “urograndis”. Esse resultado é coerente com aquele encontrado no capítulo 1 e indica que vários genes atuam na resistência à ferrugem em *Eucalyptus*.

Os resultados deste trabalho reforçam a necessidade de novos estudos em progênes interespecíficas de *E. grandis* x *E. urophylla*, contendo um maior número de indivíduos visando entender o comportamento da resistência à ferrugem nessas progênes, sua transferibilidade e seu controle genético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas AC, Zauza EAV, Mafia RG and Assis TF (2009) **Clonagem e doenças do eucalipto**. Editora UFV, 2 ed., Viçosa, 500p.
- Alfenas AC, Valle LAC, Xavier AA, Brommonschenkel SH, Grattapaglia D, Silva CC, Bertolucci FL and Penchel R (1997) *Eucalyptus* rust: genetic variability of elite clones

- and histological characterization of the resistance reaction. **Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypt 2**: 60–64.
- Alves AA (2008) **Herança e mapeamento genético da resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) em cruzamentos interespecíficos de *Eucalyptus***. Viçosa. 58p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento - Universidade Federal de Viçosa).
- Carvalho AO, Alfenas AC, Maffia LA and Carmo MGF (1998) Resistência de espécies, progênies e procedências de *Eucalyptus* à ferrugem, causada por *Puccinia psidii* Winter. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **33**: 139-147.
- Dianese JC, Haridasan N and Moraes TSA (1986) Screening *Eucalyptus* for rust resistance in Bahia. **Tropical Pest Management** **32**: 292-295.
- Dianese JC, Moraes TSD and Silva AR (1984) Reponse of *Eucalyptus* species to field infection by *Puccinia psidii*. **Plant Disease** **68**: 314-316.
- Ferreira FA (1983) Ferrugem do eucalipto. **Revista Árvore** **7**: 91-109.
- Fonseca SM, Resende MDV, Alfenas AC, Guimarães LMS, Assis TF and Grattapaglia D (2010) **Manual Prático de Melhoramento Genético do Eucalipto**. Editora UFV, Viçosa (MG), 200 p.
- Glen M, Alfenas AC, Zuza EAV, Wingfield MJ and Mohammed C (2007) *Puccinia psidii*: a threat to the Australian environment and economy – a review. **Australasian Plant Pathology** **36**: 1-16.
- Guimarães LMS, Titon M, Lau D, Rosse L, Oliveira LSS, Rosado CCG, Christo GGO and Alfenas AC (2010) *Eucalyptus pellita* as a source of resistance to rust, ceratocystis wilt and leaf blight. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **10**: 124-131.
- Junghans DT, Alfenas AC, Brommonschenkel SH, Oda S, Mello EJ and Grattapaglia D (2003a) Resistance to rust (*Puccinia psidii* Winter) in *Eucalyptus*: mode of inheritance and mapping of a major effect locus with RAPD markers. **Theoretical Applied Genetics** **108**: 175-180.
- Junghans DT, Alfenas AC and Maffia LA (2003b) Escala de notas para a quantificação da ferrugem do eucalipto. **Fitopatologia Brasileira** **28**: 184-188.
- Kawanishi T, Uematsu S, Kakishima M, Kagiwada S, Hamamoto H, Horie H and Namba S (2009) First report of rust disease on ohia and the causal fungus, *Puccinia psidii*, in Japan. **General Plant Pathology** **75**: 428-431.
- Maclachlan JD (1938) A rust of the pimento tree in Jamaica, B.W.I. **Phytopathology** **28**: 157-170.
- Marlatt RB and Kimbrough JW (1979) *Puccinia psidii* on *Pimento dioica* in South Florida. **Plant Disease** **63**: 510-512.
- Mellano V (2006) Rust on Myrtle Found in San Diego County USDA. **Retail Nursery Newsletter** **1**: 6.
- Resende MDV (2002) **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 975p.

- Ruiz RAR, Alfenas AC and Ferreira FA (1989) Influência de temperatura, luz e origem do inóculo sobre a produção de uredíniosporos e teliosporos de *Puccinia psidii*. **Fitopatologia Brasileira** **14**: 70-73.
- Uchida J, Zhong S and Killgore E (2006) First report of a rust disease on ‘Ohi’a caused by *Puccinia psidii* in Hawaii. **Plant Disease** **90**: 524.
- USDA Fungal Databases Disponível em <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>
Acessado em 15/02/11.
- Xavier AA, Sanfuentes EV, Junghans DT and Alfenas AC (2007) Resistência de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus nitens* à ferrugem (*Puccinia psidii*). **Revista Árvore** **31**: 731-735.
- Zauza EAV, Alfenas AC, Old K, Couto MMF, Graça RN and Maffia LA (2010) Myrtaceae species resistance to rust caused by *Puccinia psidii*. **Australasian Plant Pathology** **39**: 406-411.

Tabela 1. Classes de severidade (Junghans et. al., 2003b) de ferrugem em genitores de *Eucalyptus grandis* e *E. urophylla*, inoculadas com *Puccinia psidii*

Espécie	Classes de severidade				Número de plantas
	S0	S1	S2	S3	
<i>E. grandis</i>	3	3	7	45	58
<i>E. urophylla</i>	18	24	7	43	92
	Resistente		Suscetível		Total de plantas (%)
<i>E. grandis</i>	10		90		100
<i>E. urophylla</i>	46		54		100

Tabela 2. Estimativas de parâmetros genéticos para resistência à ferrugem em progênies de *E. grandis* x *E. urophylla* inoculadas com *Puccinia psidii*.

Parâmetros genéticos	Valores
Média geral	2,64
Variância fenotípica individual	0,75
Variância genotípica entre progênies de irmãos germanos	0,17
Variância residual dentro da parcela	0,58
Herdabilidade individual no sentido restrito	0,45 +/- 0,11
Herdabilidade aditiva dentro da parcela	0,29

Tabela 3. Resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) nas progênes interespecíficas *Eucalyptus grandis* (G) x *E. urophylla* (U) inoculadas em condições controladas

Genitor Feminino		Genitor Masculino				N° Plantas/ Progênie	R ¹⁾	S	Hipótese	χ ²	P
Fenótipo ¹⁾	Genótipo ²⁾	Genitores	Genótipo	Fenótipo							
R - S0	AABb	U1179	G549	NA	R - S0	20	11	9	3:1	4.26	0.03
R - S0	AaBb	U1412	G549	NA	R - S0	21	10	11	9:7	0.63	0.42
R - S0	AABb	U1179	G547	aabb	S - S3	21	6	15	1:1	3.85	0.05
R - S0	AaBb	U1274	G91	aabb	R - S1*	20	5	15	1:3	0.00	1.00
S - S3	aabb	G39	U1072	AaBb	R - S0	19	4	15	1:3	0.15	0.69
S - S3	aabb	G45	U1177	AaBb	R - S0	20	6	14	1:3	0.26	0.60
R - S0	AaBb	U1185	G47	aabb	S - S3	20	8	12	1:3	2.40	0.12
R - S0	AaBb	U1185	G51	aabb	S - S3	21	5	16	1:3	0.01	0.90
R - S0	AaBb	U1185	G83	aabb	S - S3	20	5	15	1:3	0.00	1.00
R - S0	AaBb	U1185	G99	aabb	S - S3	21	3	18	1:3	1.28	0.25
R - S0	AaBb	U1392	G82	aabb	S - S3	20	7	13	1:3	1.06	0.30
S - S3	aabb	G39	U1275	aabb	R - S1*	19	0	19	0:1		
S - S3	aabb	G39	U1282	aabb	R - S1*	20	0	20	0:1		
R - S1*	aabb	U1310	G51	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		
R - S1*	aabb	U1310	G547	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		
R - S1*	aabb	U1310	G58	aabb	S - S3	19	0	19	0:1		
R - S1*	aabb	U1310	G93	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		
S - S3	aabb	G39	U1313	aabb	R - S1*	19	0	19	0:1		
S - S3	aabb	G99	U1316	aabb	R - S1*	20	0	20	0:1		
R - S1*	aabb	U1391	G91	aabb	R - S1*	18	0	18	0:1		
S - S3	aabb	G47	U1455	aabb	R - S1*	20	0	20	0:1		
S - S3	aabb	G39	U1034	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		
S - S3	aabb	G39	U1183	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		
S - S3	aabb	G39	U1206	aabb	S - S3	16	1	15	0:1		
S - S3	aabb	U1237	G93	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		
S - S3	aabb	U1286	G142	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		
S - S3	aabb	U1286	G504	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		
S - S3	aabb	U1286	G99	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		
S - S3	aabb	G39	U1305	aabb	S - S3	13	2	11	0:1		
S - S3	aabb	G39	U1450	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		
S - S3	aabb	G45	U1450	aabb	S - S3	20	0	20	0:1		

¹⁾ R = Resistente, S = suscetível; classificação baseada na escala de notas proposta por Junghans et al., (2003b): S0 = imunidade; S1 = pústulas puntiformes, < 0.8 mm de diâmetro; S2 = pústulas de tamanho médio, de 0.8 a 1.6 mm de diâmetro; e S3 = pústulas grandes > 1.6 mm de diâmetro.

²⁾ Configuração alélica e hipótese de herança da resistência baseada no controle da característica por dois genes independentes.

³⁾ G549- Não avaliado (NA). O genitor foi considerado resistente baseado em informação de campo.

*A classe S1 foi considerada resistente devido à presença de genes de efeito menor.

Tabela 4. Fenótipo dos genitores de *Eucalyptus grandis* quanto à resistência à ferrugem do eucalipto, causado por *Puccinia psidii*, avaliados em condições controladas. Classificação fenotípica baseada na escala de notas de Junghans et al., (2003b)

Genitor	Procedência	Nota	Fenótipo	Genitor	Procedência	Nota	Fenótipo
16	Herberton	S3	Suscetível	134	Herberton	S3	Suscetível
18	Herberton	S1	Resistente	137	Herberton	S3	Suscetível
30	Herberton	S3	Suscetível	142	Herberton	S3	Suscetível
38	Herberton	S3	Suscetível	152	Paluma	S2	Suscetível
39	Herberton	S3	Suscetível	155	Paluma	S3	Suscetível
45	Herberton	S3	Suscetível	158	Paluma	S3	Suscetível
47	Herberton	S3	Suscetível	161	Paluma	S3	Suscetível
51	Herberton	S3	Suscetível	163	Paluma	S2	Suscetível
52	Herberton	S2	Suscetível	169	Paluma	S0	Resistente
55	Herberton	S3	Suscetível	170	Paluma	S3	Suscetível
58	Herberton	S3	Suscetível	172	Paluma	S3	Suscetível
64	Herberton	S3	Suscetível	192	Paluma	S3	Suscetível
73	Herberton	S3	Suscetível	201	Paluma	S3	Suscetível
81	Herberton	S3	Suscetível	209	Paluma	S3	Suscetível
82	Herberton	S3	Suscetível	215	Paluma	S2	Suscetível
83	Herberton	S3	Suscetível	218	Herberton	S2	Suscetível
90	Herberton	S3	Suscetível	243	Herberton	S3	Suscetível
91	Herberton	S1	Resistente	253	Herberton	S0	Resistente
93	Herberton	S3	Suscetível	356	Mount Lews	S3	Suscetível
94	Herberton	S3	Suscetível	357	Mount Lews	S3	Suscetível
99	Herberton	S3	Suscetível	386	Paluma	S3	Suscetível
103	Herberton	S3	Suscetível	391	Paluma	S3	Suscetível
108	Herberton	S3	Suscetível	397	Paluma	S3	Suscetível
114	Paluma	S3	Suscetível	398	Paluma	S2	Suscetível
118	Paluma	S2	Suscetível	419	Paluma	S1	Resistente
124	Herberton	S3	Suscetível	504	Atherton	S3	Suscetível
127	Herberton	S3	Suscetível	508	Atherton	S3	Suscetível
129	Herberton	S3	Suscetível	547	Mount Spurgeon	S3	Suscetível
132	Herberton	S3	Suscetível	549	Mount Spurgeon	S0	Resistente

Tabela 5. Fenótipo dos genitores de *Eucalyptus urophylla* quanto à resistência à ferrugem do eucalipto, causado por *Puccinia psidii*, avaliados em condições controladas. Classificação fenotípica baseada na escala de notas de Junghans et al., (2003b)

Genitor	Procedência	Nota	Fenótipo	Genitor	Procedência	Nota	Fenótipo
1177	Flores	S0	Resistente	1299	-	S1	Resistente
1179	Flores	S0	Resistente	1455	-	S1	Resistente
1187	Flores	S0	Resistente	1072	-	S1	Resistente
1217	Flores	S0	Resistente	1085	-	S1	Resistente
1247	Flores	S0	Resistente	1138	Flores	S2	Suscetível
1274	Flores	S0	Resistente	1204	Flores	S2	Suscetível
1278	Flores	S0	Resistente	1242	Flores	S2	Suscetível
1360	Flores	S0	Resistente	1249	Flores	S2	Suscetível
1368	Flores	S0	Resistente	1283	Flores	S2	Suscetível
1382	Flores	S0	Resistente	1397	Flores	S2	Suscetível
1383	Flores	S0	Resistente	1237	-	S2	Suscetível
1412	Flores	S0	Resistente	1130	Flores	S3	Suscetível
1413	Flores	S0	Resistente	1135	Flores	S3	Suscetível
1421	Flores	S0	Resistente	1136	Flores	S3	Suscetível
1442	Flores	S0	Resistente	1139	Flores	S3	Suscetível
1151	-	S0	Resistente	1158	Flores	S3	Suscetível
1293	-	S0	Resistente	1168	Flores	S3	Suscetível
1392	-	S0	Resistente	1170	Flores	S3	Suscetível
1132	Flores	S1	Resistente	1183	Flores	S3	Suscetível
1149	Flores	S1	Resistente	1192	Flores	S3	Suscetível
1181	Flores	S1	Resistente	1201	Flores	S3	Suscetível
1185	Flores	S1	Resistente	1206	Flores	S3	Suscetível
1202	Flores	S1	Resistente	1210	Flores	S3	Suscetível
1246	Flores	S1	Resistente	1211	Flores	S3	Suscetível
1248	Flores	S1	Resistente	1219	Flores	S3	Suscetível
1261	Flores	S1	Resistente	1222	Flores	S3	Suscetível
1265	Flores	S1	Resistente	1226	Flores	S3	Suscetível
1275	Flores	S1	Resistente	1231	Flores	S3	Suscetível
1282	Flores	S1	Resistente	1266	Flores	S3	Suscetível
1294	Flores	S1	Resistente	1277	Flores	S3	Suscetível
1308	Flores	S1	Resistente	1286	Flores	S3	Suscetível
1310	Flores	S1	Resistente	1288	Flores	S3	Suscetível
1313	Flores	S1	Resistente	1289	Flores	S3	Suscetível
1316	Flores	S1	Resistente	1305	Flores	S3	Suscetível
1340	Flores	S1	Resistente	1326	Flores	S3	Suscetível
1404	Flores	S1	Resistente	1348	Flores	S3	Suscetível
1405	Flores	S1	Resistente	1357	Flores	S3	Suscetível
1440	Flores	S1	Resistente	1359	Flores	S3	Suscetível

1373	Flores	S3	Suscetível	1450	Flores	S3	Suscetível
1374	Flores	S3	Suscetível	1034	Flores	S3	Suscetível
1380	Flores	S3	Suscetível	1291	-	S3	Suscetível
1381	Flores	S3	Suscetível	1315	-	S3	Suscetível
1384	Flores	S3	Suscetível	1238	-	S3	Suscetível
1427	Flores	S3	Suscetível	1300	-	S3	Suscetível
1437	Flores	S3	Suscetível	1391	-	S3	Suscetível
1447	Flores	S3	Suscetível	1456	-	S3	Suscetível

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados desse trabalho permitem concluir que:

- Todas as progênies de *E. pellita* segregaram para resistência à ferrugem.
- *Eucalyptus pellita* possui moderada herdabilidade da resistência à ferrugem, indicando que a resistência nessa espécie é de caráter quantitativo.
- *Eucalyptus pellita* constitui uma importante fonte de genes de resistência à ferrugem do eucalipto.
- *Eucalyptus urophylla* possui maior frequência de indivíduos resistentes à ferrugem do eucalipto que *E. grandis*.
- O padrão de segregação das progênies *E. grandis* x *E. urophylla* quanto a resistência à ferrugem é complexo e está mais próximo de um modelo oligogênico.
- Genitores *E. urophylla* resistentes, baseado na nota S1, não transferem a resistência à ferrugem para progênies híbridas em cruzamentos com *E. grandis*.