



Deborah Maria Zoccolli, Dr.^a em Fitopatologia.



Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA**

**FERRUGEM BRANCA DO CRISÂNTEMO: EPIDEMIOLOGIA,
CONTROLE E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA**

DÉBORA MARIA ZOCCOLI

**Brasília, DF
2008**

DÉBORA MARIA ZOCCOLI

FERRUGEM BRANCA DO CRISÂNTEMO: EPIDEMIOLOGIA, CONTROLE E
MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

Tese apresentada a Universidade de Brasília, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia.

Orientadora: Dr^a. Denise Vilela de Rezende

BRASÍLIA
DISTRITO FEDERAL - BRASIL
2008

DÉBORA MARIA ZOCCOLI

FERRUGEM BRANCA DO CRISÂNTEMO: EPIDEMIOLOGIA, CONTROLE E
MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

Tese apresentada a Universidade de Brasília, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia.

APROVADA, em 30 de maio de 2008.

Prof^a. Orientadora, Denise Vilela de Rezende, Dr^a.
Universidade de Brasília

Pesquisador Wagner Bettioli, PhD
Empresa Brasileira de Agropecuária, EMBRAPA Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

Prof^a. Marisa A. S. Velloso Ferreira, Dr^a.
Universidade de Brasília

Prof. Jean Kleber Mattos, Dr.
Universidade de Brasília

Prof. Luiz Eduardo Bassay Blum, Professor, PhD
Universidade de Brasília

Brasília, DF
Maio, 2008

Dedicatória

À Deus;

à vida;

aos incríveis Ailton e Hely,
meus pais;

ao amor.

AGRADECIMENTO

Minha gratidão eterna ao Único e verdadeiro Deus Vivo, que se manifesta! Ele nunca desistiu de mim, estendeu a mão quando não havia mais ninguém, levantou, fortaleceu, renovou, fez trazer a minha mente idéias manteve a saúde mental e física, esteve comigo me ajudando a vencer todas as lutas que trouxeram a concretização deste trabalho, conjugadas às demais lutas que envolvem a vida, vencemos! Sem Deus eu nada poderia fazer, obrigada por plantar em mim a fé que fez prosperar o trabalho das minhas mãos, produzindo hoje este fruto, Graças te dou meu Senhor a Ti seja toda Honra e Glória.

Aos meus pais Ailton da Silva Zoccoli e Hely Maria Zoccoli, que me ensinaram muito mais do que qualquer letra pode revelar, deram o amor que em lugar algum se pode encontrar, capaz de alimentar minha alma e impulsionar para prosseguir, vocês têm meu coração, respeito e gratidão.

À minha família: irmãs Glaucia e Daisy, cunhados Milton e Hércules, sobrinhos Arthur, Raissa, Victor, Yan e Igor que tornam minha vida colorida e radiante, emocionante é indescritível. Cada abraço, sorriso, palavras de conforto e ânimo, revelam as cores do arco-íris ao meu coração, fortalece para as lutas, obrigada.

A todos os pastores da Igreja Universal do Reino de Deus que proferem a Palavra de Deus com sinceridade e compromisso, pelas constantes orações, apoio espiritual inigualável, pelos ensinamentos bíblicos que moveram minha fé e me fizeram perseverar nesta conquista, obrigada.

À Dr^a. Denise Vilela de Rezende, que acreditou em mim e aceitou o desafio proposto, agradeço pelo suporte para realização deste trabalho, juntamente com o Departamento de Fitopatologia.

Agradeço ao Celso Katsuhito Tomita, que me abriu as portas para realizar este trabalho no campo, projeto pessoal que passou do sonho para realidade. Profissionalmente aprendi com você, aperfeiçoei, amadureci e sua amizade fez os áridos dias serem muito mais amenos.

Aos produtores Sr. Junji Akaoka (*in memoriam*) e Takao Akaoka por me receberem em sua propriedade constantemente, apoiar, fornecer informações e todo subsídio técnico e pessoal para realização deste trabalho, nunca teria sido possível sem a participação de vocês, muito obrigada.

Agradeço a todos os professores do Departamento de Fitopatologia desta instituição, pelos conhecimentos compartilhados e apoio prestado.

À Dr^a. Sueli Maria Gomes que não olhou para os obstáculos, mas vislumbrou os benefícios e abraçou a idéia comigo, compartilhou seus conhecimentos científicos e de vida, te admiro, obrigada.

Aos técnicos do laboratório de Fitopatologia: grande Carlos Pietrani, Dn^a. Francisca, Camila, Arlindo, Marivaldo e secretária do departamento Silene, obrigada pelo apoio, respeito e amizade.

Especialmente agradeço ao grande profissional e amigo César por sempre acreditar no trabalho, ser compromissado e dedicado, pelo carinho e responsabilidade com que travou comigo esta batalha, obrigada.

Ao técnico do laboratório de Botânica Eli, e estagiários, Marcos, Daiane e Guilherme, muito obrigada pelo apoio e ensinamentos.

Ao secretário Ribamar Frazão pela paciência, atenção e amizade, obrigada.

À amiga Heloisa Belle que me acolheu, abrigou com carinho, socorreu, deu-me amor, alegria e sua companhia em tantos momentos difíceis, obrigada.

Ao amigo Marlos Rodrigues dos Santos obrigada pela força, incentivo, apoio, companheirismo, você é meu irmão, lhe sou grata.

À querida Letícia Simone Guimarães, minha grande amiga vencemos junto essa batalha, você ajudou a fazer valer à pena.

À querida Carol Pedroso, muito obrigada por tantos momentos alegres, por me apresentar o melhor desta terra e principalmente pelo carinho da sua amizade.

Aos que conheci nesta trajetória na UnB: Igor, Marcos Freitas, Débora Melo, Ana Cristina, Beatriz, Mariana, Caroline Rabelo, Sara, Maria Angélica, agradeço por cada momento de amizade.

Aqueles que me acolheram no Departamento de Botânica e Fisiologia Vegetal Giselle Pina, Zan, Davi, Olegário, Bruna, Nádia, Silvia, Kadja, foi maravilhoso trabalhar e aprender com vocês. Agradeço em especial ao Davi pelas aulas de estatística na companhia do Olegário; a Bruna por atender meus apelos de artigos; e a estagiária Bruna por me permitir compartilhar contigo o que aprendi. Vocês me ajudaram legal!

Aos grandes amigos da Colina Enio, Gabriel, Alexon, Joel, Eider, Albervan, Eliane, João que alegraram meus dias, compartilharam sonhos, tornaram os finais de semana menos frios, obrigada pela amizade e força.

Àquelas que compartilharam comigo o mesmo teto e lar neste período conflituoso de tese, agradeço: Eliete, Tânia, Giovana, Elza, Eneida, Elidiane, Patrícia e Ednalva.

Aos profissionais do Bloco K da Colina Marcelo, Raimunda, Sr. Miguel e Edivan, pelo zelo e cuidado que me atenderam por esses quatro anos.

Aos professores e alunos dos Departamentos de Geografia, Estatística, Botânica, Fisiologia Vegetal, Química pela receptividade, atenção, concessão de informações valiosas, pela aprendizagem por meio das disciplinas cursadas, que contribuíram muito para meu aperfeiçoamento profissional.

Agradeço a MOA Internacional pelo apoio mister e pela estrutura oferecida na pessoa do engenheiro agrônomo Celso Tomita, aos estagiários representados pela Vanessa e Denise e ao profissional Valdimar pela contribuição.

À CAPES e ao CNPq pela bolsa de estudo concedidas sem a qual não seria possível a realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora deste trabalho, pela honra que me concederam nesta participação e pelo aprendizado profissional, obrigada.

A todos os profissionais da Central flores de Brasília, Associação de Produtores de Brazlândia, DF, Núcleo Rural Rajadinha, que abriram suas “portelas” para mim e permitiram que as pesquisas fossem aprimoradas, obrigada pelo acolhimento e profissionalismo.

BIOGRAFIA

Débora Maria Zoccoli, graduada pela Universidade Federal de Uberlândia em Agronomia, Mestre em Agronomia pela mesma instituição e Doutora em Fitopatologia pela Universidade de Brasília.

Nascida em Goiânia, GO, tendo mudado aos oito anos de idade para a cidade de Uberlândia, MG, onde desenvolveu sua formação profissional e cultural.

Em 2004 foi para capital do Brasil, com objetivo de alargar os horizontes profissionais e ingressar no Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade de Brasília. Conquistou!

Amante da Criação, da liberdade, das plantas e nelas à Fitopatologia, profissão escolhida com paixão.

O Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Uberlândia foi seu berço científico, princípio para os passos que se alargaram.

Não faz da ciência uma descoberta, mas uma oportunidade de aplicar a própria existência com produtividade, e que seja útil para si e também aos outros.

Para ela, vale à pena realizar com entusiasmo, com a mente e o coração, alegrar-se com o resultado, aprender com os percalços, sim, vale a pena!

“Ouvi, ó reis! Daí ouvidos, ó príncipes! Eu, **Débora**, eu mesma cantarei ao Senhor; salmodiarei ao Senhor Deus de Israel” (Juízes 5:3), essas palavras revelam a sua verdadeira motivação para caminhada de vida.

EPÍGRAFE

“Não é o crítico que conta, o crédito pertence ao homem que está realmente na arena, cujo rosto está sujo de poeira, suor e sangue; que se esforça corajosamente; que fracassa repetidas vezes, porque não há esforço sem obstáculos, mas que realmente se empenha para realizar as tarefas; que sabe o que é ter grande entusiasmo e grande devoção e que exaure suas forças numa causa digna; que no final descobre o triunfo das grandes realizações e, caso venha a fracassar, ao menos fracassa ousando muito, de forma que seu lugar nunca será junto às almas frias e tímidas que não conhecem nem a vitória nem a derrota.”

Theodore Roosevelt, por Edir Macedo.

“Dá instrução ao sábio, e ele se fará mais sábio ainda;
ensina ao justo, e ele crescerá em prudência.
O temor do Senhor é o princípio da sabedoria
e o conhecimento do Santo é prudência.
Confia ao Senhor as tuas obras,
e os teus desígnios serão estabelecidos.”
(Provérbios 9:9-10 e 16:3)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
INTRODUÇÃO	01
JUSTIFICATIVA	05
REFERENCIALTEÓRICO	06
1. Mercado de flores.....	06
2. A cultura do crisântemo.....	09
3. Aspectos gerais da ferrugem branca do crisântemo.....	13
4. Controle da ferrugem branca.....	23
CAPÍTULO I: ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA FERRUGEM BRANCA DO CRISÂNTEMO	27
Introdução.....	28
Material e Métodos.....	31
Resultados e Discussão	38
Conclusões.....	62
CAPÍTULO II: ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL PARA O CONTROLE DA FERRUGEM BRANCA DO CRISÂNTEMO	63
Introdução.....	64
Material e Métodos.....	67
Resultados e Discussão.....	70
Conclusões.....	81
CAPÍTULO III: MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DO CRISÂNTEMO À <i>Puccinia horiana</i>	82
Introdução.....	83
Material e Métodos	87
Resultados e Discussão	95
Conclusões.....	114
CONSIDERAÇÕES FINAIS	115

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	116
ANEXOS.....	131

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1:	Diversidade de variedades de crisântemo cultivadas em Brazlândia.....	11
FIGURA 2:	Sintomas da ferrugem branca em <i>Dendranthema grandiflora</i>	22
FIGURA 3:	Morfologia das folhas de crisântemo.....	32
FIGURA 4:	Esquema representativo da subdivisão da folha e os respectivos percentuais.....	33
FIGURA 5:	Escala diagramática ilustrada para avaliação da severidade da ferrugem branca do crisântemo.....	38
FIGURA 6:	Médias gerais por plantio da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença ferrugem do crisântemo.....	41
FIGURA 7:	Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para a ferrugem branca do crisântemo, das variedades cultivadas no verão.....	47
FIGURA 8:	Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para a ferrugem branca do crisântemo, das variedades cultivadas no outono.....	50
FIGURA 9:	Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para a ferrugem branca do crisântemo, das variedades cultivadas no inverno.....	52
FIGURA 10:	Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para a ferrugem branca do crisântemo, das variedades cultivadas na primavera.....	54
FIGURA 11:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P1.....	58
FIGURA 12:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P2.....	58
FIGURA 13:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P3.....	58
FIGURA 14:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P12.....	59
FIGURA 15:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P4.....	59
FIGURA 16:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P5.....	59
FIGURA 17:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P6.....	60

FIGURA 18:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P7.....	60
FIGURA 19:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P8.....	60
FIGURA 20:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P9.....	61
FIGURA 21:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P10.....	61
FIGURA 22:	Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P11.....	61
FIGURA 23:	Severidade da ferrugem branca determinada pela AACPD em crisântemo, tratados com fungicidas e composto bioativo líquido (B), na época P5.....	72
FIGURA 24:	Severidade da ferrugem branca determinada pela AACPD em crisântemo, tratados com fungicidas e composto bioativo líquido (B), na época P6.....	73
FIGURA 25:	Severidade da ferrugem branca nos tratamentos, determinada pela AACPD em crisântemo, na época P7.....	75
FIGURA 26:	Severidade da ferrugem branca, nos tratamentos, determinada pela AACPD em crisântemo, na época P8.....	76
FIGURA 27:	Severidade da ferrugem branca, nos tratamentos, determinada pela AACPD em crisântemo, na época P9.....	79
FIGURA 28:	Cortes transversais em micrótomo a uma espessura de 10µm, de folhas de variedades de crisântemo, incluídas em parafina.....	98
FIGURA 29:	Corte paradérmico de variedades de crisântemo.....	99
FIGURA 30:	Testes histoquímicos com vermelho de rutênio em tecidos foliares de crisântemo.....	100
FIGURA 31:	Testes histoquímicos em variedades de <i>Dendranthema grandiflora</i>	101
FIGURA 32:	Testes histoquímicos com reagente Dittmar à esquerda e Dicromato de K à direita em cortes foliares de <i>Dendranthema grandiflora</i>	102
FIGURA 33:	Teste histoquímico com reagente Sudam IV à esquerda...à direita teste para detecção de fluorocromos.....	103
FIGURA 34:	<i>Dendranthema grandiflora</i> afetada pela <i>Puccinia horiana</i>	104

LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	Datas de plantios selecionados para implantação dos experimentos.....	34
TABELA 2:	Variedades de <i>D. grandiflora</i> avaliadas no verão e outono.....	36
TABELA 3:	Variedades de <i>Dendranthema grandiflora</i> avaliadas no inverno e primavera.....	37
TABELA 4:	Escala descritiva referente à escala diagramática prática nos diferentes níveis de severidade apresentados para ferrugem branca do crisântemo.....	39
TABELA 5:	Área abaixo da curva de progresso da doença para ferrugem branca do crisântemo, por variedades em épocas diferentes de plantio (P1 a P7).....	44
TABELA 6:	Área abaixo da curva de progresso da doença para ferrugem branca do crisântemo, por variedades em épocas diferentes de plantio (P8 a P13).....	45
TABELA 7:	Recomendação de plantio para cada época do ano considerando o comportamento das variedades de crisântemo à ferrugem branca.....	56
TABELA 8:	Épocas em que foram desenvolvidos os experimentos de controle.....	67
TABELA 9:	Controle alternativo da ferrugem branca do crisântemo avaliado pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença em quatro cultivos e 23 variedades.....	70
TABELA 10:	Severidade da ferrugem branca representada pela AACPD nas variedades e tratamentos avaliados no terço médio (tm) e terço inferior(bx), no período P9.....	77
TABELA 11:	Severidade da ferrugem branca do crisântemo representada pela AACPD nas variedades e tratamentos do cultivo P13.....	80
TABELA 12:	Densidade de estômatos nas faces das folhas de variedades de crisântemo.....	96
TABELA 13:	Resultado dos testes de amido, pectina, lignina, celulose e lipídios nos tecidos de crisântemo em cada variedade estudada.	112
TABELA 14:	Resultado dos testes de alcalóides e compostos fenólicos nos tecidos de crisântemo em cada variedade estudada.....	113

RESUMO

ZOCCOLI, Débora Maria. Ferrugem branca do crisântemo: epidemiologia, controle e mecanismos de resistência. 2008. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, UnB, Brasília.

A cultura do crisântemo é desenvolvida no Brasil desde a consolidação da floricultura, há cerca de 50 anos, sendo uma das principais espécies exploradas para flor de corte no país. Diversos problemas fitossanitários afetam a espécie *Dendranthema grandiflora* Tzvelev., sendo a principal ameaça ao cultivo, a ferrugem branca do crisântemo, doença causada pelo fungo denominado *Puccinia horiana* P. Henn., patógeno com potencial para destruir completamente as cultivares suscetíveis. Existem fontes de resistência à ferrugem branca do crisântemo. Aquisição de informações epidemiológicas e classificação das fontes de resistência para a ferrugem branca, segundo as condições ambientais e de cultivo no Brasil, contribuem significativamente para o aumento da qualidade do produto final e redução dos custos no controle da doença. Para avaliação da ferrugem branca do crisântemo, e classificação das variedades, de acordo com os níveis de severidade, foi desenvolvida uma escala diagramática, considerando os percentuais de zero, 1, 5, 10, 20, 35, 50, 70 e 100% de área foliar afetada pela doença. Alternativas de controle foram testadas empregando óleos essenciais, composto bioativo líquido e extrato de planta. Para detectar os mecanismos de resistência relacionados a algumas variedades com diferentes níveis de severidade, foram utilizadas técnicas de anatomia e histoquímica foliar. As análises dos resultados das avaliações da ferrugem branca demonstraram que houve diferença estatística significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, entre as variedades cultivadas na mesma época e entre as épocas de plantio, em relação à *P. horiana*. A análise dos plantios de forma independente permitiu definir a melhor época para o cultivo de cada variedade, pelo nível de severidade apresentado através da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Foi possível estabelecer um calendário para plantio comercial com as variedades classificadas em níveis de resistência mantendo a diversidade necessária para produção. A escala diagramática prática permitiu uma avaliação adequada da doença. Os fatores ambientais influenciaram acentuadamente a expressão fenotípica da resistência das variedades de crisântemo, principalmente temperatura, umidade relativa do ar e molhamento foliar. Existem fontes de resistência para ferrugem branca entre as variedades comerciais da espécie *D. grandiflora*. Dentre os tratamentos testados para o controle da ferrugem branca do crisântemo, foi possível constatar que o composto bioativo líquido e o produto organomineral Planta Clean, constituíram uma alternativa recomendável para o controle da ferrugem branca. O composto bioativo líquido em algumas épocas do ano, como no final de abril (outono), proporcionou o melhor controle em 100% das variedades, entre os tratamentos testados. O fator que afeta o controle pelo composto bioativo líquido em qualquer época do ano, está relacionado

possivelmente ao estabelecimento e crescimento da microbiota benéfica e competitiva do bioativo no filoplano do hospedeiro, responsável pela redução da população do patógeno. É possível que em crisântemo o efeito do composto bioativo, seja na indução à resistência, devido ao aumento do crescimento e vigor das plantas que receberam o tratamento. Por conter quitina em sua composição, o composto bioativo também age diretamente no patógeno, por meio das enzimas que degradam a parede das células fúngicas. Estatisticamente o produto Planta Clean não diferiu do manejo químico, sendo este, igual ao composto bioativo, alternativas sustentáveis para o controle da ferrugem branca. Esses produtos causam menor impacto ao meio ambiente, quando comparado aos produtos químicos comumente utilizados, como Dithane, Folicur, Cabrio Top e Auto 100. O extrato aquoso de crisântemo e o óleo de eucalipto não foram eficientes no controle da doença. O óleo de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill. e *Corymbia citriodora* Hill & Johnson), não ofereceu controle satisfatório in vivo para ferrugem branca. Apesar de demonstrar em testes in vitro um controle efetivo sobre diversos patógenos, o óleo de *C. citriodora* causou fitotoxidez na cultura do crisântemo danificando irreversivelmente as folhas. Por meio de técnicas de anatomia e histoquímica vegetal detectou - se mecanismos de resistência relacionados às variedades de crisântemo, que apresentaram diferentes níveis de resistência. Nas variedades estudadas verificou - se que os recursos para defesa podem ser diferentes, e geralmente mais de um fator está envolvido na resistência. Mecanismos estruturais, espessura da cutícula, altura de estômatos e substâncias químicas como alcalóides e compostos fenólicos estão envolvidos na defesa vegetal desta espécie a *P. horiana*. As classes de compostos fenólicos presentes nos tecidos das variedades de crisântemo resistentes e suscetíveis, são diferentes. A reação de hipersensibilidade está ligada à defesa da variedade resistente. O presente trabalho permitiu gerar informações para o manejo adequado e sustentável do patossistema, *Dendranthema grandiflora* x *Puccinia horiana*. A utilização da escala diagramática prática permite realizar o monitoramento da doença, detectando o melhor período para intervenção química, com isto reduzindo o número de aplicações e o custo de produção. As técnicas de histoquímica podem servir de suporte para seleção de variedades resistentes à ferrugem branca.

Palavras-chave: *Dendranthema*, variedades de crisântemo, curva de progresso da doença, escala diagramática, controle alternativo, biocompatíveis, histoquímica, anatomia foliar.

ABSTRACT

ZOCCOLI, Débora Maria. White rust of chrysanthemum: epidemiology, control and resistance mechanisms. Brasília, Brazil, 2008. (PhD Thesis – Universidade de Brasília, UnB).

The chrysanthemum culture has been developed in Brazil since the consolidation of flower culture for over 50 years, being one of the main explored species for cut flower in the country. Several phytosanitary problems affect the specie *Dendranthema grandiflora* Tzvelev, the fungus which causes the white rust being the main threaten to the cultivation, *Puccinia horiana* P. Henn., pathogen with great potential to completely destroy the susceptible cultivars. There are resistance sources to white rust chrysanthemum. The obtention of epidemiology data and classification of resistance sources depending upon the environmental conditions and cultivation in Brazil, significantly contribute for the increase of final product quality as well as cost reduction for the disease control. For the chrysanthemum white rust valuation and variety classification according to severity levels, was developed a diagrammatic scale by considering the percentuals 0, 1, 5, 10, 20, 35, 50, 70, and 100% of foliar area affected by the disease. Control alternatives were tested employing essential oils, bioactive liquid and plant extract. In order to detect the resistance mechanisms related to some variety with different severity levels, anatomy techniques and foliar histochemistry were used. The analysis of the results of valuations of white rust showed significant statistical differences by Tukey test at 5% of probability between the cultivated varieties at the same season and the plantation seasons relative to *P. horiana*. The analysis of the plantation of independent form has allowed define the best season toward cultivation of each variety, through the severity shown through the Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC). It has been possible establish a calendar for plantation keeping the necessary diversity for the production. The practical diagrammatic scale has allowed a disease adequate valuation. The environmental factors have influenced sharply the phenotypic expression of the chrysanthemum variety resistance mostly temperature, air relative humidity and foliar moist. There exist resistance sources to white rust among the commercial varieties of *D. grandiflora* specie. Among the tested treatments for the chrysanthemum white rust control it was possible to notice that the bioactive liquid compound and the “Plant Clean” organomineral product, have constituted a viable alternative for the control of the white rust. The bioactive liquid compound in some season of the year as in the end of April (autumn) has allowed the best control in 100% of the varieties among the tested treatments. The factor which has proportioned the control by the bioactive liquid compound in any season of year was possibly related to the establishment and growing of benefic and competitive microbial in the host filoplan exponible for the reduction of pathogen population. It is possible that, in chrysanthemum, the effect of bioactive compound relies in the resistance induction due to the increase of growth and vigor of plants that received the treatment. Because of the existence of quitin in the composition of bioactive compound, it acts also directly in the pathogen through enzymes which degrades the fungi cell walls. Statistically, the “Plant Clean” did not differed from the chemical handling therefore being the bioactive compound a sustainable alternative to the white rust control. These products cause less impact to the environment as compared to the chemical products commonly employed such as Dithane, Folicur, Cabrio Top e Auto 100. The chrysanthemum liquid extract and the eucalypt oil were not efficient

to the control of disease. The eucalypt oil (*Eucalyptus globulus* Labill. e *Corymbia citriodora* Hill & Johnson), did not offer satisfactory control in vivo to the white rust. Despite of demonstrate an effective control in vitro tests over diverse pathogens, the *C. citriodora* oil caused fitotocicis in the crisantemo culture irreversibly damages to the leaves. By anatomy and vegetal histochemistry techniques it has been detected resistance mechanisms related to the chrysanthemum varieties showed different resistance levels. In the studied varieties one observed that the defense resources can be different and generally more that one factor is involved in they resistance. Structural mechanisms such as cuticule thickness stomata height, and chemical substances sucha as phenolics and alcaloids are involved in the vegetal defense of this specie the *Puccinia horiana*. The phenolics compounds classes which are present in the resistant and susceptible varieties of chrysanthemum tissues are different. The hypersensibility reaction is connected to the resistance variety defense. In close, the present work allowed to generate data for the adequate and sustainable handling of pathosystem *Dendranthema grandiflora* x *Puccinia horiana*. By making use of a practical diagrammatic scale it permit to monitoring of disease detecting the best period for the chemical intervention, thereby reducing the number of applications and production cost. Moreover, the histochemical techniques can serve of support toward the selection of resistant varieties to the white rust.

Keywords: *Dendranthema*, chrysanthemum varieties, diagrammatic scale, alternative control, histochemistry, biocompatible, foliar anatomy.

Introdução

O Reino Vegetal, com suas peculiaridades, é o suporte das necessidades do ser humano nas mais diversas áreas. Sua importância é imperativa na alimentação, indústria farmacêutica, cosmética, têxtil, energética, dentre outras. A saúde humana e animal dependem dos recursos vegetais, além do bem-estar e conforto associado ao ambiente em que estão inseridas.

Espécies vegetais exploradas pelo seu aspecto singular, exuberância, beleza, diversidade de cores, aroma, textura, forma, brilho, movimento, representam um setor competitivo e lucrativo do agronegócio, caracterizado pelas plantas ornamentais. Lorenzi & Souza (2001) distinguem as plantas ornamentais pela capacidade de adaptarem-se aos diferentes ambientes, enfeitar e estabelecer no mundo moderno o contato mínimo possível, do homem com a natureza.

O aproveitamento comercial das plantas ornamentais no Brasil tem suas raízes vinculadas ao segmento da fruticultura, e o aspecto empresarial da floricultura é registrado desde a década de 50, concentrada no Estado de São Paulo, particularmente nas regiões do entorno dos municípios de Atibaia e Holambra (AKI e PEROSA, 2002). A profissionalização e consolidação do setor iniciaram na década de 70, devido à fundação, pelos imigrantes holandeses e seus descendentes, da Cooperativa Agropecuária de Holambra, em 1972 (JUNQUEIRA E PEETZ, 2008a).

Nos últimos anos houve uma expansão das áreas consideradas tradicionais no cultivo de flores e plantas ornamentais, para novas áreas que apresentam características favoráveis. O crescimento e consolidação de importantes pólos de flores observados nos últimos anos nos estados brasileiros de São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Goiás, Distrito Federal e Norte e do Nordeste do país, têm efetivado o potencial da floricultura. O crisântemo está entre as principais flores e plantas ornamentais comercializadas no Brasil (JUNQUEIRA & PEETZ, 2007).

A cultura do crisântemo é desenvolvida no Brasil desde a consolidação da floricultura, há cerca de 50 anos, sendo uma das principais espécies exploradas para flor de corte no país, cultivadas principalmente nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais (BARBOSA, 2003; PITTA et al. 1977; STRINGHETA et al. 2003).

O crisântemo é conhecido há mais de 2000 anos, sendo cultivado pela beleza e durabilidade de suas inflorescências. Originário da China, e foi introduzido no Japão no ano de 386, onde foi adaptado e é considerado símbolo nacional (GILLOW & GORTZIG, 1964). Pertence à Família **Asteraceae**, suas variedades exóticas e atraentes, são resultantes de pesquisas realizadas na Europa, Estados Unidos, Japão e China (PITTA et al. 1977).

Entre os problemas fitossanitários que afetam a cultura do crisântemo estão às murchas por *Verticillium*, *Fusarium* e *Rhizoctonia*, tendo o solo e os substratos como veiculadores; a doença bacteriana causada por *Erwinia chrysanthemi*; as viroses com sintomas variados de manchas, estrias nas folhas e deformação na flor; as doenças foliares como a mancha de Septoria (*Septoria obesa* e *S. chysanthenella*), oídio (*Erysiphe cichoracearum*), podridão de Botritis (*Botrytis cinerea*), podridão de Ascochita e a ferrugem branca causada por *Puccinia horiana* P. Henn., sendo esta última, a mais séria doença do crisântemo ocorrendo em plantas de corte e de vaso (BARBOSA, 2003).

Desde a sua primeira ocorrência em São Paulo, na região de Jundiaí, no ano de 1972, e posteriormente, em outros municípios produtores, a ferrugem é considerada a causadora dos maiores prejuízos à cultura (BARBOSA et al. 2006; COUTINHO, 2001; PITTA et al. 1977).

No Brasil, provavelmente, a introdução da *P. horiana* foi por meio da importação de material vegetal infectado (PITTA et al. 1977). Este é um patógeno

quarentenário em diversos países e tem potencial para destruir completamente as cultivares suscetíveis. Alaei et al. (2007) desenvolveram um método de detecção molecular da *P. horiana* como parte de um programa de investigação de um sistema de alerta doença, sendo esta uma proposta para evitar a introdução e disseminação do patógeno, por material vegetal com infecção latente.

O fungo *Puccinia horiana* P. Henn., causador da ferrugem branca, foi descrito primeiramente em 1901 por Hennings (WHIPPS, 1993), sendo parasita obrigatório, não apresenta hospedeiros alternativos. É uma ferrugem de ciclo muito curto, não produz espermogônio, eciosporos, nem urediniósporos (CUMMINS & HIRATSUKA, 2003; PITTA et al. 1977).

A disseminação do patógeno ocorre pelo vento, água de irrigação e estacas contaminadas (PITTA et al. 1977; OEPP/EPPO, 2004), e para germinação dos teliósporos requer umidade relativa superior a 96% e um filme de água livre na superfície da folha. As perdas em ataques severos podem ser de 100% das plantas.

Estudos epidemiológicos nas condições brasileiras são praticamente inexistentes (BARBOSA et al. 2006). Nos grandes centros produtores localizados especialmente em Holambra/SP, Paraná, Santa Catarina, são empregadas tecnologias no controle da doença por meio da aclimação, manejo ambiental das estufas e uso intensivo de fungicidas. Com base nas informações estabelecidas para as condições fora do país, os resultados podem ser satisfatórios, desconsiderando os riscos à saúde humana e ambiental, além dos investimentos econômicos serem acessíveis somente aos grandes empreendedores.

A opção que resta aos demais produtores é a utilização exaustiva de produtos químicos, com resultados insatisfatórios, sujeitos às sazonalidades. As variedades disponíveis são melhoradas visando em especial o aspecto ornamental sem, contudo, agregar informação sob o aspecto fitossanitário, deixando os produtores apoiados nas experiências pessoais adquiridas ao longo dos anos de cultivo da espécie.

Existem fontes de resistência à ferrugem branca do crisântemo, sendo necessários estudos para a classificação dessas fontes em níveis de resistência, nas condições brasileiras, agregando informações epidemiológicas a este patossistema. A melhoria da qualidade do setor, redução da dependência externa

e obtenção de resultados econômicos mais vantajosos poderão ser resultados desses esforços.

Dentro de uma proposta agroecológica para o controle de fitopatógenos, os objetivos deste trabalho foram:

1. Estudar a epidemiologia do sistema que envolve a espécie de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) e o patógeno *Puccinia horiana*, estabelecendo uma escala diagramática para avaliação da doença, com identificação dos níveis de resistência das principais variedades cultivadas.

2. Avaliar a severidade da doença em diferentes épocas do ano possibilitando determinar a época mais favorável de cultivo, por meio da curva de progresso da doença em cada período por variedade considerada.

3. Estabelecer um planejamento de plantio determinando a época mais adequada para cultivo das variedades segundo os níveis de resistência apresentados em relação à ferrugem branca, atendendo a diversidade necessária para comercialização e os períodos de maior demanda.

4. Testar alternativas de manejo e controle sustentável, através de óleos essenciais, composto bioativo e extratos de plantas.

5. Detectar mecanismos de resistência relacionados a algumas variedades com diferentes níveis de severidade por meio da anatomia e histoquímica foliar.

Justificativa

As principais razões para o presente estudo foram:

Ampliar o conhecimento sobre os aspectos epidemiológicos da ferrugem branca no Brasil, atendendo essa necessidade para a expansão do setor.

Considerando o apelo de uma produção agrícola sustentável aproveitando as técnicas alternativas para o controle de doenças, foi explorada com a aplicação de produtos biocompatíveis, óleos essenciais e extratos vegetais, no controle da ferrugem branca do crisântemo, visando um manejo da cultura minimizando a exposição dos trabalhadores aos riscos pelas aplicações de agrotóxicos e reduzindo os custos de produção.

Explorar a expressão da resistência das variedades nas estações do ano e elaborar um planejamento de plantio, conforme o desempenho das mesmas em diferentes épocas do ano, nas condições do Distrito Federal.

Estudar os mecanismos de resistência do crisântemo à ferrugem branca utilizando técnicas práticas e simplificadas da ciência da anatomia e histoquímica vegetal, oferecendo suporte à seleção de materiais no melhoramento de variedades, identificando a resistência em intervalos mais curtos, com eficácia.

Referencial Teórico

1. O mercado de flores

A importância das flores e plantas ornamentais traduz um panorama mundial, amplo e diversificado. Segundo Oliveira & Brainer (2007), são identificados pelo mercado internacional os seguintes produtos gerados pela floricultura: flores de corte, folhagens de corte, flores em vaso, folhagens em vaso, mudas de plantas herbáceas para canteiros e jardins, mudas de plantas arbóreas para jardinagem e paisagismo, gramado, plantas de forração e material de propagação (bulbos, sementes, estacas, rizomas etc).

O comércio mundial de flores e plantas ornamentais está concentrado na União Européia, Estados Unidos e Japão, sendo dominado pela Holanda que é o maior exportador e importador de produtos deste setor (BUAINAIN & BATALHA, 2007; OLIVEIRA & BRAINER, 2007). Na América Latina os principais exportadores são a Colômbia, o Equador e a Costa Rica, procurando consolidar seus produtos nos mercados europeu e norte-americanos (CANÇADO JR. et al. 2005).

A área mundial cultivada com flores e plantas ornamentais é estimada em 424 mil hectares, movimentando anualmente, valores em torno de 100 bilhões de dólares, considerando todos os seus segmentos (OLIVEIRA & BRAINER, 2007). Em termos globais, a atividade responde pela geração de mais de 120 mil empregos, dos quais 58 mil (48,3%) estão localizados na produção; 4 mil (3,3%) na distribuição; 51 mil (42,5%) no comércio varejistas e 7 mil (5,9%) em outras funções, principalmente nos segmentos de apoio (JUNQUEIRA & PEETZ, 2008b).

A representatividade brasileira sob estes valores é pouco significativa, em termos globais, estando à produção ainda em expansão no país. De acordo com Junqueira & Peetz (2005); Ibraflor (2008) são mais de 4 mil produtores no Brasil, cultivando uma área de cerca de 5,2 mil hectares anualmente, em 304 municípios e 12 pólos de produção, sendo estes dados reforçados por Buainain & Batalha (2007).

Segundo IBGE (2004), as exportações brasileiras de 2000 para 2002 cresceram em torno de 26,0%. Nos anos de 2003 e 2004, as variações na exportação foram de 30,0% e 20,9%, respectivamente. Segundo Buainain &

Batalha (2007), de 2004 para 2005 o aumento foi em quase 30%, passando de cerca de 23 milhões de dólares para 31 milhões. As vendas revelaram um aumento de 9,58% em 2005 sobre o volume apurado no ano anterior (TANIO & SIMÕES, 2005).

Em 2007, o Brasil alcançou novo recorde nas exportações de flores e plantas ornamentais, fechando em US\$ 35,28 milhões, superando em 9,18% a marca do ano anterior (JUNQUEIRA & PEETZ, 2008b).

Os aspectos sócio-econômicos estimados por Kiyuna et al. (2005) indicam que cerca de 7.600 produtores em 1.500 municípios brasileiros dedicam-se à floricultura em tempo integral ou parcial. Nos últimos anos houve também um ganho em qualidade, competitividade, ramificação nos estados e consolidação como importante atividade econômica em todo País (BUAINAIN & BATALHA, 2007; CANÇADO JR. et al. 2005). Os avanços foram expressivos, devido aos incentivos governamentais no âmbito federal e estadual visando à profissionalização, melhoria da qualidade dos produtos e estímulo às exportações, cogitando uma contribuição mais destacada nos próximos anos. Segundo Junqueira & Peetz (2005), o rendimento da atividade gira em torno de R\$ 50 mil a R\$ 100 mil por hectare, gerando, na média nacional, 3,8 empregos diretos/ha, que vêm a equivaler a 14,2 empregos numa propriedade dedicada à floricultura.

Entretanto, o nível de participação da floricultura nacional no mercado internacional mantém-se aquém de suas possibilidades, com uma baixa representatividade brasileira nas exportações, que em 2002 foram de 1,5% em relação à Holanda, o maior produtor e exportador mundial (IBGE, 2004).

O ponto forte da floricultura brasileira no mercado internacional é a exportação de material de propagação de qualidade, para os países como Holanda e Estados Unidos, contribuindo com a redução do ciclo de produção de flores *in loco* (KIYUNA et al. 2008).

No Brasil, a floricultura ainda está fortemente concentrada no Estado de São Paulo, particularmente nas regiões dos municípios de Atibaia e Holambra, mas evidencia fortes tendências de descentralização produtiva e comercial por várias regiões de todo o País (JUNQUEIRA & PEETZ, 2005; KIYUNA et al. 2005; OLIVEIRA & BRAINER, 2007). Houve uma expansão das áreas consideradas tradicionais no cultivo de flores e plantas ornamentais, para novas regiões que

apresentam características favoráveis à produção irrigada, devido à baixa umidade relativa do ar e à constância de calor e insolação como Ceará e Pernambuco (IBGE, 2004). Regiões como Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Goiás, Distrito Federal e na maioria dos estados do Norte e do Nordeste, atualmente revelam notável crescimento, consolidando importantes pólos de flores (JUNQUEIRA & PEETZ, 2005; JUNQUEIRA E PEETZ, 2008b).

Destacando o Distrito Federal, em relação ao consumo, a cidade de Brasília desponta, atualmente, como o mercado mais promissor de flores e plantas ornamentais de todo o País, posicionada como a quarta cidade de maior índice de consumo *per capita* nacional após as cidades de Porto Alegre (RS), Joinville (SC) e Florianópolis (SC). Trata-se de uma região altamente favorável para produção continuada e sustentável, devido à regularidade da temperatura, ausência de geadas e alta luminosidade, sendo possível controlar fatores limitantes como a baixa fertilidade e elevada acidez dos solos e baixa umidade relativa do ar (JUNQUEIRA & PEETZ, 2005).

Em geral, o Brasil possui um grande mercado interno e consome praticamente tudo que produz. Embora cultive uma grande área, gera um pequeno fluxo de produtos para o mercado internacional (BUAINAIN & BATALHA, 2007; KIYUNA et al. 2005; TANIO & SIMÕES, 2005).

O setor de Flores e Plantas ornamentais tem se realçado no “*agrobusiness*” brasileiro principalmente no que tange à estrutura de mercado, à diversificação de espécies e variedades, à difusão de novas tecnologias de produção, à profissionalização dos agentes da cadeia, bem como na sua integração (TANIO & SIMÕES, 2005). Trata-se de um setor com grande absorção de mão-de-obra, portanto gerando muitos empregos. A cadeia de flores inclui: os produtores, leilões, atacadistas, importadores, exportadores e centros de comercialização, entre outros (ALEXANDRE & DUARTE, 2007).

No geral, para se alcançar a pretendida expansão do mercado de flores brasileiro, algumas exigências devem ser atendidas, além do padrão de qualidade, aspectos fitossanitários e regularidade na oferta, Buainain & Batalha (2007) ressaltam o rastreamento das práticas produtivas, a maior integração da produção e a certificação, como pré-requisitos importantes para viabilizar a entrada das flores brasileiras nos mercados europeu e norte-americano. E nos

aspectos que dependem de planejamento e domínio de execução das técnicas específicas para cada situação, enfatizando aqui a necessidade da profissionalização do setor. Este tema foi abordado por Anefalos & Guilhoto (2003); Tanio & Simões (2005). Acrescenta-se ainda entraves às ampliações para o mercado externo como sendo os problemas de ordem tributária, principalmente a falta de uma infra-estrutura logística adequada para escoamento da produção a nível competitivo e ainda a tímida estruturação da sua cadeia de suprimentos.

2. A cultura do crisântemo

O crisântemo está entre os principais produtos comercializados, ocupa lugar de destaque, sendo uma das plantas mais cultivadas para corte de flor no Brasil, juntamente com a roseira, além do seu cultivo em vaso (BARBOSA, 2003; TAVARES et al. 2005). Segundo Junqueira & Peetz (2007) capitalizou-se US\$ 2,52 mil pelas exportações no primeiro semestre de 2007. Representa o segundo grupo mais exigente em tecnologia de produção, após o grupo de flores cultivadas em vaso, com grande valor comercial, por ser uma das culturas ornamentais de grande aceitação no mercado (AKI & PEROSA, 2002).

Segundo Pastore (1994), a produção de crisântemo ocorre basicamente para o abastecimento do mercado interno, respondendo o Estado de São Paulo por, aproximadamente, 80% da produção. As exportações são destinadas à Argentina, como flor de corte, e para a Holanda, em forma de mudas. Destaca-se ainda pela importância sócio-econômica na geração de empregos diretos e indiretos e na demanda dos insumos (ALEXANDRE & DUARTE, 2007; BARBOSA, 2003; BARBOSA et al. 2005).

A espécie mais importante para horticultura está inserida no novo gênero *Dendranthema*, incluindo mais de 7000 cultivares de crisântemo para estufas e jardins, classificado originalmente em 1972 como *Dendranthema grandiflora* Tzvelev. (*D. morifolia* Ramat.) (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) (ANDERSON, 1987). O crisântemo está associado a diferentes culturas no mundo. Durante milênios de melhoramento, a partir de várias espécies, inúmeros genótipos têm sido criados permitindo o cultivo para flores de corte, vasos e jardins em todo mundo (ANDERSON, 2006).

A palavra crisântemo significa flor dourada, originária do grego “chrysos”, ouro e “antheon”, flor. O crisântemo, *Dendranthema x grandiflorum* (Ramat.)

Kitam. (sin. *D. grandiflora* Tzvelev., *D. morifolia* Ramat. e *Chrysanthemum morifolium* Ramat.), pertence à família *Asteraceae*, é um híbrido complexo, que se produzido por sementes segrega em formas diversas. Trata-se de um gênero muito heterogêneo (ANDERSON, 1987). A maioria das espécies, que compõe as linhagens das cultivares atuais são originárias da Ásia, em especial da China (GRUSZYNSKI, 2001), foi introduzida no Japão no ano de 386, onde foi adaptada e é considerada símbolo nacional (GILLOW & GORTZIN, 1964). Em 1789, expandiu-se para a Europa e daí distribuída para as demais regiões do globo (BRASIL, 1993).

Conhecida há mais de 2000 anos, cultivada pela beleza e durabilidade de suas inflorescências apresenta grande valor comercial por ser uma das culturas ornamentais de maior aceitação no mercado. A grande diversidade de cultivares, com inúmeras colorações, tipos de inflorescência e formatos atraentes que conquistam o consumidor, bem como diferentes portes de plantas e versatilidade de cultivo constituem o sucesso para seu cultivo e grande aceitação no mercado (BARBOSA, 2003; GRUSZYNSKI, 2001; TAVARES et al. 2005).

Pesquisas genéticas mostram que as principais espécies de *Dendranthema* são as cultivares de crisântemo. O gênero *Dendranthema* constitui cerca de 50 espécies, distribuídas principalmente na Ásia Oriental, com cerca de 20 espécies nativas do Japão. A espécie mostra folha única e a morfologia apresenta consideráveis variações intra e interespecíficas. Reação diferenciada ao comprimento do dia, temperatura mínima de floração no inverno, são algumas variações. O retrocruzamento de espécies de crisântemo deste gênero é possível, quando os genótipos são cuidadosamente escolhidos. A erosão genética de espécies selvagens é grave no Japão, e, portanto, sua investigação e conservação é uma questão urgente (FUKAI, 2003).

Segundo Lorenzi & Souza (2001) as plantas de *Dendranthema grandiflora* (Figura 1) pertencem a um grande grupo de herbáceas eretas, de 0,50-1,0 m de altura, obtido por hibridação e melhoramento com *D. indicum* (L.) Des Moul. *Chrysanthemum indicum* L.), ambas espécies da China e do Japão, constituindo o grupo *Chrysanthemum hortorum* Hort., com inúmeras variedades no colorido e forma das flores, originando diversas classes.

A natureza aloploplóide ($2n = 6x = 54$) de *Dendranthema grandiflora* favoreceu um progresso complicado devido à depressão por endogamia, carga

genética, e aneuploidia. Conseqüentemente, a maioria das cultivares é propagada vegetativamente, poucos genes foram caracterizados, e nenhum deles teve seu cromossomo mapeado. Cultura de ideotipos é a futura proposta para prosseguir esta importante transformação da cultura, durante o próximo milênio (ANDERSON, 2006).



Figura 1. Diversidade de variedades de crisântemo cultivadas em Brazlândia, DF, no ano de 2006 na propriedade do Sr. Akaoka, dentre elas, White Reagan, Shena Amarela, Jô Spitoven.

O crisântemo é cultivado para corte, geralmente em casa de vegetação com sistemas de controle de luz e temperatura para obtenção de plantas florescendo o ano todo e a multiplicação mais usual ocorre por intermédio de estacas (LORENZI & SOUZA, 2001).

O ciclo de produção varia em função da época do ano e da variedade. A produtividade média do inverno é maior que a do verão, obtendo-se flores de melhor qualidade, principalmente em função de temperaturas mais amenas. O sistema de cultivo não é o único, nem homogêneo, mas se altera conforme a variedade plantada, a época do ano, as condições climáticas e incidência de pragas e doenças. Adaptam-se a diferentes condições climáticas devido à diversidade genética (BARBOSA, 2003). As múltiplas variedades facilitam a programação da produção, possibilitam o cultivo durante o ano todo em diversas regiões.

Segundo Cathey (1954), as cultivares são divididas em três grupos: as que florescem eficientemente a 15,5° C, ocorrendo pouca inibição entre 10° e 27 °C sendo chamadas de termozero, podendo ser cultivadas o ano todo; quando o

florescimento é inibido sob temperaturas abaixo de 15,5° C são chamadas termopositivas, que podem ser cultivadas o ano todo sob controle de temperatura; as que o florescimento é inibido sob condições de temperatura acima de 15,5° C, necessitam de temperaturas noturnas controladas, evitando o cultivo de verão, são denominados termonegativas. Para estas, baixas temperaturas podem atrasar, mas não inibir a iniciação floral, incluindo neste grupo cultivares tardias, de ciclo longo (13 a 15 semanas) (BARBOSA, 2003).

Por ser uma cultura altamente influenciada pelo fotoperíodo para indução floral, é necessário controlar o número de horas de luz fornecidas durante as 24 horas. O crisântemo é considerado uma planta de dia curto, isso significa que as plantas expostas a um comprimento do dia menor que um valor crítico são induzidas a florescer. Nas condições de cultivo do Brasil, o fotoperíodo de 13 horas de luz é considerado crítico, ou seja, quando são fornecidas mais de 13 horas de luz as plantas permanecem vegetando, e podem resultar na produção de hastes muito finas, inflorescências pequenas e menor qualidade do produto (ARBOS, 1992; BARBOSA, 2003; BARBOSA et al. 2005; SALINGER, 1991).

Para favorecer o desenvolvimento das hastes, as plantas devem permanecer sob condições de dia longo até atingirem um tamanho adequado. Geralmente no período inicial são fornecidos de 4 a 6 semanas de dias longos, a fim de promover o crescimento vegetativo e a formação de nós e folhas. Deve-se considerar que os valores de 4 a 6 semanas podem variar de acordo com a época do ano e o cultivar (BELLÉ, 1998). Segundo Gruszynski (2001), o tempo de reação da cultivar é de grande importância para a comercialização, pois representa o período, em semanas, necessário entre o início da indução ao florescimento até o início da abertura das flores. O período de duração entre o início da indução floral e o início do florescimento possibilita agrupar as cultivares em precoces, médias e tardias. As precoces florescem em um período de 7 a 9 semanas, as médias florescem entre dez e doze semanas e as tardias florescem entre treze e quinze semanas (BELLÉ, 1998).

O manejo adequado das cultivares, atendendo às exigências de fotoperíodo, temperatura, necessidades nutricionais, e a população de plantas, em conjunto com um programa de controle fitossanitário adequado é decisivo para alcançar a qualidade da produção. O Instituto Brasileiro de Floricultura (IBRAFLOR, 2000) oficializou as normas de qualidade para comercialização

visando atender os aspectos fitossanitários, características da folhagem, ponto de abertura das flores, apresentação dos produtos, comprimento e características das hastes e qualidade da água pós-colheita.

O crisântemo é suscetível a várias doenças, que podem afetar as folhas, hastes, raízes e inflorescências, constituindo-se no maior problema para a cultura (BARBOSA, 2003). Dentre os patógenos da cultura destacam-se: *Fusarium oxysporum* e *Verticillium albo-atrum* causadores de murcha; *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* e *Pythium rostratum*, causadores do tombamento e podridão de raiz; *Erwinia chrysanthemi*, causadora de podridão mole ou podridão bacteriana do talo; *Pseudomonas marginalis*, causadora de lesões dos bordos das folhas; *Agrobacterium tumefaciens*, causadora da galha da coroa; *Erysiphe cichoracearum* e *Oidium chrysanthemi*, causadores de oídio; *Botrytis cinerea*, causador do mofo-cinzento; *Ascochyta* spp. e *Septoria chrysanthemi* causadores de manchas foliares; *Puccinia chrysanthemi*, causador da ferrugem-parda; *Puccinia horiana*, causador da ferrugem branca; *Sclerotinia sclerotiorum*, causador de podridão branca; *Aphelenchoides ritzemabosi*, nematóide causador de mancha foliar; *Meloidogyne incognita* causador de galha na raiz; além de diversas viroses (AGROFIT, 2008; BARBOSA, 2003; FREITAS-ASTÚA et al. 2005). A importação de novas espécies e variedades gerando um fluxo de produtos de outros países faz com que aumente o risco de introdução de patógenos e pragas exóticas (ALEXANDRE & DUARTE, 2007).

A produção de crisântemo no Brasil, bem como de diversas outras flores de clima temperado, é dependente da tecnologia gerada no Japão, Holanda e EUA. Boa parte dessa dependência tecnológica advém da ausência de pesquisas no Brasil. Essa absorção repercute na capacidade competitiva dos produtos brasileiros, onera a produção e impede o sucesso no mercado interno e externo. Fatores como volume de oferta e qualidade também estão ligados às dificuldades de autonomia e influência brasileira neste mercado.

3. Aspectos gerais da ferrugem branca do crisântemo

Dentre os principais grupos de patógenos responsáveis por perdas em plantas estão às ferrugens, uma destrutiva doença, responsável pela ruína econômica e fome de grandes áreas e cidades (AGRIOS, 2005). Os fungos causadores de ferrugens são parasitas obrigatórios, muitos com tal nível de

especialização que chegam a atacar somente certas espécies ou variedades de plantas (AGRIOS, 2005). O ciclo de vida pode variar entre as formas heteroécia ou autoécia parasitando a maioria dos grupos de plantas vasculares (CUMMINS & HIRATSUKA, 2003).

As ferrugens representam potencialmente um risco à floricultura, devido à dificuldade de detectar adequadamente o patógeno em materiais assintomáticos (WISE et al. 2004). Havendo introdução, a característica de dispersão do patógeno, o potencial de multiplicação resulta em danos de proporções incalculáveis.

Especificamente a família *Pucciniaceae* (Uredinales), inclui 16 gêneros, sendo apenas três, *Gymnosporangium*, *Puccinia* e *Uromyces* com mais de 10 espécies descritas. Os gêneros *Puccinia* Pers. ex Pers. e *Uromyces* (Link) Unger são os que abrangem o maior número de espécies, tendo como hospedeiros plantas de quase todas as ordens de angiospermas (VAN DER MERWE et al. 2007).

O gênero *Puccinia* é o maior da Ordem Uredinales com cerca de 3000 a 4000 espécies (HAWKSWORTH et al. 1995; CUMMINS & HIRATSUKA, 2003). A espécie tipo é *Puccinia graminis* Pers. ex Pers. (Cummins & Hiratsuka, 1983), pertence à família Pucciniaceae, classificado na ordem Uredinales, classe Urediniomycetes, filo Basidiomycota, e está relacionado à patógenos de grande importância em todo o mundo (CUMMINS & HIRATSUKA, 2003; KIRK et al. 2001).

Puccinia horiana é o agente causal da doença denominada ferrugem branca do crisântemo (Figura 2), uma importante doença para indústria de flores de corte, circunstancialmente distribuída pelo comércio internacional (HENNEN et al. 2005). A doença foi considerada pelo Programa Oficial de Controle do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, como endêmica em partes da Europa e da América do Sul e outras zonas do mundo, mas, até agora, não está estabelecida nos Estados Unidos, sendo classificada como quarentenária neste país e na Austrália, com ação regulatória em âmbito federal e estadual (BISHOP & TROLINGER, 1998; WISE et al. 2004; CABI/EPPO, 2007; YODER, 2008). A ferrugem branca do crisântemo é uma das mais importantes doenças foliares da cultura, sendo um patógeno quarentenário em muitos países, com potencial para destruir completamente cultivares suscetíveis (ALEI et al. 2007).

Devido ao potencial de dano da ferrugem branca, o crisântemo é submetido à inspeção na importação de flores para os EUA, ficando sob quarentena por seis meses após a introdução no país. Medidas de proibição da importação de partes vegetais proveniente de países afetados pela doença, destruição dos focos, são procedimentos adotados nos EUA para exclusão deste patógeno (YODER, 2008). Na Europa recomenda-se matrizes regularmente inspecionadas para plantio e o material deverá ser proveniente de um local considerado livre do patógeno por até 3 meses antecedentes à introdução (CABI/EPPO, 2007).

A posição legal e o impacto do patógeno na produção comercial para exclusão e erradicação motivaram estudos de análises filogenéticas da região ITS do DNA ribossomal, para definir diferenças entre as espécies de *Puccinia* que afetam o crisântemo. Alaei et al. (2009a) identificaram que *P. horiana* e *P. chrysanthemi* pertencem a grupos distintos, sendo a *P. horiana* localizada no grupo entre as espécies de ferrugens economicamente importantes, e *P. chrysanthemi* agrupada no clado onde a maioria dos hospedeiros estão entre as *Asteraceae*. Estudos de identificação da *P. horiana* em plantas assintomáticas foram realizados pela técnica de PCR em tempo real, baseado na determinação de regiões específicas e sensíveis dos espaçadores internos transcritos (ITS1 e ITS2) do DNA nuclear e ribossomal (rDNA). O patógeno no tecido vegetal foi determinado em vários momentos após a inoculação dos basidiósporos, inclusive com detecção imediatamente após a inoculação (ALAEI et al. 2009b). Esta técnica poderá reduzir o período de quarentena, favorecendo a comercialização.

Uma proposta de detecção molecular da *P. horiana* foi descrita em Alaei et al. (2007) como parte de um programa de investigação para desenvolver um sistema de alerta da doença, visando evitar a introdução e disseminação do patógeno por material vegetal com infecção latente.

A *Puccinia horiana* é um exemplo de patógeno causador de prejuízos pela introdução inadvertida no Brasil (COUTINHO, 2001; VEIGA, 2007) e encontra-se em diversos estados onde há cultivos de crisântemo. É praga quarentenária A2 em países da África, América Latina, Japão (CABI/EPPO, 2007) e E.U.A (YODER, 2008). Após o estabelecimento da ferrugem branca do crisântemo em uma área torna-se extremamente difícil e dispendiosa sua erradicação. A

intensidade do uso de fungicidas para obter sucesso na exclusão torna a prática insustentável.

Até 1963, o fungo limitava-se à China e ao Japão, no entanto, foi disseminada rapidamente por estacas infectadas importadas, e se espalhou para outros países do leste asiático e Europa, causando perdas importantes à cultura (CABI/EPPO, 2007). Recentemente, na Turquia, um surto da ferrugem branca causou perda de 80% em crisântemo, distribuídas em diferentes estufas (GÖRE, 2008).

Uma vez estabelecido o patógeno, a sua erradicação torna-se extremamente difícil e dispendiosa. O patógeno encontra-se atualmente difundido em diversas regiões da Europa, África do Sul, América do Sul (Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Uruguai, Venezuela), América Central (México), Ásia (Japão, China, Taiwan, Tailândia, Rússia) tendo sido erradicada dos estados da Califórnia, Nova Jersey e Pensilvânia nos E.U.A. e Austrália (OEPP/EPPO, 2004). Segundo Hennen et al., (2005), a introdução no Brasil ocorreu provavelmente pela Argentina, sendo esta uma das primeiras doenças de planta ornamental cientificamente documentada, no Brasil, com a primeira observação feita na região de Jundiaí, SP, em 1972 (COUTINHO, 2001).

Alguns estados Norte Americanos, após surtos na Califórnia em 1991 e em Nova Jersey, Oregon, Washington, Nova York e Nova Jersey de 1995 a 1997, foram considerados livre do patógeno. É um patógeno que se espalha rapidamente, de difícil detecção em plantas infectadas na ausência de sintomas e o resultado são perdas severas (SMITH et al. 1992; WISE et al. 2004; YODER, 2008).

Ataques severos da *P. horiana* levam à coalescência de pústulas, à distorção nas folhas, que murcham, secam totalmente e caem (COUTINHO, 2001; FREITAS-ASTÚA et al. 2005), podendo causar perda total das plantas (SMITH et al. 1992; RODRIGUEZ-NAVARRO et al. 1996).

O fungo foi descrito primeiramente em 1901 por Hennings como *Puccinia horiana* P. Henn. (WHIPPS, 1993), pertencente ao Filo Basidiomycota, Ordem Uredinales, Família *Pucciniaceae* (CABI/EPPO, 2007). Trata-se de uma ferrugem microcíclica, autoécia (WHIPPS, 1993; OEPP/EPPO, 2004), não produz espermogônio, eciosporos e nem urediniósporos (CUMMINS & HIRATSUKA, 2003; HENNEN et al. 2005; PITTA et al. 1977), considerada uma forma “lepto”, na

qual os teliósporos bicelulares germinam *in situ* e sem dormência, logo que estejam maduros (COUTINHO, 2001; MARTIN & FIRMAN, 1970; PITTA et al. 1977), produz de 2-4 basidiósporos unicelulares (PITTA et al. 1977).

A morfologia dos teliósporos formados por *Puccinia horiana* são descritos como sendo hipófilos, raramente epífilos, compactos, rosa a branco, 2-4 mm de diâmetro, bicelulares sobre pedicelos medindo até 45µm de comprimento; amarelo-pálidos, oblongos a oblongo-clavados, ligeiramente constringidos, 30-45 x 13-17µm, com paredes delgadas, medindo 1-2µm de espessura dos lados e mais espessas comumente 4-9µm, no ápice (Figura 2C). Os basidiósporos são unicelulares hialinos, com uma pequena curva, amplamente elipsóides a fusiformes, medindo 7-14 x 5-9µm (FREIRE et al. 2002; CABI/EPPO, 2007). Nenhum outro esporo é conhecido (SANTOS & MENDES, 2008).

Os sintomas típicos da doença são manchas amarelas na parte superior e pústulas brancas sobre a superfície abaxial da folha (Figura 2), daí o nome ferrugem branca (OEPP/EPPO, 2004). Inicialmente surgem pequenas pontuações amareladas, levemente deprimidas (côncavas), medindo até 5 mm de diâmetro na superfície adaxial da folha (DICKENS, 1970; WHIPPS, 1993; CABI/EPPO, 2007). Correspondente a estas pontuações, são observadas pústulas de diâmetro bastante variável, salientes de coloração amarela, aspecto seroso, que se tornam esbranquiçadas ou róseas quando os basidiósporos são produzidos. Os teliósporos em soros são formados principalmente na face abaxial da folha (COUTINHO, 2001; CABI/EPPO, 2007; DICKENS, 1970; FREIRE et al. 2002; OEPP/EPPO, 2004; FREITAS-ASTÚA et al. 2005; PITTA et al. 1977; WHIPPS, 1993). Segundo OEPP/EPPO (2004), as pústulas velhas eventualmente podem ser colonizadas por organismos saprofíticos. Várias pústulas podem coalescer e tomar áreas extensas, ocasionando a seca total da folha. Em casos graves pode ocorrer infecções nos pecíolos, caules e flores (COUTINHO, 2001; OEPP/EPPO, 2004; CABI/EPPO, 2007).

Os basidiósporos são os únicos esporos infectivos produzidos por essa espécie (COUTINHO, 2001; FREIRE et al. 2002), cuja germinação é favorecida com temperaturas noturnas entre 17-24 °C, ocorrendo dentro de 2 h; somente 5 h de molhamento foliar são suficientes para nova infecção se estabelecer. Umidade relativa do ar inferior a 90% favorece a dessecação dos basidiósporos (CABI/EPPO, 2007).

A penetração do fungo, segundo Whipps (1993), é por meio de um curto tubo germinativo, diretamente pela cutícula e epiderme, após a germinação do esporo infectivo. Trabalhos realizados por Gerardo et al. (2001) indicam que o patógeno também penetra pelos estômatos. Esses autores relataram que, após seis dias da inoculação de teliósporos em folhas de crisântemo, foi observado o tubo germinativo avançando no sentido dos estômatos localizados na epiderme abaxial. Após 10 dias da inoculação foi detectado micélio intercelular e intracelularmente no mesofilo, formando até mesmo agregados perto dos estômatos, produzindo pústulas até o décimo quarto dia.

De modo geral, a germinação dos teliósporos ocorre em uma faixa ampla de temperatura, entre 4 e 32° C, especialmente entre 18-21° C, sendo fundamental a presença de água livre superior a 96%, segundo Rodriguez-Navarro et al. 1996. O pH para germinação deve ser de 4 a 6,5, com ótimo em 6,0 e a luz não influencia na germinação (LI et al. 2006).

A produção dos basidiósporos pelos teliósporos pode ocorrer, entre 4 e 23°C, com um ótimo de 17°C (SMITH et al. 1992). Havendo condições ideais, a liberação de basidiósporos começa dentro de 3 horas e o máximo de germinação ocorre entre 2-5 horas sob temperatura de 30° C (MARTIN & FIRMAN, 1970). Basidiósporos provenientes da germinação dos teliósporos podem germinar, penetrar no hospedeiro e causar infecção numa ampla faixa de temperatura, entre 4-21°C, com intervalo ótimo de 17-24°C, dentro de 2 horas. Sob umidade relativa inferior a 90%, os basidiósporos são muito sensíveis a dessecação (ZANDVOOT et al. 1968; MARTIN & FIRMAN, 1970; WHIPPS, 1993; FREIRE et al. 2002; FREITAS-ÁSTUA et al. 2005).

Após a infecção, dentro da folha são produzidas abundantes hifas hialinas intracelulares e intercelulares, com haustórios intracelulares. O período de incubação é normalmente de 7-10 dias, mas, segundo Zandvoot et al. (1968), curtos períodos de altas temperaturas (acima de 30 °C), aparentemente podem prolongar o período para 8 semanas (YAMADA, 1955; MARTIN & FIRMAN, 1970).

A disseminação da doença ocorre facilmente por meio da dispersão dos basidiósporos por ação do vento e correntes de ar; da água de chuva ou de irrigação por aspersão, sendo o meio mais eficiente; movimentação de pessoas dentro da área; além do plantio de mudas infectadas, incluindo flores cortadas,

disseminando inclusive a longas distâncias (estados e continentes) (ASTÚA et al. 2005; COUTINHO, 2001; FREIRE et al. 2002; FREITAS- SANTOS & MENDES, 2008).

Há relatos de que a dispersão pelo vento pode ocorrer nas distâncias de 700 metros ou mais, mas, como os basidiósporos são muito sensíveis à dessecação em menos de 90% de umidade relativa, a propagação a longa distância só seria provável durante períodos muito úmido. Segundo CABI/EPPO (2007), a disseminação a longas distâncias é improvável, sendo limitada até mesmo entre estufas (ou então nunca teria sido possível conter a doença). A capacidade do fungo para sobreviver durante o inverno é incerta. Em condições experimentais, os teliósporos em soros de folhas destacadas sobreviveram durante 8 semanas a 50% de umidade relativa. A sobrevivência nos restos de cultura infectados quando submetidos a maior umidade ou enterrado no composto seco ou úmido, foi durante 3 semanas ou menos, por isso, os restos de cultura infectados não seriam importantes na reincidência da doença (WATER, 1981).

Segundo Zandvoot et al. (1968) a *P. horiana* pode sobreviver em plantas armazenadas. Segundo Martin & Firman (1970), folhas tornam-se menos suscetíveis com a idade, mas com 5 meses ainda podem ser infectadas. Testando a sobrevivência dos teliósporos em soros de folhas destacadas verificou que o tempo máximo foi de 8 semanas, sendo consideravelmente menor sob condições de umidade ou enterrados no solo.

Aspectos morfológicos da *P. horiana* (Figura 2 a, b e c) são tédio esbranquiçados, muito compactos, teliósporos com paredes finas e incolor (HENNEN et al. 2005), bicelulares sobre pedicelos medindo até 45µm de comprimento, amarelo-pálidos, oblongos a oblongo-clavados, ligeiramente constringidos, 30-45 x 13-17µm, com paredes delgadas, medindo 1-2µm de espessura dos lados e comumente mais espessas (4-9 µm) no ápice. Os basidiósporos são unicelulares hialinos, com uma pequena curva, amplamente elipsóides a fusiformes, medindo 7-14 x 5-9µm (FREIRE et al. 2002; OEPP/EPPO, 2004; CABI/EPPO, 2007).

Outras espécies de *Puccinia* podem infectar crisântemo. *Puccinia horiana* é facilmente distinguida de outras espécies, pelo aspecto ceroso e liso das pústulas, teliósporos hialinos que sempre germinam *in situ* sobre a folha viva. Todas as

outras espécies apresentam teliosporos de coloração marrom, são verrugosos e não germinam *in situ* (OEPP/EPPO, 2004).

A ferrugem branca do crisântemo é considerada quarentenária em diversos países, com potencial para destruir completamente cultivares suscetíveis (DICKENS, 1971) e a comercialização é altamente prejudicada pela sua incidência, pois plantas infectadas não podem ser legalmente vendidas no mercado internacional (HENNEN et al. 2005).

O principal hospedeiro de *Puccinia horiana* é a espécie vegetal *Dendranthema grandiflora* Tzvelev (= *D. grandiflorum* syn. *Chrysanthemum morifolium*), mas podem ser afetadas diversas espécies de *Chrysanthemum* cultivadas e por infecções naturais (PUNITHALINGAM, 1968; WHIPPS, 1993), além de outras espécies inoculadas (*Arctanthemum arcticum*, *Dendranthema pacificum*, *Dendranthema yoshinaganthum* e *Nipponanthemum nipponicum*) que foram suscetíveis (HIRATSUKA, 1957). O fungo pode infectar várias espécies de *Chrysanthemum* incluindo *C. arcticum*, *C. boreale*, *C. indicum*, *C. japonense*, *C. makinoi*, *C. morifolium* (atual *Dendranthema x grandiflorum*) e *C. pacificum* dentre outras (WHIPPS, 1993). Outros hospedeiros são os Nippon margarida (*Nipponanthemum nipponicum* = *C. nipponicum*), Alto margarida e *C. pacificum* = *Ajania pacifica*. Segundo McDonald (2001), espécies que parecem ser resistentes são o crisântemo anual (*C. carinatum*), coroa (*C. coronarium*), *Pyrethrum* (*Tanacetum coccineum* = *C. coccineum*), margarida (*Argyranthemum frutescens*), margarida olho de boi (*Leucanthemum vulgare*), Margarida shasta (*Leucanthemum X superbum* = *C. máxima*) e marigold (*C. segetum*). Outros relatos sobre variedades resistentes à ferrugem branca podem ser verificados em Dickens (1971); Martin & Firman (1970); Norman et al. (1996) e Sandoval et al. (1997). Segundo Sandoval et al. (1997), a diversidade genética representada pela ampla quantidade de variedades, formas, cores e porte de crisântemo, faz com que a resposta frente ao patógeno seja diferente.

Estudos sobre a variação patogênica e molecular de isolados de *P. horiana* provenientes de regiões distintas permitiram identificar três grandes grupos, por origem geográfica, que corresponde exatamente ao agrupamento dos isolados com base em sua virulência. Isto sugere que as condições geográficas, o manejo para o cultivo e variedades de crisântemo, de cada região, influenciam a variabilidade do fungo (VELASCO et al. 2007).

Segundo Dickens (1970), cultivares comerciais de crisântemo (*Chrysanthemum sinense* Sabine) consideradas resistentes à ferrugem branca, em experimentos realizados no sudoeste da Inglaterra, em 1966/67, foram consideradas suscetíveis à doença em outras cidades da Europa (DICKENS, 1968). Outro exemplo ocorreu com a cultivar cv. Mayford e sua variante dourada, que antes considerada resistente, foi afetada pela ferrugem branca em novembro de 1969. Existem variantes do fungo com diferentes hospedeiros (DICKENS, 1971).

É importante ressaltar que o aspecto de resistência das variedades está intimamente relacionado às condições ambientes. Estudos realizados por Johnson & Newton (1937), verificaram que a elevação da temperatura acima do ótimo para o desenvolvimento de ferrugens, em geral, causa variação no tipo de reação observada. Testes feitos com *Puccinia glumarum* revelaram que plantas suscetíveis sob condições normais passaram a demonstrar reação de hipersensibilidade e variedades suscetíveis nas mesmas condições comportaram-se como resistentes em épocas de plantio distintas, em virtude da elevada sensibilidade do fungo às altas temperaturas.

Algumas cultivares de crisântemo são mais sensíveis à *P. horiana* do que outras e há indícios de que há mais de um patótipo do fungo (WATER, 1981). Na Alemanha, Krebs (1985) identificou a presença das raças 83 e 84 de *P. horiana* que diferem na capacidade de infectar cultivares específicas ou grupos de cultivares. Outro aspecto considerado por Rodríguez-Navarro et al. (1996) é a existência de alta correlação positiva entre a quantidade de esporos, o nível de incidência e severidade da doença, além da umidade relativa, temperatura mínima e a precipitação com a severidade da ferrugem branca. Tais características referem-se à doença policíclica, característica da ferrugem branca do crisântemo.



Figura 2. Sintomas da doença e sinais da ferrugem branca em *Dendranthema grandiflora*. A- Pústulas na face adaxial da folha; B- Pústulas na face abaxial da folha. C- Pústula isolada, mostrando teliósporos vistos ao microscópio óptico. D- Pústula em microscópio estereoscópico parasitadas por *Cladosporium* sp.. E e F- Severidade da *Puccinia horiana*. G- Níveis de severidade da ferrugem branca em folhas de crisântemo.

Uma proposta para identificar a diferença de suscetibilidade à ferrugem branca entre variedades de crisântemo de forma simples e econômica foi colocada por Takatsu et al. (2000) com a avaliação de plântulas crescendo *in vitro*, considerando que apresenta uma boa correlação com as avaliações realizadas em casa-de-vegetação. A inoculação *in vitro* foi testada por Vences-Contreras & Vázquez-García (2008), com resultados positivos, reafirmando o potencial da técnica para seleção de genótipos.

Uma técnica promissora para obtenção de plantas resistentes é a fusão de protoplastos entre espécies incompatíveis, testada por Furuta et al. (2004) entre crisântemo [*x Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura] e absinto (*Artemisia sieversiana* JF Ehrh. Ex. Willd), que obtiveram híbridos somáticos mais resistentes à ferrugem do que a planta mãe de crisântemo.

São pouco disponíveis métodos de detecção precoce da doença, prolongando a quarentena nos países adeptos, ou favorecendo a disseminação nos casos omissos. Alaei et al. (2009b) definiu um protocolo para a detecção de *P. horiana* em tecido vegetal assintomático. A técnica mostrou-se precisa e sensível, sendo possível aplicá-la não só no diagnóstico, mas também no acompanhamento do patógeno e sistema de previsão de doença.

4. Controle da ferrugem branca

O conceito de controle data de 1968, definido como a “redução na incidência ou severidade da doença” (National Research Council) sendo necessário o conhecimento adequado de sua etiologia, das condições climáticas e culturais que as favorecem e das características do ciclo das relações patógeno-hospedeiro, além da eficiência dos métodos de controle disponíveis (KIMATI & BERGAMIM FILHO, 1995).

Segundo Muller (2005), “o Manejo Integrado de Doenças proporciona o mais eficaz e coerente controle de doenças em culturas de ornamentais ao longo do tempo.” O conceito de manejo integrado de doenças definido, a partir da década de 70, como sendo a utilização de todas as técnicas disponíveis para manter a população de patógenos abaixo do limiar de dano econômico e minimizar os efeitos deletérios ao meio ambiente, preconiza epidemias de doenças controladas, maior estabilidade da produção, qualidade dos produtos agrícolas, menor agressão ao meio ambiente e conservação de áreas

agricultáveis. As estratégias de controle que podem ser utilizadas incluem o controle biológico, cultural, físico, químico, legislação fitossanitária, resistência genética e pré-imunização. Cada estratégia tem suas peculiaridades e pode ser utilizada isoladamente ou em combinação, sendo necessário para esta escolha, identificar o agente causal, conhecer suas características e as condições ambientais que favorecem seu desenvolvimento (NECHET, 2008).

Para a ferrugem branca do crisântemo, uma proposta é a exploração das fontes genéticas existentes. Dickens et al. (1968) confirmou a existência de trinta e sete cultivares de crisântemos resistentes, que permaneceram não infectadas, sob condições experimentais favoráveis à infecção das cultivares suscetíveis. Vinte e seis outras espécies de crisântemo, bem como alguns dos seus cultivares, também foram testados e destes apenas certo número de híbridos de *C. indicum* e *C. koreanum* e também, em menor medida, *C. nipponicum* e *C. uliginosum* foram infectados. Portanto, as características de resistência das cultivares devem ser exploradas conjuntamente à seleção ornamental, visando apoiar o controle, sem uso de fungicidas, já que existem recursos disponíveis devido à ampla variabilidade do hospedeiro. Rademaker & Jong (1987) relataram a existência de cultivares resistentes e possíveis matrizes para a serem utilizadas em melhoramento.

Nos grandes centros produtores brasileiros, localizados especialmente em Holambra/SP, Paraná e Santa Catarina, são empregadas tecnologias no controle da ferrugem branca do crisântemo por meio da aclimatação, manejo ambiental das estufas e uso intensivo de fungicidas. É importante ressaltar que o uso intensivo de fungicidas pode apresentar resultados imediatos satisfatórios, mas tais procedimentos desconsideram os riscos à saúde humana e ambiental. Em conjunto, as técnicas exigem altos investimentos, inviabilizando a medida para uma ampla parcela do setor produtivo de flores no Brasil. Segundo Wojdyla (2004), diferentes ingredientes ativos e possíveis combinações para o controle da ferrugem branca, podem apresentar efeito curativo de mais de 95% de pústulas tratadas.

Martin & Firman (1970) utilizaram os fungicidas mancozeb ou zinebe em doses baixas, isso resultou no controle da infecção, impedindo a penetração em vez de inibir a germinação dos basidiósporos. Exemplos de controle da ferrugem branca através do uso de fungicidas podem ser encontrados em Wojdyla (2007),

por meio do tratamento de plantas de crisântemo com estrobilurina, que reduz cerca de duas vezes o número de pústulas, em relação ao controle, não interferindo no diâmetro das mesmas. Em Wojdyla (2004) são citados diferentes ingredientes ativos e possíveis combinações para o controle da ferrugem branca, com efeito curativo de mais de 95% de pústulas tratadas. Houve efeito prejudicial no crescimento das plantas quando tratadas com uma mistura de tebuconazole + tiadimefon, além de forte fitotoxidez em cultivares tratadas com tridemorph+epoxiconazole.

Apesar das informações sobre a possibilidade de controle por meio do uso de fungicidas, o que se observa é uma grande dificuldade para obter sucesso em condições de produção. O aumento da resistência do patógeno aos fungicidas é também uma ameaça ao controle fitossanitário. Dirkse et al. (1982) identificaram na Inglaterra estirpes de *Puccinia horiana* tolerante, a triazol ou para ambos triazol e estrobilurina. Em alguns lugares da Europa também foi observada tolerância à carboxamida fungicidas (DIRKSE et al. 1982). No Japão foram detectados isolados de *P. horiana* tolerantes à oxycarboxin, sendo necessária uma concentração de 5 a 10 vezes maior para inibir a germinação dos teliósporos e 10 a 20 vezes maior para inibir a formação dos basidiósporos (ABIKO et al. 1977).

Detectar o momento adequado para a intervenção química diante de um patógeno que apresenta um período de incubação variável, dependente das condições ambientais e assintomático por período de incubação relativamente longo, torna-se muito complexo. A realidade prática é de constante risco ao ambiente e ao homem pelo uso abusivo dos fungicidas, com o agravante da escassez de produtos registrados e específicos e do estigma de ser um produto não comestível, portanto “sem oferecer maiores prejuízos à saúde pública”.

Há propostas alternativas, conforme Wojdyla (2004), que constatou o efeito de um produto à base de quitosana, considerado um eliciador em potencial de defesa vegetal e também um ativo inibidor do desenvolvimento de fungos, denominado Biochikol 020 PC, que apresentou efeito de 54-97% no controle da *Puccinia horiana*. Observações ao microscópio indicam que a quitosana tem um efeito direto sobre a morfologia do microrganismo. Outros estudos sugerem que a quitosana induz a uma série de reações de defesa correlacionada com atividades enzimáticas, demonstradas pelo aumento da produção de compostos fenólicos e síntese de fitoalexinas específicos com atividade antifúngica, além de induzir

obstáculos estruturais como a síntese de lignina (BAUTISTA-BAÑOS et al. 2006). Segundo Orozco-Cardenas & Ryan (2001), a quitosana juntamente com outras substâncias, induzem o acúmulo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que são formas reativas de oxigênio ligadas a resposta de defesa vegetal em folhas de tomate.

Outra proposta de controle é por meio do uso de bicarbonato de potássio, bicarbonato de sódio, carbonato de cálcio e de sulfato de cobre que reduziram a severidade da ferrugem branca do crisântemo em até 69%, em comparação com o controle (RODRIGUES-NAVARRO et al. 1996). O controle biológico foi obtido com *Verticillium lecanii*, que reduziu em 56% a severidade da ferrugem branca (*P. horiana*) nas cultivares testadas (RODRIGUEZ-NAVARRO et al. 1996; WHIPPS, 1998).

Segundo Melo & Faull (2000) a combinação de agentes de biocontrole com outros métodos pode conduzir a um controle melhorado, comparado ao uso de uma única modalidade de controle.

Os fatores ambientais influenciam acentuadamente a expressão fenotípica da resistência das variedades de crisântemo. Assim, faz-se necessário obter informações epidemiológicas e classificar as fontes de resistência para a ferrugem branca, segundo as condições ambientais e de cultivo no Brasil, para redução dos custos no controle da doença e preservação da qualidade do produto final.

Estudo epidemiológico da ferrugem branca do
crisântemo

INTRODUÇÃO

Essencialmente a epidemiologia estuda o progresso de uma doença que se desenvolve no tempo e no espaço. A epidemia é formada por uma série de processos biológicos que são os ciclos de infecção, denominado individualmente por processo monocíclico. A ocorrência de uma seqüência de processos monocíclicos constitui um evento policíclico, resultando assim em uma epidemia (AZEVEDO, 1997).

Para o patossistema *Dendranthema grandiflora* X *Puccinia horiana*, o desenvolvimento da doença consiste de vários ciclos de infecção durante o ciclo da cultura. Rodríguez-Navarro et al. (1996) afirmam que a ferrugem branca apresenta características como a existência de alta correlação positiva entre a quantidade de esporos e o nível de incidência e severidade da doença; a umidade relativa, a temperatura mínima e a precipitação com a severidade da ferrugem branca, sendo estas de doença policíclica.

A ferrugem do crisântemo é microcíclica e a infecção ocorre pela germinação dos basidiósporos provenientes da germinação dos teliósporos. Os basidiósporos são os únicos esporos infectivos produzidos por essa espécie (COUTINHO, 2001), tais esporos podem germinar com temperatura noturna entre 17-24 °C, dentro de 2 h. Somente 5 h de molhamento foliar são suficientes para nova infecção se estabelecer, mas os esporos são muito sensíveis a dessecação com umidade relativa do ar (UR) inferior a 90% (CABI, 2007).

A *P. horiana* apresenta alta variação do período de incubação, desde 7-12 dias, até semanas dependendo da temperatura (MARTIN & FIRMAN, 1970; YAMADA, 1955; ZANDVOOT et al. 1968). Normalmente os teliósporos germinam *in situ*, produzindo basidiósporos que podem reinfestar o hospedeiro ou ser disseminado para outras plantas. Em condições favoráveis de umidade, temperatura, variedade suscetível e local de desenvolvimento na planta, o surgimento dos primeiros sintomas ocorre em seis dias (YAMADA, 1955; ZANDVOORT et al. 1968; PITTA et al. 1977; WHIPPS, 1993).

A disseminação do patógeno ocorre pelo vento, água de irrigação e estacas contaminadas (PITTA et al. 1977), e para germinação dos teliósporos requer umidade relativa superior a 96% e um filme de água livre na superfície da folha. As perdas em ataques severos podem ser de 100% das plantas (BARBOSA

et al. 2006; RODRIGUEZ-NAVARRO et al. 1996). Estudos epidemiológicos nas condições brasileiras são praticamente inexistentes (BARBOSA et al. 2006).

Conhecer o potencial de um patógeno causar dano a uma espécie vegetal requer estudo do seu comportamento ao longo do tempo, determinando a curva de progresso da doença que vem a ser a proporção de doença no tempo ou ciclo da cultura (BERGAMIM FILHO & AMORIM, 1996; AZEVEDO, 1997). É fundamental escolher adequadamente a estratégia de avaliação, considerar o estágio de desenvolvimento da cultura e o órgão da planta amostrado. Quantificar doença exige uma metodologia universal de avaliação, devendo ser reprodutível em qualquer local e situação, para que possa revelar o comportamento da doença no hospedeiro ao longo do tempo.

Segundo Amorim (1995) o parâmetro severidade é o mais apropriado para quantificar doenças foliares como ferrugens, oídios, míldios e manchas. As escalas diagramáticas, atualmente, são a principal ferramenta de avaliação da severidade para muitas doenças, sendo uma metodologia usual as representações ilustradas de uma série de plantas ou partes dela com sintomas em diferentes níveis de severidade (BERGAMIM FILHO & AMORIM, 1996).

A principal escala diagramática descrita na literatura foi proposta por Cobb em 1892 (Horsfall & Cowling, 1978), para avaliação da ferrugem do trigo. Para a requeima da batata a chave proposta pelo sub-comitê de avaliação de doença da Sociedade Britânica de Micologia, proporciona resultados uniformes e comparáveis entre diferentes observadores (AMORIM, 1995).

Em Azevedo (1997) estão descritas diversas escalas, destacando às aplicadas para as ferrugens da folha em cereais, ferrugem do colmo em cereais, ferrugem do feijoeiro, ferrugem do cafeeiro e ferrugem do alho. Foi publicada recentemente uma escala diagramática para avaliação da severidade da ferrugem branca do crisântemo considerando os níveis de 1%, 3%, 6%, 10%, 18% e 30% de área foliar lesionada (BARBOSA et al. 2006).

A necessidade de estudos epidemiológicos da ferrugem branca do crisântemo no Brasil é evidente, pois apesar das severas perdas ocasionadas é inexistente a exploração desse tema no país (BARBOSA et al. 2006). Conhecer a dinâmica dessa doença poderá possibilitar o estabelecimento de medidas preventivas, que venham minimizar o uso de fungicidas ou evitar o

desenvolvimento do patógeno e o estabelecimento das relações patógeno-hospedeiro, por meio das condições favoráveis.

Visando ampliar os conhecimentos sobre a epidemiologia da ferrugem branca, no Brasil, essa pesquisa propôs elaborar uma metodologia prática de avaliação da doença; determinar os níveis de resistência das variedades de crisântemo em relação à ferrugem branca, em diferentes épocas do ano; estudar a relação dos níveis de severidade da doença com as condições ambientais; estabelecer um planejamento de plantio priorizando as variedades que apresentaram maior resistência à doença no período, visando com isto, oferecer um sistema de exploração comercial do crisântemo mais sustentável mantendo a diversidade exigida para exploração comercial e minimizando os impactos ambientais pelo uso acentuado de fungicidas.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Descrição da área experimental

A área experimental localiza-se na propriedade do Sr. Takao Akaoka (*in memoriam*, 2007 - Sr. Junji Akaoka), município de Brazlândia, DF, Incra 06, inserido na atividade desde 1987.

A área está estimada é de 4 ha, com o cultivo de espécies ornamentais sendo: 30% ocupada com a cultura do crisântemo e os outros 70% entre solidago, gipsofila, girassol, trigo ornamental, mamona ornamental, helicônias e gérberas.

A produção de crisântemo atende ao mercado do Distrito Federal, comercializada em maços de 20 hastes cada. Pela confiança adquirida dos clientes, não encontra dificuldades de comercialização. Uma das limitações é a tradição da espécie, que pelo simbolismo, está vinculada a determinadas épocas do ano. Semanalmente são plantados 17 mil pés com diversos genótipos selecionados conforme a exigência do mercado.

A produtividade da área está em 250 maços por semana, e as perdas por diversos fatores são em torno de 4 plantas/m².

A irrigação é feita por aspersão, em intervalos diários de 15-25 minutos conforme a temperatura e umidade do ar. Os canteiros de 1,5m X 20m, recebem mudas transplantadas semanalmente, provenientes do enraizamento das estacas em viveiro. O preparo do solo é realizado a uma profundidade de 20 cm, com distribuição superficial de 200g/m² de Bokashi (composto orgânico preparado conforme recomendações técnicas, descrito em Tomita, 2001) e posterior plantio das mudas de 30 dias provenientes do viveiro.

A severidade da ferrugem branca foi agravando ao longo dos anos e em 2005 a situação observada foi de intensa desfolha das plantas e depreciação da qualidade do produto (Figura 2).

Os trabalhos foram desenvolvidos no período de março de 2006 a março de 2007, sob o sistema de manejo executado na área de produção (descrição no item 1), com total apoio do produtor.

1. Elaboração da escala diagramática prática para avaliação da ferrugem branca em crisântemo

Diante da inexistência de critérios descritos para avaliação da ferrugem branca na ocasião do início dos estudos, a metodologia instituída para avaliação da doença, foi à elaboração de uma escala diagramática.

As folhas da espécie estudada apresentam diferentes aspectos morfológicos relacionados às variedades (Figura 3), esse aspecto dificulta a utilização de programas computacionais para estabelecer uma escala, o que poderia tornar a metodologia impraticável.

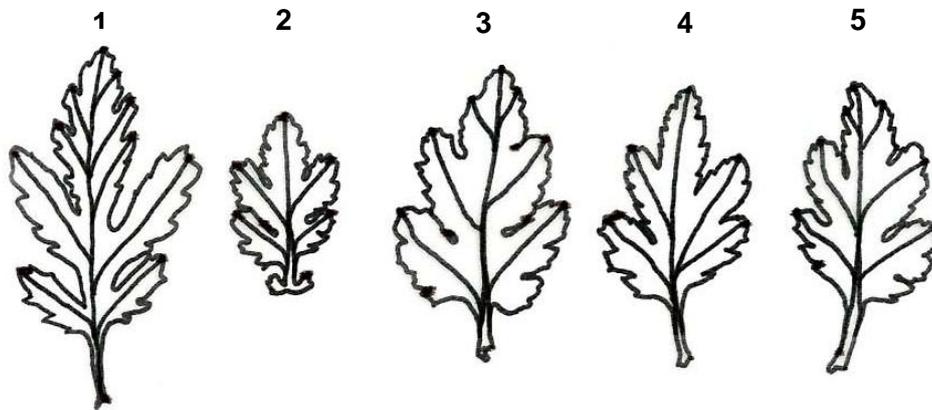


Figura 3. Morfologia das folhas de crisântemo. 1. Jô Spitovem (S); 2. Mini Margarida Amarela (MMA); 3. Capello (C); 4. Rose Reagan (RR); 5. White Reagan (WR). Ilustração: por Débora Maria Zoccoli.

Foi elaborada uma escala diagramática com base na área que as pústulas ocupam quando visualmente agrupadas. Se considerarmos que as pústulas agrupadas ocupam metade da folha, um quarto, um oitavo e assim sucessivamente, corresponderá a 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, de área foliar doente, independente da morfologia da folha (Figura 4).

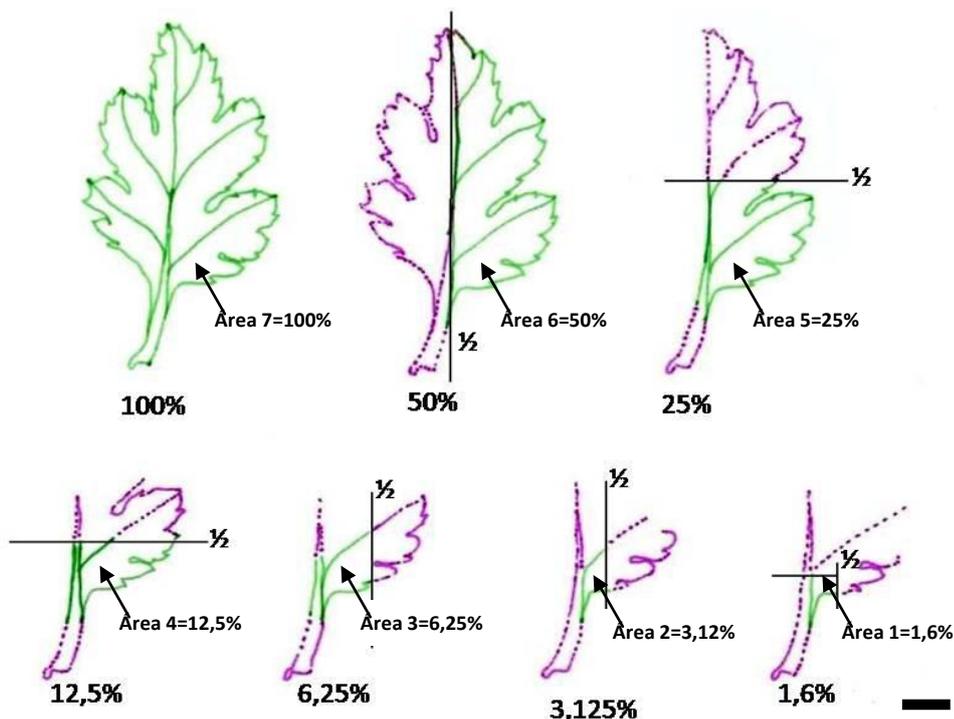


Figura 4. Esquema representativo da subdivisão da folha e os respectivos percentuais. (Ilustração: Débora Maria Zoccoli. Barra de 5 mm correspondendo a 1 cm da folha).

2. Avaliação de genótipos de crisântemo, quanto à severidade da ferrugem branca

Para cada época de plantio foram avaliadas em média 15 variedades diferentes, que poderiam ou não estar presentes no plantio subsequente. Em geral priorizou-se a frequência dos principais grupos de crisântemos mais solicitados no mercado, incluindo as margaridas grandes, mini decorativas e mini margaridas (Tabelas 2 e 3). As épocas (Tabela 1) foram estabelecidas conforme as estações do ano consideradas para o Hemisfério Sul, sendo:

- Primavera – 22 e 23 de setembro
- Verão – 22 e 23 de dezembro
- Outono – 20 e 21 de março
- Inverno – 22 e 23 de junho

Para as avaliações ficou estabelecida a altura mediana da planta, subdividindo-a em terço inferior, mediano e superior, acompanhando o desenvolvimento fenológico.

Para todas as avaliações foi considerada como testemunha a variedade Capello, classificada como padrão, por não apresentar sintoma da doença.

O plantio definitivo das mudas foi feito em canteiros, após 30 dias no viveiro, num espaçamento de 15 X 15 cm resultando numa população de 64 plantas por m². O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 32 plantas cada e quatro repetições, totalizando 128 plantas por tratamento, sendo que cada tratamento foi correspondente a uma determinada variedade.

Tabela 1. Datas de plantios selecionadas para implantação dos experimentos.

Plantio	Data	Época	Objetivo
P1-260106	26 e 29 de janeiro de 2006	VERÃO	Comportamento de genótipos
P2-100206	10 e 12 de fevereiro de 2006	VERÃO	Comportamento de genótipos
P3-220206	22 e 26 de fevereiro de 2006	VERÃO	Comportamento de genótipos
P4-040306	04 de março de 2006	VERÃO	Comportamento de genótipos
P5-270406	27 de abril de 2006	OUTONO	Comportamento de genótipos e controle
P6-110506	11 de maio de 2006	OUTONO	Comportamento de genótipos e controle
P7-180506	18 de maio de 2006	OUTONO	Comportamento de genótipos e controle
P8-080606	08 de junho de 2006	INVERNO	Comportamento de genótipos e controle
P9-290606	29 de junho de 2006	INVERNO	Comportamento de genótipos e controle
P10-070906	07 de setembro de 2006	PRIMAVERA	Comportamento de genótipos
P11-231106	23 de novembro de 2006	PRIMAVERA	Comportamento de genótipos
P12-211206	21 de dezembro de 2006	VERÃO	Comportamento de genótipos

O progresso da doença foi acompanhado ao longo do ciclo, variável de 75 a 90 dias, concomitante à fenologia da espécie, situando as avaliações no terço médio da planta conforme o estágio de desenvolvimento, em intervalos quinzenais, iniciadas aos 15 dias após o plantio (DAP), até o final do ciclo. A avaliação abrangeu os estádios vegetativos, formação do botão floral até o florescimento pleno.

A cada quinze dias foram selecionadas 10 plantas aleatoriamente por bloco, totalizando 40 observações por variedade, atribuindo às folhas os

percentuais de severidade, de acordo com a escala estabelecida. Conforme a duração do ciclo das variedades, (12 a 14 semanas), foram obtidas de 4 a 6 avaliações por plantio.

Os dados foram compilados gerando quatro médias finais por bloco, obtidas de 10 valores de severidade (em %) aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após o plantio (DAP), dependendo do ciclo, da variedade e época de plantio.

As diversas avaliações de severidade da doença ao longo do tempo permitiram estabelecer para cada variedade e por plantio a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), calculada pela seguinte fórmula:

$$AACPD = \Sigma [((y1 + y2)/2) * (t2-t1)]$$

Onde: y1 e y2 são os percentuais de área foliar afetada pela doença, nos tempos t2 e t1.

Cada ponto médio foi obtido pela soma de dois valores percentuais de severidade a partir do tempo zero (y1) e a avaliação subsequente (y2) dividido por dois, e assim sucessivamente às seguidas avaliações.

A análise estatística foi feita por meio da ANOVA e comparação de médias pelo teste de Tukey, utilizando o programa STATISTIC. Com os resultados foi possível classificar as variedades em níveis de resistência e assim gerar um planejamento com recomendação das melhores épocas de cultivo.

Foram solicitados ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), os dados climatológicos dos anos de 2005 a 2007 (ANEXO I), da cidade de Brasília/DF, estação meteorológica mais próxima do local de instalação do experimento, com informações que serviram como suporte para as discussões dos resultados.

Nas Tabelas 2 e 3 estão relacionadas as variedades analisadas e as épocas de plantio correspondentes.

Tabela 2. Variedades de *Dendranthema grandiflora* avaliadas no verão e outono.

ÉPOCAS DO ANO							
VERÃO				OUTONO			
P1-260106	P2-100206	P3-220206	P12-211206	P4-040306	P5-270406	P6-110506	P7-180506
V2	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V2
V5	V2	V2	V2	V2	V2	V2	V3
V7	V3	V3	V4	V3	V3	V3	V4
V9	V5	V5	V5	V5	V4	V4	V7
V10	V7	V7	V7	V9	V5	V5	V9
V14	V9	V9	V9	V10	V9	V9	V10
V15	V10	V10	V10	V14	V10	V10	V14
V17	V14	V14	V15	V15	V14	V14	V15
V18	V15	V15	V21	V21	V15	V15	V21
V19	V21	V17	V25	V25	V17	V21	V23
V21	V25	V21	V27	V27	V21	V26	V27
V25	V26	V23	V28	V28	V17	V27	V28
V27	V27	V25	V29	V29	V27	V28	V31
V28	V28	V27	V38	V41	V28	V31	V34
	V33	V33			V31	V45	
					V33	V46	
					V45		
					V46		

* **VARIEDADES:** V1 Statesman; V2 Shena Branca; V3 Mini Margarida Amarela; V4; V5; V7 Rose Reagan; V9 Capello; V10 Yellow Reagan; V14; V15; V21 White Reagan; V25 Reagan; V26 Yoko Ono; V27 Spitoven Amarela; V28 Spitoven Lilás; V29; V30; V31 Lemon Reagan; V33 Orange Reagan; V34 Bronze Reagan; V38 Jane; V39 Orange Repin; V43 Bronze Repin; V45; V46.

Identificação segundo as especificações da empresa RICAFLOR.

Tabela 3. Variedades de *Dendranthema grandiflora* avaliadas no inverno e primavera.

ÉPOCAS DO ANO			
INVERNO		PRIMAVERA	
P8-080606	P9-290606	P10-070906	P11-231106
V1	V1	V1	V1
V2	V2	V2	V2
V3	V3	V4	V3
V4	V5	V5	V5
V5	V9	V7	V7
V7	V10	V9	V9
V9	V14	V10	V10
V10	V15	V14	V15
V14	V21	V15	V21
V15	V25	V21	V26
V21	V26	V25	V27
V25	V27	V27	V28
V26	V28	V28	V31
V27	V31	V31	V32
V28	V34	V37	V42
V31	V37	V39	
V37	V39	V40	
		V44	
		V29	

* **VARIEDADES:** V1 Statesman; V2 Shena Branca; V3 Mini Margarida Amarela; V4; V5; V7 Rose Reagan; V9 Capello; V10 Yellow Reagan; V14; V15; V21 White Reagan; V25 Reagan; V26 Yoko Ono; V27 Spitoven Amarela; V28 Spitoven Lilás; V29; V30; V31 Lemon Reagan; V33 Orange Reagan; V34 Bronze Reagan; V38 Jane; V39 Orange Repin; V45; V46.

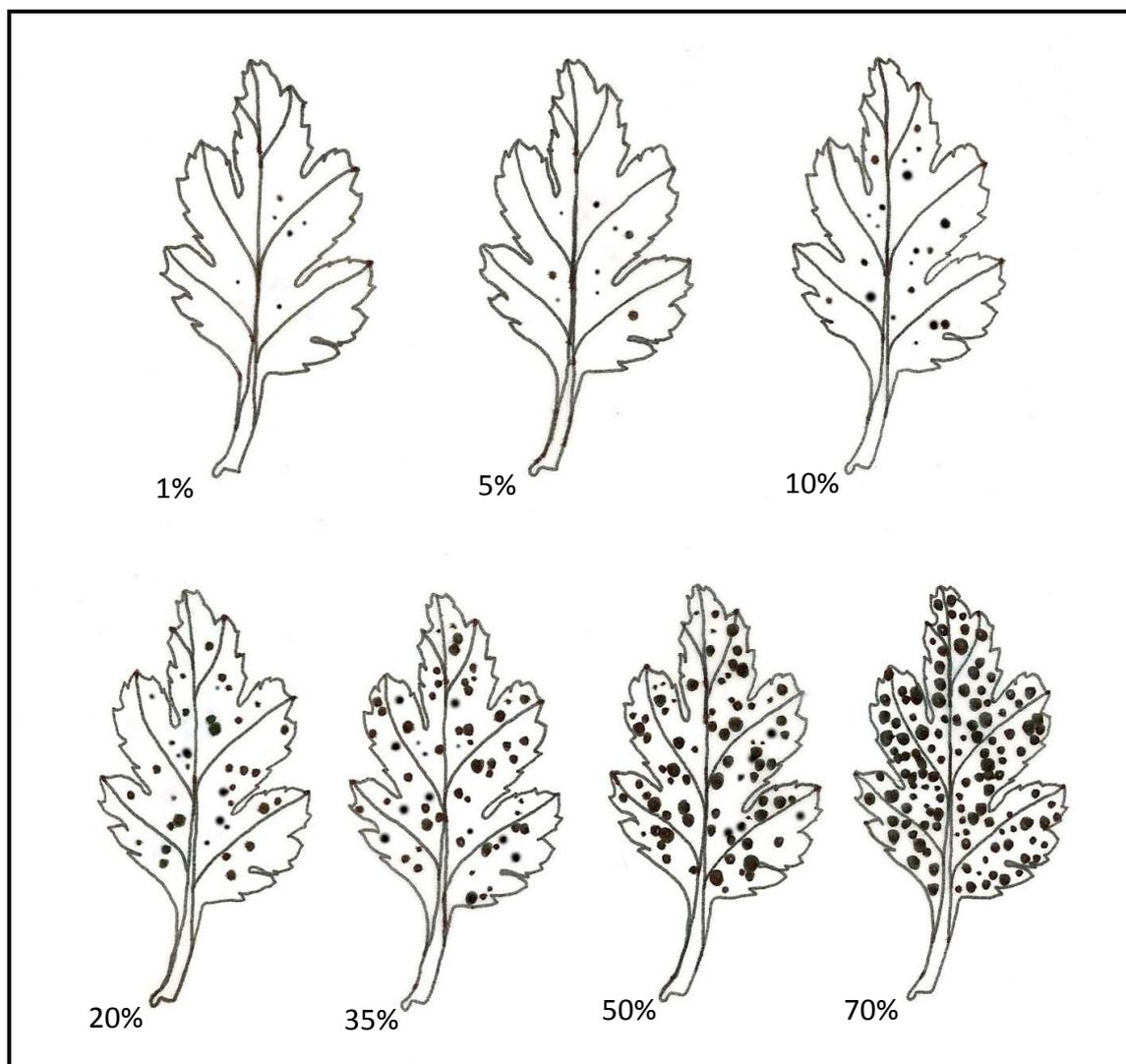
Identificação segundo as especificações da empresa RICAFLOR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Escala diagramática prática para avaliação da ferrugem branca do crisântemo.

A escala diagramática ilustrada para os estudos epidemiológicos e avaliação da severidade da ferrugem branca do crisântemo ficou estabelecida com os percentuais de 0%; 1%; 5%; 10%; 20%; 35%; 50%; 70% e 100% de severidade (Figuras 5).

Figura 5. Escala diagramática ilustrada para avaliação da severidade da ferrugem branca do crisântemo causada por *Puccinia horiana*, indicando os percentuais de severidade 1, 5, 10, 20, 35, 50 e 70% (por Débora Maria Zoccoli).



Os percentuais atribuídos na escala diagramática ilustrada prática também ficaram definidos em uma escala descritiva, para ser utilizada em avaliações, bem como auxiliar na compreensão e treinamento prévio da escala diagramática ilustrada (Tabela 4):

Tabela 4: Escala descritiva referente à escala diagramática prática nos diferentes níveis de severidade apresentados para ferrugem branca do crisântemo.

PERCENTUAL (%)	DESCRIÇÃO
0	FOLHA SEM SINTOMA
1	PÚSTULAS OCUPANDO VISUALMENTE 1/12 DA FOLHA (ÁREA* 1), <u>NUNCA</u> DENSAMENTE.
5	PÚSTULAS OCUPANDO VISUALMENTE MAIS DE 1/10 DA FOLHA (ÁREA 2) DENSAMENTE, EXPANDINDO ATÉ 1/8 DA FOLHA (ÁREA 3) <u>NUNCA</u> DENSAMENTE.
10	PÚSTULAS OCUPANDO <u>QUASE</u> 1/6 DA FOLHA, AGRUPADAS NA ÁREA 4 <u>QUASE</u> DENSAMENTE.
20	PÚSTULAS OCUPANDO QUASE ¼ DA FOLHA (ÁREA 5), <u>NUNCA</u> DENSAMENTE AGREGADAS.
35	PÚSTULAS OCUPANDO UMA ÁREA <u>SUPERIOR</u> A ¼ DA FOLHA (ÁREA 5) E <u>INFERIOR</u> A ½ DA FOLHA (ÁREA 6).
50	PÚSTULAS DENSAMENTE AGREGADAS EM ½ DA FOLHA (ÁREA 6).
70	PÚSTULAS OCUPANDO VISUALMENTE MAIS DA METADE DA FOLHA, INICIANDO NECROSE AO REDOR DAS PÚSTULAS.
100	SECA E QUEDA DE FOLHA.

* área: referente-se a representação esquemática do fracionamento da folha (Figura 4).

A severidade observada em cultivares suscetíveis combinada à época favorável para infecções, em regiões, como no Distrito Federal, chegou a percentuais superiores a 50%, com posterior seca e queda prematura de folhas pela doença. O manejo de solo estabelecido com uso de Bokashi favoreceu a retenção foliar, e a severidade da doença alcançou percentuais superiores a 70% de pústulas nas folhas, que mantiveram-se fixas às plantas. Tal situação inviabilizou a utilização da escalas como a de Barbosa et al. (2006), que apresenta percentual máximo de 33%, impossibilitando a padronização. A criação da escala diagramática prática para avaliação da ferrugem branca do crisântemo consolidada neste trabalho, poderá resolver a lacuna enfrentada para avaliação deste patossistema, permitindo comparar resultados obtidos de diversas regiões,

sob o mesmo prisma de avaliação. Há uma escala proposta por Norman et al. (1996), que considera os níveis de 0, 1, 2, 3, 4 e 5, correspondentes a área foliar afetada de 0%, 1-20%, 21-40%, 41-60%, 61-80%, 81-100%, respectivamente, de difícil aplicação, devido a ausência de um diagrama.

2. Comportamento das variedades de crisântemo em diferentes épocas do ano.

O comportamento entre as variedades, na mesma época de plantio e entre os plantios, apresentou diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Houve interação significativa entre plantio e variedade em todas as épocas avaliadas. O comportamento diferenciado da mesma variedade em diferentes plantios demonstrou que o ambiente influenciou acentuadamente na reação fenotípica da resistência. A análise dos plantios de forma independente permitiu definir a melhor época para o cultivo de cada variedade pelo nível de severidade considerando a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD).

A ferrugem branca ocorreu em todas as épocas do ano avaliadas, conforme relatado também por Pitta et al. (1977). A análise das médias gerais da AACPD comprovou que a época do ano mais favorável à ocorrência da doença na região, no ano de 2006 foi em meados do verão, pela média geral de 610,19 no plantio em P1-260106 e final do outono pela média geral de 606,69 do plantio P7-180506 (Figura 6).

As condições ambientais no período foram: temperaturas mínimas de 18,5°C, médias de 21,7° C, e máximas de 27,1° C em P1 e temperaturas mínimas de 14,4° C, médias de 20,5° C, e máximas de 26,0° C em P7. Houve 56 dias de chuva no ciclo da cultura em P1 e 25 dias em P8. A média da UR durante o período foi superior a 77% durante o plantio P1 e 53% em P8. Na área experimental a irrigação foi diária favorecendo o molhamento foliar suficiente para germinação e penetração dos basidiósporos, elevando a umidade relativa do ar, promovendo a disseminação, e assim acentuando o processo de infecção.

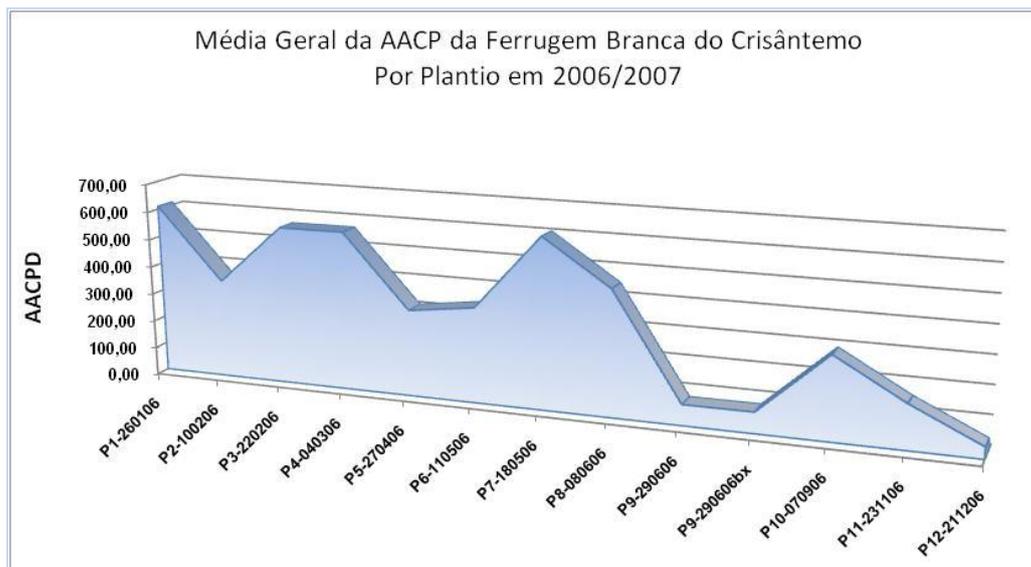


Figura 6. Médias gerais por plantio da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença ferrugem do crisântemo, das variedades cultivadas no período de 2006/2007, no Distrito Federal.

As menores severidades foram verificadas nos plantios P12 e P9, com médias gerais de AACPD de 41,20% e 73,71%, respectivamente. As temperaturas médias e UR nos ciclo de cada plantio foram: em P12, mínimas de 18,5°C, médias de 22° C e máximas de 27° C, com 55 dias de chuva e UR superior a 74%; em P9, mínimas de 15,9°C, médias de 21,1° C e máximas de 27,3° C, com 7 dias de chuva e UR superior a 50%.

A temperatura ótima para germinação dos basidiósporos é de 17° C (ZANDVOOT et al. 1968; SMITH et al. 1992), além das temperaturas não terem sido favoráveis a doença nos períodos P12 e P9, trata-se de uma época de baixa UR do ar local, favorecendo a dessecação dos basidiósporos que apresentam baixa viabilidade nessas condições (ZANDVOOT et al. 1968; MARTIN & FIRMAN, 1970), o que justifica os menores níveis de infecção nos períodos P12 e P9.

As condições ambientais para os períodos de verão P1 e P12 foram bem semelhantes. Segundo Smith et al. (1992), a temperatura ótima para germinação dos basidiósporos e de 17° C. A menor severidade da doença em P12 foi devido ao efeito das variedades no período em interação com as condições ambientais. A UR do ar inferior a 50% pode ter contribuído para dessecação dos basidiósporos reduzindo a taxa de infecção em P12, que chegou à mínima de 45% durante o período. O molhamento foliar é indispensável para germinação e

penetração dos esporos infectivos, assim como a melhor distribuição das chuvas ao longo do período em P1, que desde o início do plantio, manteve em geral a UR em percentuais superiores que em P12, favorecendo a infecção.

Segundo Vale & Zambolim (1996), para ocorrer uma epidemia de doença de planta é necessário ocorrência contínua de condições favoráveis. Os fatores atmosféricos influenciam as epidemias por intermédio dos seus efeitos nas várias fases do ciclo de vida dos patógenos, à medida que eles interagem com respostas específicas de plantas individuais. O plantio em P1 de V14, não cultivada em P12, que apresentou em geral os índices mais altos de severidade, também contribuiu com o aumento da média geral de severidade no período em que foi cultivada.

Pela freqüente ocorrência da doença na área, mantendo inóculo a cada ciclo da cultura, verifica-se através da Figura 6 que o comportamento da doença foi típico de epidemia com períodos de menores índices de severidade em P2, P12, P5 e P6, P9 e P11, intercalados pelo aumento da intensidade da doença nos períodos de P1, P3, P4, P7, P8 e P10. Este comportamento pode ser desencadeado por diversos fatores que refletem uma interação global do sistema entre o hospedeiro, o patógeno e o ambiente. Considerando que nos períodos epidêmicos as populações do patógeno alcançam níveis que suplantam a capacidade de suporte do sistema, há um equilíbrio natural que impede a continuidade da expansão e por diversos mecanismos promovendo a supressão, reduzindo esta população. Os picos da doença também são favorecidos principalmente pelas condições climáticas que afetam o comportamento do patógeno e do hospedeiro (Figura 6). Segundo Vale & Zambolim (1996), os patógenos que atacam a parte aérea das plantas são muito influenciados pelas alterações das variáveis meteorológicas e esses patógenos se reproduzem abundantemente com a ocorrência de condições favoráveis e disseminam-se rapidamente a partir de pequena fonte de inóculo, conforme observado na presente pesquisa.

Na Figura 6 entre o plantio P8 e P10 está P9 com avaliações efetuadas em duas regiões da planta, ou seja, no terço mediano e baixo demonstrando que a média geral no plantio foi semelhante independente do local de avaliação.

Variedades como V21 apresentaram altos níveis de severidade representados pela AACPD em ordem decrescente nos plantios P10>P1>P7>P6; em V25 as épocas de maior severidade foram P5>P9>P11>P1; em V7 foram P1>P9>P8>P11. Estas variedades pertencem ao grupo das variedades mais exploradas comercialmente dentre as margaridas grandes não sendo recomendadas para cultivo nestes períodos citados, pois alcançaram níveis de doença entre as não recomendadas e proibidas, conforme classificação estabelecida neste trabalho.

Nas Tabelas 5 e 6 são apresentadas as médias da AACPD das variedades por plantio, bem como as médias gerais.

Conforme as médias obtidas das AACPD por variedade em determinado período, foi possível estabelecer os níveis de resistência, como classificados abaixo:

- **Resistente (R)** – intervalos de 0 a 200 da AACPD.
- **Moderadamente Resistente (MR)** – intervalos de 201 a 450 da AACPD.
- **Suscetível (S)** – intervalos de 451 a 1200 da AACPD.
- **Altamente Suscetível (AS)** – valores maiores que 1200 da AACPD.

A classificação das variedades foi elaborada de acordo com a severidade da ferrugem branca, apresentada no período em que foram cultivadas. As avaliações permitiram identificar a época de cultivo em que as variedades apresentaram menor nível de doença.

Tabela 5. Área abaixo da curva de progresso da doença para ferrugem branca do crisântemo, por variedades em épocas diferentes de plantio (P1 a P7).

VARIETADES	Médias da AACPD por plantio						
	P1	P2	P3	P12	P4	P5	P6
V1	NP*	133,0	752,5	9,55	130,0	98,02	243,9
V2	450,4	440,7	56,02	9,41	478,2	365,5	133,2
V3	NP	58,22	59,77	NP	78,26	68,66	73,74
V4	NP	NP	NP	NP	NP	NP	325,7
V5	156,1	162,1	765,4	6,26	316,9	50,99	34,06
V7	1121,	490,2	146,2	175,6	NP	NP	NP
V9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
V10	353,3	264,2	387,2	36,34	770,6	260,9	502,4
V14	447,8	852,9	1320,	NP	1841,	793,4	899,2
V15	182,4	181,8	512,3	26,99	337,8	296,1	185,9
V17	13,60	NP	53,62	NP	NP	15,19	NP
V18	1556,	NP	NP	NP	NP	NP	NP
V19	820,9	NP	NP	NP	NP	NP	NP
V21	946,5	492,2	124,5	73,14	1439,	635,1	830,2
V23	NP	NP	2498,	NP	NP	NP	NP
V25	816,6	369,4	647,7	120,9	1168,	NP	NP
V26	NP	510,2	NP	NP	NP	NP	840,7
V27	868,3	528,1	599,3	25,24	282,4	108,2	61,98
V28	778,2	458,2	NP	15,93	483,1	165,9	388,1
V29	NP	NP	NP	32,23	487,6	NP	NP
V31	NP	NP	NP	NP	NP	318,1	308,0
V33	NP	354,3	NP	NP	NP	349,7	NP
V35	NP	NP	NP	NP	NP	881,0	322,9
V36	NP	NP	NP	NP	NP	532,8	284,9
V37	NP	NP	NP	NP	382,2	NP	NP
V38	NP	NP	NP	3,91	NP	NP	NP
V41	NP	NP	NP	NP	318,6	NP	NP
MÉDIAGERAL/ plantio	610,19	353,08	565,95	41,20	567,71	308,75	339,71

*NP: a variedade não foi plantada no período.

Tabela 6. Área abaixo da curva de progresso da doença para ferrugem branca do crisântemo, por variedades em épocas diferentes de plantio.

VARIETADES	Médias da AACPD por plantio					
	P7	P8	P9	P9bx	P10	P11
V1	NP*	62,43	63,97	85,53	143,11	57,37
V2	434,13	356,56	11,04	42,13	96,14	258,21
V3	100,62	154,08	13,79	29,20	NP	21,01
V4	265,86	172,45	NP	NP	83,51	NP
V5	NP	219,84	47,82	43,17	41,65	123,79
V7	842,35	1158,39	NP	NP	700,84	198,74
V9	0,00	2,05	0,00	0,00	0,00	0,00
V10	467,87	477,76	161,73	87,44	568,94	92,75
V14	1004,58	712,11	349,59	249,84	187,78	NP
V15	404,20	225,49	15,00	45,12	254,16	387,68
V21	887,35	558,72	167,42	95,50	543,77	116,03
V23	1705,81	NP	NP	NP	NP	NP
V25	NP	1161,96	96,34	109,54	855,22	NP
V26	NP	468,21	79,12	115,25	NP	344,01
V27	241,39	67,12	31,46	47,79	151,96	167,01
V28	423,43	115,81	67,80	71,03	289,83	235,57
V29	NP	NP	NP	NP	221,02	NP
V31	354,37	486,14	32,92	71,44	577,00	146,06
V32	NP	NP	NP	NP	NP	52,55
V34	1361,74	NP	122,13	99,21	NP	NP
V37	NP	1212,98	23,01	104,20	217,55	NP
V38	NP	NP	0,43	0,91	NP	NP
V39	NP	NP	43,27	45,45	477,17	56,19
V40	NP	NP	NP	NP	157,33	NP
V42	NP	NP	NP	NP	NP	247,67
V43	NP	NP	NP	NP	NP	56,19
V44	NP	NP	NP	NP	17,27	NP
MÉDIAGERAL/ plantio	606,69	447,77	73,71	74,60	293,91	156,54

*NP: a variedade não foi plantada no período

2.1. Plantios realizados no verão

Houve diferença estatística da severidade da doença entre as variedades cultivadas nas épocas de plantio P1, P2, P3 e P12 realizados no verão (Figura 7).

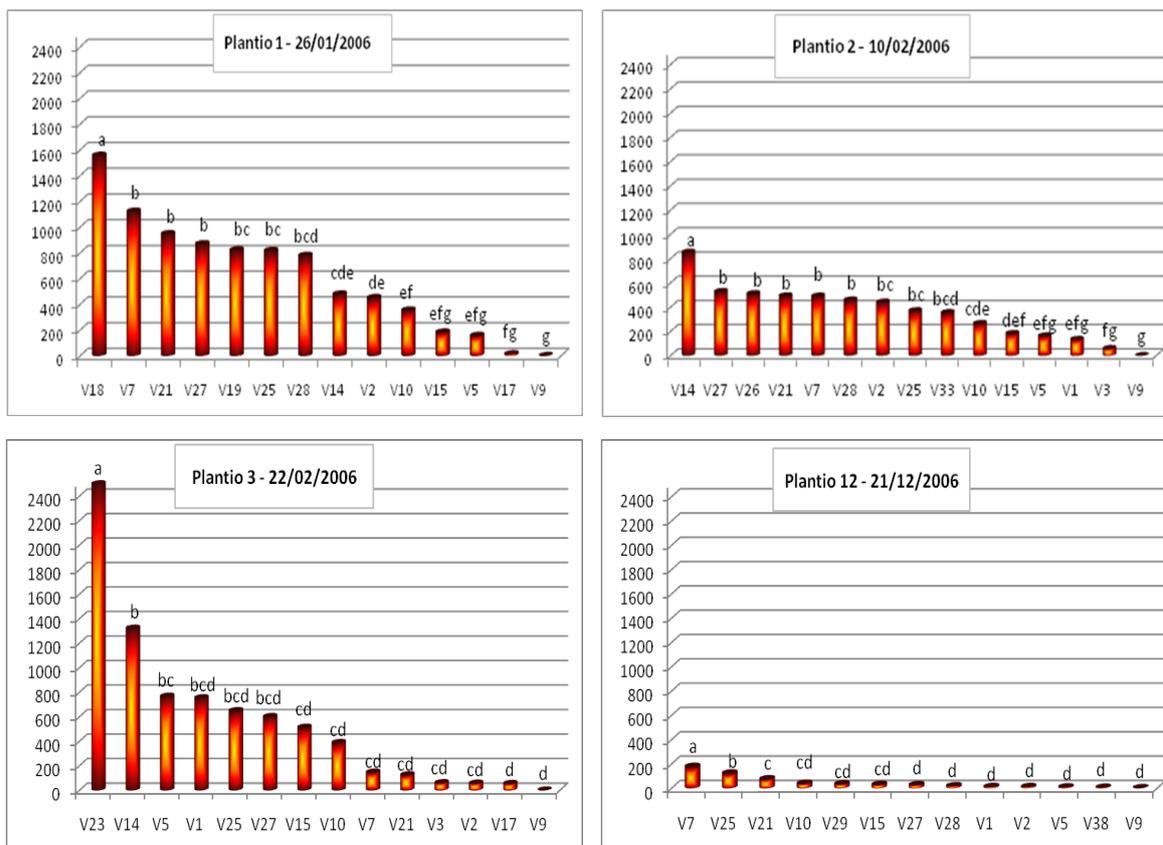
As médias de severidade mais baixas em P1 ocorreram nas variedades, V9, V17, V5 e V15 (Figura 7). A variedade V18 foi a mais afetada pela doença neste período alcançando a média de AACPD igual a 1556,19, diferindo das demais. A melhor época de plantio para V14 foi em P1, pois foi o único período em que a AACPD foi inferior a 450, demonstrando o potencial de resistência moderada.

As variedades mais recomendadas em P2 foram V1, V3, V5; V9 e V15 (Tabela 7) não havendo nenhuma inadequada que foi cultivada no período conforme os critérios descritos para a resistência. A V14 diferiu estatisticamente das demais com maior AACPD, não devendo ser cultivada nesta época devido à alta severidade. Estatisticamente V3, V1 e V5 são iguais a V9 que não apresentou nenhum sintoma (Figura 7).

No plantio P3 as variedades mais recomendadas foram V2, V3, V7, V9, V17 e V21, sendo permitido o plantio de V10, determinando ser no verão a melhor época para o plantio dessa variedade. A variedade V23 neste período mostrou-se extremamente suscetível dentre todas as avaliadas independente da época, com média de 2498,10 da AACPD, apresentando sintomas de necrose e queda de muitas folhas alcançando níveis máximos da escala diagramática, tendo diferido estatisticamente das demais (Figura 7). Comparando com a variedade V9 que não apresentou nenhum sintoma da doença, pelo teste de Tukey V1, V2, V3, V7, V10, V15, V17, V21, V25 e V27 não diferiram estatisticamente entre si.

Durante o plantio P12 realizado em dezembro de 2006, a severidade média geral foi a mais baixa de todas as épocas avaliadas com AACPD de 41,20 (Tabela 5). Neste período não foi cultivada as variedades V14 e V23 altamente suscetíveis contribuindo para redução da severidade geral. As variedades plantadas estão dentro da recomendação e permissão estabelecida pelo critério dos níveis de resistência. As variedades V1, V2, V5, V10, V15, V27, V28, V29 e V38 foram estatisticamente iguais a V9 que não apresentou nenhum sintoma da doença (Figura 7).

Figura 7. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para a ferrugem branca do crisântemo, das variedades cultivadas no verão.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

No verão (Figura 7) a maior severidade foi observada em V18 no período P1, que diferiu estatisticamente das demais, sendo inadequada para plantio nesta época. Dentre as não recomendadas estão V7, V21, V27, V19, V25 e V28 que não diferiram estatisticamente entre si e pelos altos índices de severidade. Foram consideradas estatisticamente iguais a V9 que não apresentou sintoma da doença as variedades V17, V5 e V15, portanto também são adequadas para o plantio em P1.

A variedade que apresentou maior severidade no plantio P2 foi a V14 que diferiu estatisticamente das demais (Figura 7). As variedades V2, V25 e V33 apesar de não terem diferido estatisticamente de V27, V26, V21, V7 e V28 apresentaram médias de AACPD entre os níveis classificados como moderadamente resistentes permanecendo a severidade dentro dos intervalos permitidos para plantio nessa época, estando as últimas citadas entre as não indicadas para serem cultivadas nesse período.

No plantio P3, a maior severidade ocorreu para variedade V23, diferindo estatisticamente das demais (Figura 7). Apesar de V14 ter diferido de V23 estatisticamente, o nível de severidade foi muito alto e não recomenda-se cultivá-las nesse período. As variedades V1, V5, V25 e V27 não diferiram estatisticamente de V14 e foram classificadas como não indicadas pelos intervalos de níveis de severidade. Foram consideradas estatisticamente iguais a V9 que não apresentou sintoma as variedades V17, V2, V3, V21, V7, V10, V15, V27, V25, e V1. Esse fato demonstra a necessidade de se empregar o critério dos níveis de resistência estabelecidos nesse trabalho, que sugerem a conveniência do plantio segundo a severidade apresentada. O monitoramento da doença poderá definir um manejo mais apropriado para a ocasião, podendo garantir menores níveis de severidade para as variedades não recomendadas.

Das variedades cultivadas no período P12, 77% apresentaram severidade à ferrugem, estatisticamente iguais a V9 que não apresentou sintoma da doença (Figura 7), isso revela que o ambiente, aumenta a expressão da resistência da variedade. Em P12, por exemplo, a variedade V15 teve índice de AACPD igual 26,99 e em P3 este índice na mesma variedade foi de 512,3, demonstrando que o nível de doença pode ser ideal para comercialização com o manejo do ambiente. A maior severidade ocorreu na V7, seguida de V25 e V21 que diferiram estatisticamente entre si. Todas as variedades cultivadas nesse período estão entre as adequadas ou toleradas para plantio nesta época. A menor média de AACPD dentre os plantios avaliados foi obtida em P12 (Tabelas 5 e 6).

2.2. Plantios realizados no outono

Diferenças significativas entre as variedades e épocas de plantio para P4, P5, P6 e P7 realizados no outono, foram observadas (Figura 8).

A variedade de crisântemo para corte mais cultivada atualmente é a V21 que não é recomendada para ser plantada nesse período, pois a severidade ultrapassou os limites de suscetibilidade conforme o critério estabelecido, com AACPD calculada em 1439,15 e V14 com AACPD de 1841,92 reafirmando sua alta suscetibilidade à ferrugem branca. O mercado é amplo para a variedade White Reagan (V21), sendo a mais explorada comercialmente para espécies de crisântemo. À medida que permitirá obter um produto comercial de qualidade na

época de outono, na região do Distrito Federal, e demais regiões que apresentem características climáticas semelhantes, deverá ser o cultivo climatizado, evitando assim a alta severidade à ferrugem apresentada neste período.

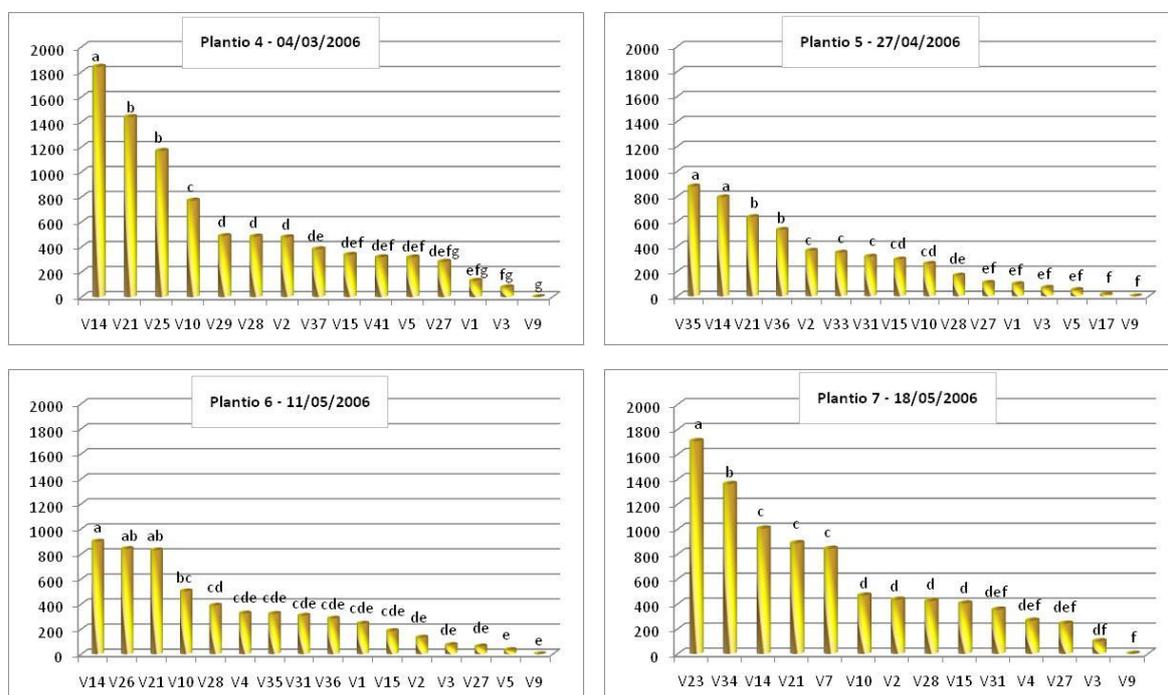
As variedades V14 e V21 considerando o critério de severidade à ferrugem branca são inadequadas para o cultivo em P4, respectivamente. A variedade V34 que apresentou alta severidade em P7 com AACPD igual a 1361,64, também foi classificada como inadequada para ser cultivada nesta época, segundo o critério de resistência estabelecido para o plantio.

Variedade como V3, que na maioria dos plantios apresentou baixo índice de severidade, em P7 e P8 (inverno) alcançou valores de AACPD superiores a 100, mesmo assim permaneceu classificada como adequada para ser cultivada em qualquer época do ano. A severidade refletiu em um número acentuado de pústulas, com diâmetro reduzido em relação ao sintoma nas demais variedades, sempre inferior a 2 mm. A média geral de AACPD da variedade V3 (Mini Margarida Amarela) foi de 65,74, considerada estatisticamente igual a V9 em todos os plantios de outono. Segundo Rademaker & Jong (1987), o surgimento de algumas pústulas pequenas no hospedeiro sob forte pressão de infecção é considerada reação de resistência incompleta e provavelmente ligada a vários genes, pois a esporulação é retardada, mas não impedida. Tal situação foi observada em V3 e de acordo com os autores citados acima, esse tipo de resistência em condições de plantios comerciais oferece proteção suficiente, tendendo a ser estável análogo ao observado nos cereais. Os dados em outras épocas de cultivo confirmaram esse argumento, pois mesmo no plantio P8 em que V3 apresentou a maior severidade, os níveis se mantiveram nos intervalos que a classificam como resistente.

A Figura 8 mostra que a maior severidade ocorreu na variedade V14, no plantio P4 e P6. A diferença estatística entre a V14 e as demais variedades foi observada em P4, pois, em P6 a AACPD foi semelhante às V26 e V21. Às variedades V21 e V25, no plantio P4, apresentaram a média de AACPD de 1439,15 e 1168,62, respectivamente, não diferindo estatisticamente. Pela classificação as variedades V14, V21 e V25 não estão entre as adequadas nem toleradas para o plantio nessa época, além das V2, V10, V28 e V29. A variedade V10, no P5, não diferiu estatisticamente das V2, V15, V31 e V33, que foram

classificadas segundo a severidade, como toleradas para o cultivo no período. Apesar da V28 não ter diferido de V10 no P7, apresentou severidade entre os níveis que permitiu classificá-la como moderadamente resistente e tolerada para cultivo no período. As variedades com menor severidade no outono foram V9, V3, V1 e V27 que não diferiram estatisticamente entre si (Figura 8 e Tabela 6).

Figura 8. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para a ferrugem branca do crisântemo, das variedades cultivadas no outono.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. P4 (a); P5 (b); P6 (c); P7 (d).

As variedades V35 e V14 foram as que apresentaram maior severidade no P5, não diferindo estatisticamente entre si (Figura 8). Os menores índices de severidade ocorreram em V9, V17, V5, V3, V1 e V27 que não diferiram estatisticamente entre si. Apesar de V28 ter diferido das demais apresentadas com menor índice de severidade, foi classificada como adequada para o cultivo no período P5, pelo nível de severidade estar entre 0 e 200 de AACPD (Tabela 5).

Durante o plantio P6, as variedades V14, V26 e V21 com os maiores índices de severidade, não diferiram estatisticamente entre si (Figura 8). Apesar de V10 ter diferido pelo teste de Tukey da variedade V14, que apresentou maior

severidade, foi classificada juntamente com essa e com V26 e V21 entre as não indicadas para serem cultivadas no período (Figura 8 e Tabela 5). Não diferiram estatisticamente de V9, que não apresentou sintoma da doença, as variedades V5, V27, V3, V2, V15, V1, V36, V31, V35 e V4, mas foram distribuídas conforme a classificação de recomendação entre as adequadas e toleradas (Tabela 5).

A variedade com o maior índice de severidade considerado pela AACPD, no outono, foi a V14 em P4, diferindo das demais nesse plantio (Figura 8). Em P5 as variedades que apresentaram maior severidade foram, V35 e V14 estatisticamente iguais (Figura 8), sendo que V14 apresentou uma severidade 57% inferior neste período. Segundo Water (1981), algumas cultivares de crisântemo parece ser mais sensíveis à *P. horiana* do que outras e há indícios de que há mais de um patótipo do fungo. Em P6 as variedades V14, V26 e V21 apresentaram as maiores severidades (Figura 8).

A Figura 8, no P7, mostra que V23 foi a variedade mais afetada pela doença, diferindo estatisticamente das demais. A média de AACPD de V34 apesar de diferir estatisticamente de V23, também foi muito alta mantendo essas duas entre as inadequadas para cultivo nesse período. As variedades V9, V3, V27, V4 e V31 foram estatisticamente iguais apresentando os menores índices de severidade.

2.3. Plantios realizados no inverno

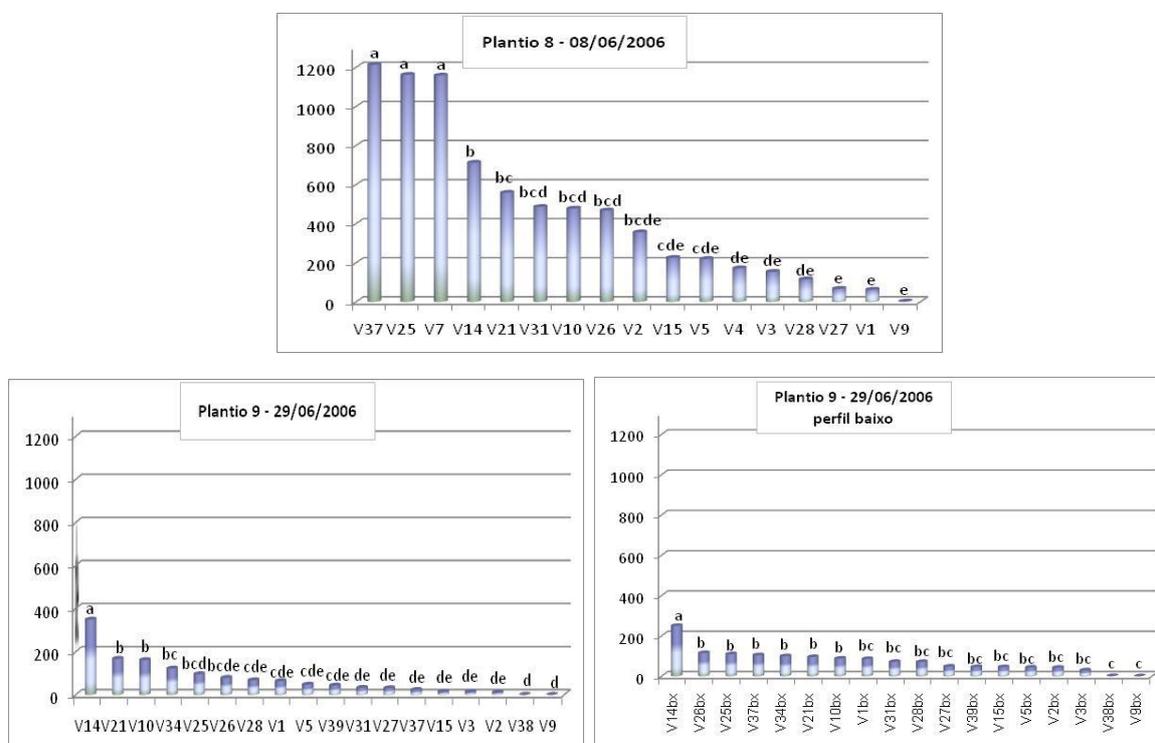
As variedades V37, V25 e V7, com maior AACPD, em P8 não diferiram estatisticamente entre si, mas segundo o critério de severidade, V37 foi considerada altamente suscetível e inadequada para plantio nessa época, V25 e V7 mostraram-se suscetíveis e não indicadas para plantio nessa época (Figura 9 e Tabela 6).

A variedade V14 comportou-se semelhantemente às V21, V31, V10, V26 e V2, no P8. Dentre as que apresentaram menores índices de severidade nesse período estão V1, V27, V28, V3, V4, V5, V15, V2 e V9. O valor apresentado na Tabela 6 de AACPD igual a 2,05 para a variedade V9 foi quantificado com intuito de investigação, pois a sintomatologia foi semelhante às lesões iniciais de *P. horiana*, no entanto, não foi observada nenhuma esporulação do patógeno. Esta abordagem será feita no capítulo III através de cortes histológicos, sendo que tais

sintomas ocorreram somente nesse período. É importante ressaltar que o aspecto de resistência das variedades está intimamente relacionado às condições ambientais. Estudos realizados por Johnson & Newton (1937), confirmaram que a elevação da temperatura acima do ótimo para o desenvolvimento de ferrugens, em geral, causa variação no tipo de reação observada. Testes feitos com *Puccinia glumarum* revelaram que plantas suscetíveis sob condições normais passaram a demonstrar reação de hipersensibilidade e variedades suscetíveis em condições normais se comportaram como resistentes em épocas de plantio distintas, em virtude da elevada sensibilidade do fungo às altas temperaturas. As temperaturas em P8 alcançaram entre 28° C a 30° C, por uma sequência de dias, podendo ter ocasionado uma reação de hipersensibilidade.

As avaliações em P9 além de terem sido realizadas no terço inferior como normalmente ocorreram nos demais plantios, também foi feita no terço mediano (Figura 9).

Figura 9. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para a ferrugem branca do crisântemo, das variedades cultivadas no inverno.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. P8 (a); P9 (b); P9 (c).

Para o plantio P9 considerando o terço inferior (P9 bx - baixo), que são as mesmas variedades avaliadas na altura do terço mediano e inferior, respectivamente, (Figura 9), foi possível verificar que em 66,7% das variedades a maior severidade foi observada no terço inferior da planta, mas na média geral a AACPD foi semelhante nas duas alturas de avaliação. Segundo Chaboussou (1987), as folhas recém-formadas de plantas de crisântemo demonstraram comportamento semelhante às folhas senescentes em relação à ferrugem branca e folhas de meia-idade (maduras) mostram-se mais sensíveis a doença. Considerando que a doença não tem um desenvolvimento característico no perfil da planta e as folhas do terço médio são as que estão em maior equilíbrio fisiológico, e ponderando o que foi relatado por Chaboussou (1987), é de se considerar que se as folhas de meia-idade, ou do terço mediano da planta mostrem-se mais sensíveis, conseqüentemente refletem melhor a evolução da doença no tempo e o comportamento real nas fases fenológicas do crisântemo.

As recomendações para plantio em P9, de acordo com a classificação de resistência, permaneceram considerando as avaliações no terço mediano. Tanto os valores de AACPD (Tabela 6) como os da Figura 9, mostraram que para a variedade V14 essa foi a melhor época para cultivá-la, apesar de ter sido a menos resistente, pois foi o período em que a AACPD esteve entre os menores índices de severidade para a variedade.

Comparando as avaliações no mesmo período em diferentes idades da folha, em 72,22% das variedades os maiores níveis de severidade foram constatados em folhas mais velhas, ou seja, no terço inferior da planta. As avaliações no terço médio evidenciaram melhor as diferenças entre as variedades do que no terço inferior.

2.4. Plantios realizados na primavera

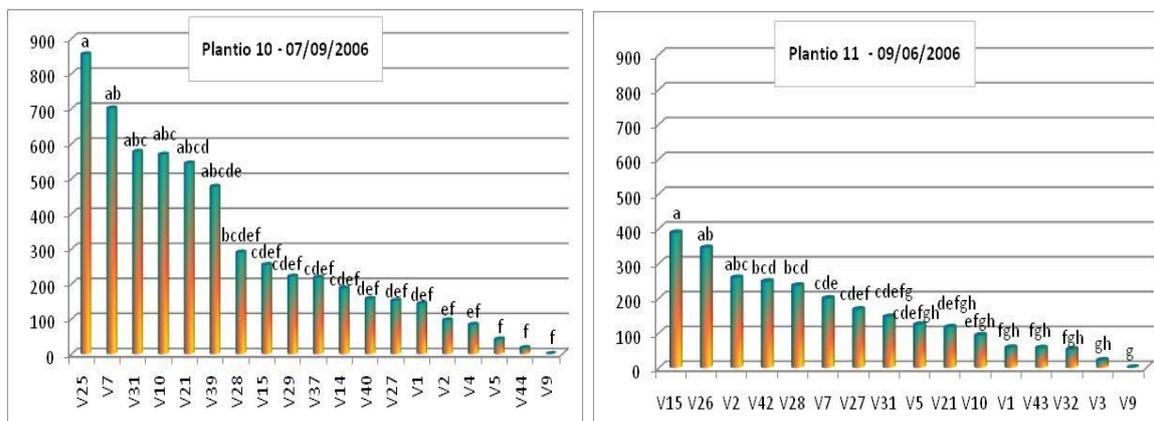
Dentre os plantios avaliados na primavera foi possível observar que conforme os intervalos de classificação da resistência, as variedades não apresentaram índices de severidade extremamente altos. Aproximadamente 68% das variedades cultivadas em P10 são adequadas ou toleradas para o cultivo neste período. Todas as variedades cultivadas em P11 são recomendadas ou permitidas para o período (Tabela 7).

Podem ser visualizadas na Tabela 7 as recomendações referentes às variedades mais adequadas para o cultivo na primavera considerando a época em que foram avaliadas.

A maior severidade observada no plantio P10 foi à variedade V25 que não diferiu estatisticamente de V7, V31, V10, V21 e V39 (Figura 10). As demais foram consideradas estatisticamente igual a V9 que não apresentou sintoma.

A Figura 10 mostra que V15, V26 e V2 foram estatisticamente iguais e apresentaram a maior média de severidade no período. As variedades V42 e V28 foram classificadas juntamente com V15, V26 e V2 como toleradas (Tabela 7) para serem cultivadas no período (P11), apesar de serem estatisticamente diferentes de V42 e V28 (Figura 10). As menores severidades apresentadas foram entre as variedades V3, V32, V43, V1, V10, V21, V5 que não diferiram estatisticamente de V9 que não apresentou sintoma da doença.

Figura 10. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para a ferrugem branca do crisântemo, das variedades cultivadas na primavera.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. P10 (a); P11 (b).

Em geral o comportamento das variedades se mostrou diferenciado conforme a época de plantio sendo possível afirmar que a expressão fenotípica da resistência é altamente relacionada às condições ambientais. Estudos realizados por Johnson & Newton (1937), confirmam que a elevação da temperatura acima do ótimo para o desenvolvimento de ferrugens, em geral,

causa variação no tipo de reação observada. Segundo Camargo (1995), um tipo de resistência não exclui a possibilidade de ocorrência do outro, a possibilidade de que um gene de efeito principal possa, sob determinadas condições ambientais, ter seu efeito reduzido, tornando-se de efeito secundário conferindo resistência parcial, em certas cultivares. É possível que o comportamento diferenciado de uma mesma variedade de crisântemo nas épocas do ano seja pela possibilidade de ocorrência de mais de um tipo de resistência como resistência vertical e de campo pela hipersensibilidade.

A única variedade que não apresentou sintoma específico da ferrugem branca em 100% dos plantios analisados foi a V9 (Capello). Segundo Rademaker & Jong (1987), a resistência completa sem sintomas macroscópicos é controlada por um único gene dominante, podendo ser análoga à resistência dos cereais a ferrugem que pode ser quebrada por novos genes de virulência do patógeno. Em objeção a esse argumento, devido a freqüência de observações da ausência de sintomas na V9 em diferentes condições e pressão de inóculo, outros fatores estão associados a resistência dessa variedade. Como em 100% das observações durante um ano, o patógeno não teve êxito em estabelecer a relação parasitária em V9, ou seja, o hospederio mostrou-se livre da doença, pode-se afirmar que essa variedade apresenta imunidade, segundo o conceito de Camargo (1995). As condições do meio ambiente influenciam na infecção, portanto há um somatório de genes menores que conferem resistência. Não se tratando apenas de genes duráveis ligados à resistência vertical.

Velasco et al. (2007), em estudos sobre a variação patogênica e molecular de isolados de *P. horiana* provenientes de regiões distintas, verificaram diferença em relação à virulência de isolados, com alterações inclusive do período de incubação, em relação a variedade de crisântemo (*D. grandiflora* Tzvelev). As condições geográficas, o manejo para o cultivo e variedades de crisântemo, de cada região, influenciam a variabilidade do fungo, por conseqüência na resistência das variedades.

É importante considerar que para a comercialização de crisântemo a rotatividade de variedades é grande. A vantagem da descoberta dessa fonte de resistência estaria aplicada principalmente na exploração da mesma em novos

programas de melhoramento considerando para a seleção e promoção das futuras variedades a transmissão genética da resistência a ferrugem branca.

3. Recomendação de plantio das variedades conforme da classificação de resistência apresentadas nas diferentes épocas do ano

Podem ser visualizadas na Tabela 7, as recomendações referentes às variedades mais adequadas para o cultivo nas épocas do ano, considerando a classificação de resistência à ferrugem branca, assumida pelos intervalos de severidade apresentados.

Tabela 7. Recomendação de plantio para cada época do ano considerando o comportamento das variedades de crisântemo à ferrugem branca.

ÉPOCAS DE PLANTIO	Indicação de plantio de variedades conforme critério de resistência estabelecido			
	ADEQUADAS (R)	TOLERADAS (MR)	NÃO INDICADA (S)	INADEQUADAS (AS)
VERÃO-P1	V5; V9; V15; V17	V2; V10; V14	V7; V19; V21; V25; V27; V28;	V18
VERÃO -P2	V1; V3; V5; V9; V15	V2; V10; V25; V33	V7; V14; V21; V26; V27; V28;	
VERÃO-P3	V2; V3; V7; V9; V17; V21	V10	V1; V5; V15; V25; V27	V14; V23
VERÃO-P12	V1; V2; V5; V9; V10; V15; V21; V27; V28; V29; V38	V7; V25		
OUTONO-P4	V1; V3; V9	V5; V15; V27; V37; V41	V2; V10; V25; V28; V29	V14; V21
OUTONO-P5	V1; V3; V5; V9; V17; V27; V28	V2; V10; V15; V31; V33	V14; V21; V35; V36	
OUTONO-P6	V2; V3; V5; V9; V15; V27	V1; V4; V28; V31; V35; V36	V10; V14; V21; V26	
OUTONO-P7	V3; V9	V2; V4; V15; V27; V28; V31	V7; V10; V14; V21	V23; V34
INVERNO-P8	V1; V3; V4; V9; V27; V28	V2; V5; V15	V7; V10; V14; V21; V25; V26; V31 V31	V37
INVERNO-P9	V1; V2; V3; V5; V9; V10; V15; V21; V25; V26; V27; V28; V31; V34; V37; V38; V39	V14		
PRIMAVERA-P10	V1; V2; V4; V5; V9; V14; V27; V40; V44	V15; V28; V29; V37	V7; V10; V21; V25; V31; V39	
PRIMAVERA-P11	V1; V3; V5; V7; V9; V10; V21; V27; V31; V32; V39	V2; V15; V26; V28; V42		

Ficou evidente que a mesma variedade demonstra severidade diferenciada em relação ao patógeno, nas diferentes épocas do ano. O cultivo sucessivo na área, a irrigação por aspersão empregada, os períodos de condições ambientais influenciando a expressão da resistência das variedades, além dos períodos favoráveis ao processo de infecção, foram os fatores responsáveis pela oscilação da severidade à ferrugem branca de uma mesma variedade, representada pela AACPD (Tabela 5 e 6) e curva de progresso da doença (Figuras 11 a 34).

No geral o início do aparecimento de sintomas da ferrugem branca nas plantas, ocorreu aos 30 dias após o plantio (DAP). Nos plantios P5 e P6, próximo ao início do outono, este período estendeu-se para 45 dias, época em que foi observada estiagem e os níveis da UR ficaram entre 61% e 70% nos dias sem chuva. Segundo Water (1981), os basidiósporos são muito sensíveis à dessecação em menos de 90% de umidade relativa, prejudicando a propagação e germinação. Outro fator está relacionado à resistência vertical que manifestou em um período de condições desfavoráveis ao patógeno, diminuindo a quantidade efetiva do inóculo inicial (X_0), concordando com os conceitos de Van Der Plank (1963), retardando o início da epidemia. É possível que tenha desenvolvido raças do patógeno na área, pelo cultivo intensivo e aplicação excessiva de agrotóxicos. A queda na curva de progresso da doença observados aos 60 DAP em P12, bem como em períodos no ciclo das variedades como V21 e V31 em P6, nas V4, V21, V28, V34 em P7, dentre outras foi devido à queda da severidade apresentada no período, já que as avaliações acompanharam a fase fenológica da planta, evidenciando a influência das condições ambientais no patossistema.

A curva de progresso da ferrugem branca para cada variedade e período específico pode ser observada nas Figuras 11 a 34, revelando o comportamento da doença ao longo do ciclo da cultura. Os intervalos quinzenais de avaliação foram suficientes para demonstrar o avanço da doença no tempo, alertando a necessidade de intervenção periódica para evitar os danos. O monitoramento é a ferramenta mais adequada e econômica para tomada de decisão e intervenção para o controle efetivo da doença, visando obter um produto com a qualidade exigida pelo mercado.

4. Curva de progresso da ferrugem branca nos períodos e variedades.

Figura 11: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P1.

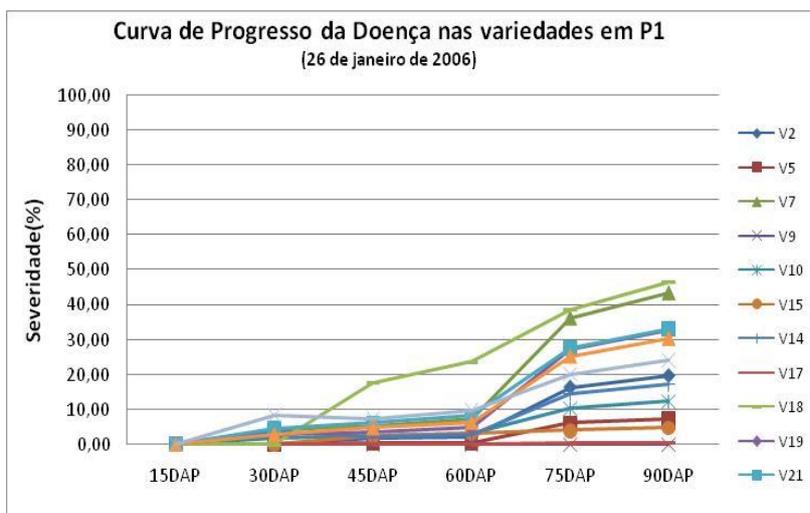


Figura 12: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P2.

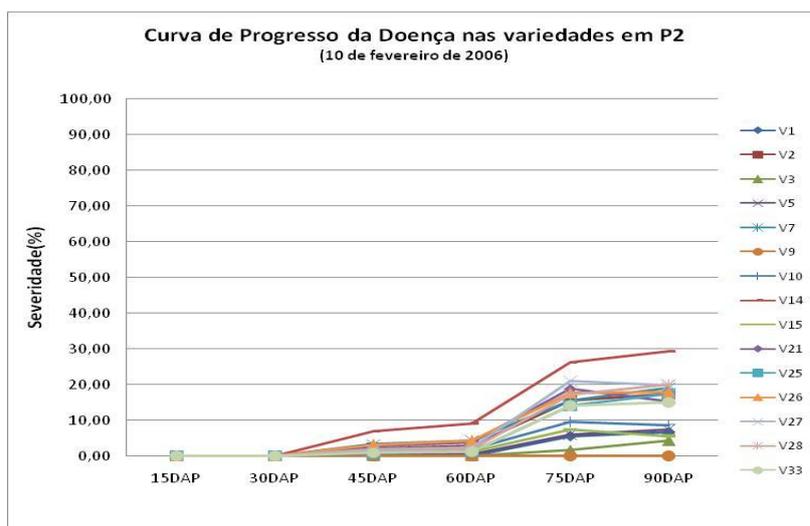


Figura 13: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P3.

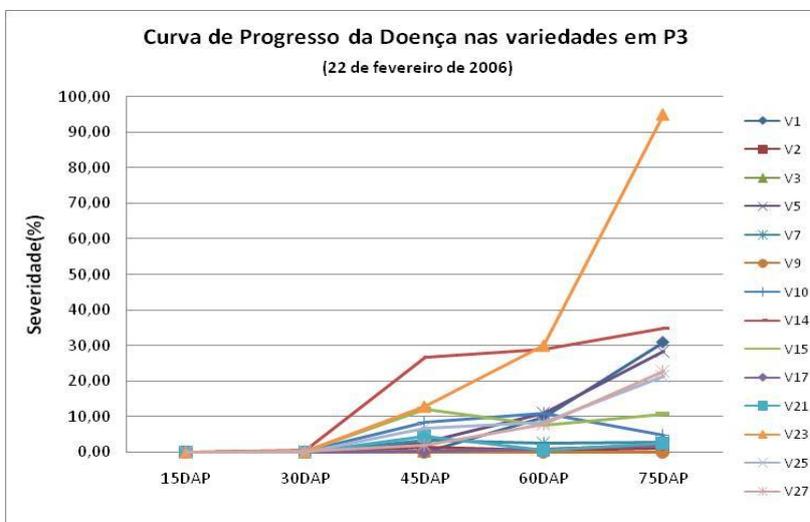


Figura 14: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P12.

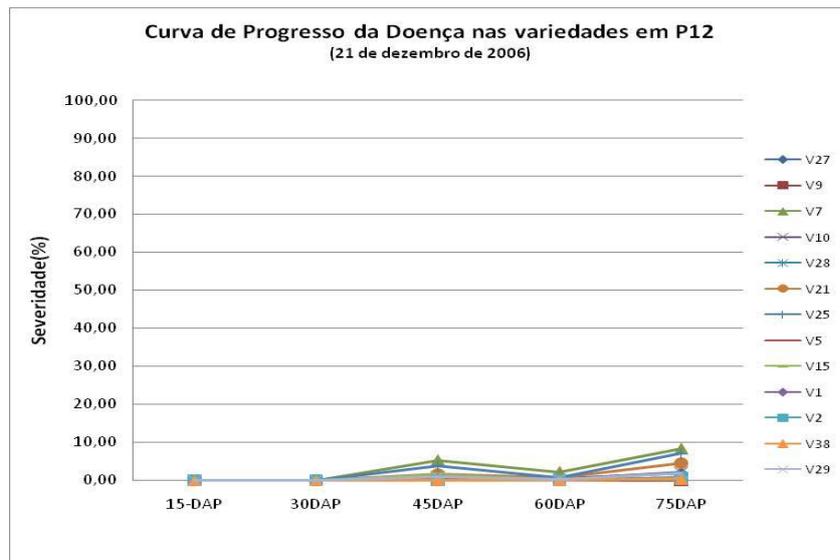


Figura 15: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P4.

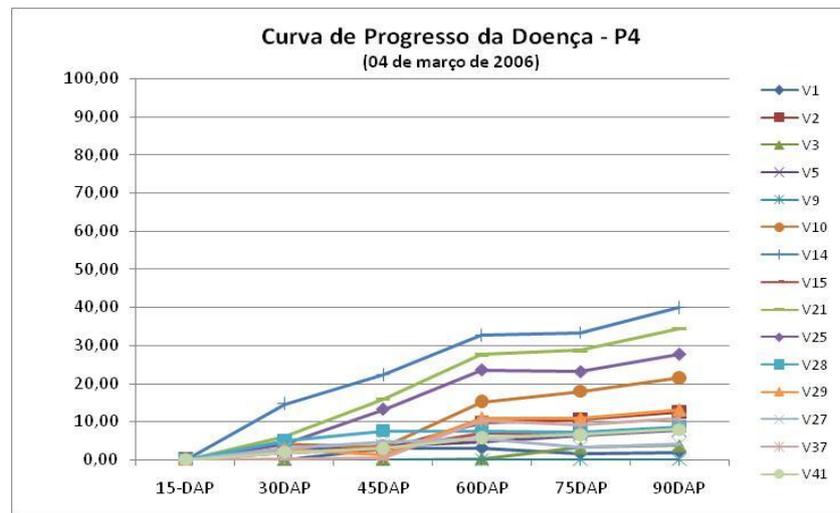


Figura 16: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P5.

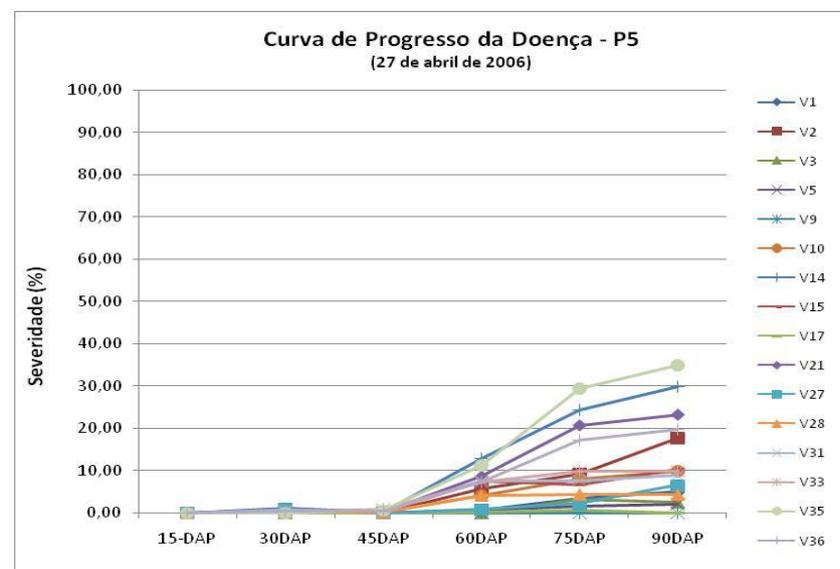


Figura 17: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P6.

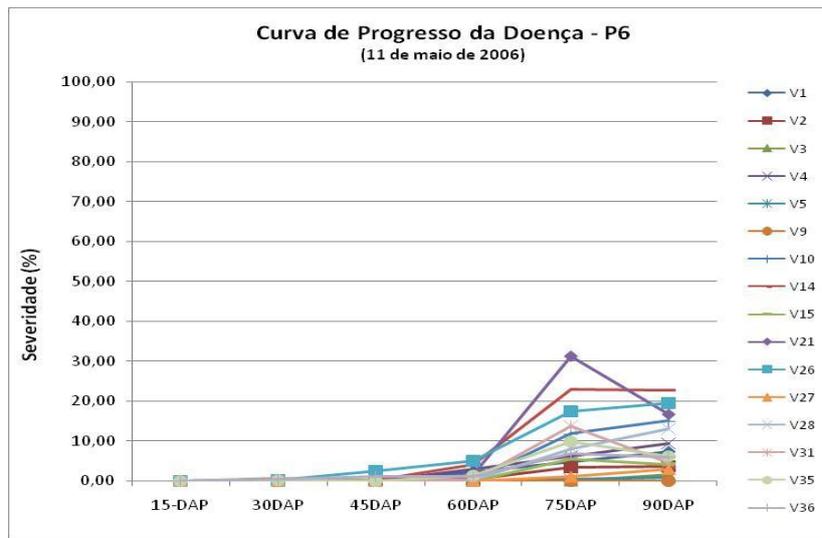


Figura 18: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P7.

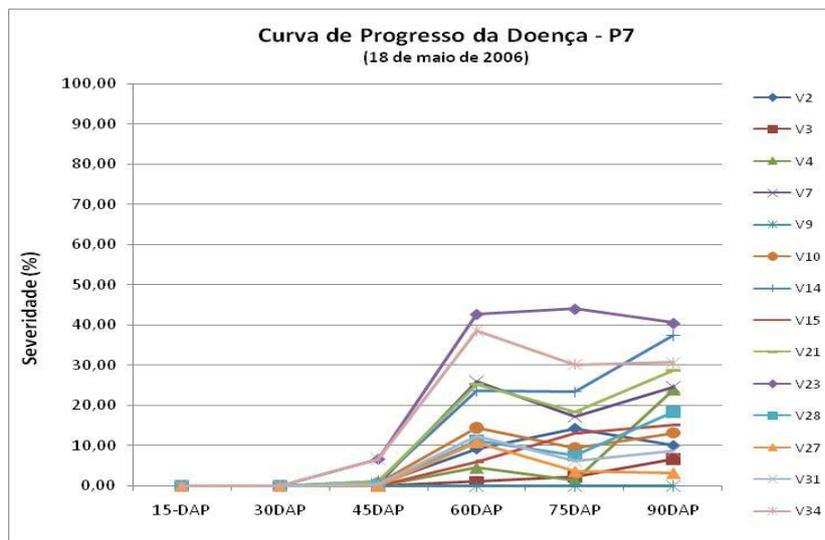


Figura 19: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P8.

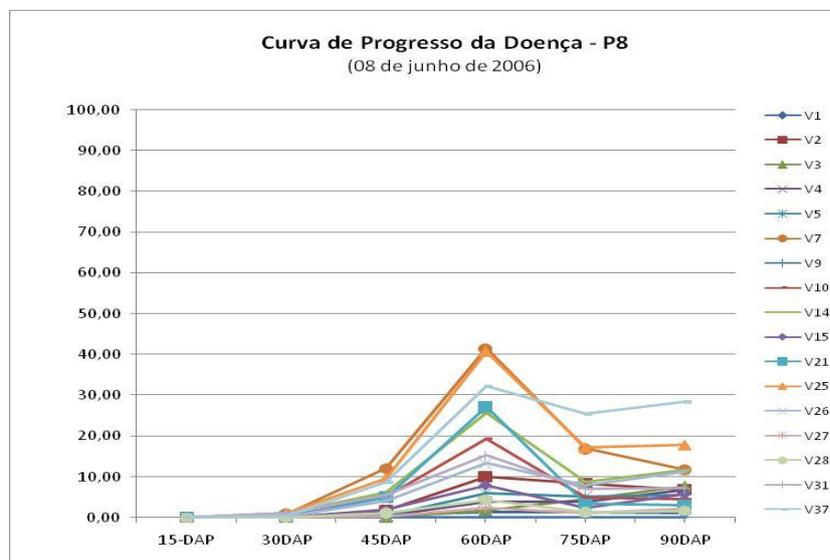


Figura 20: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P9.

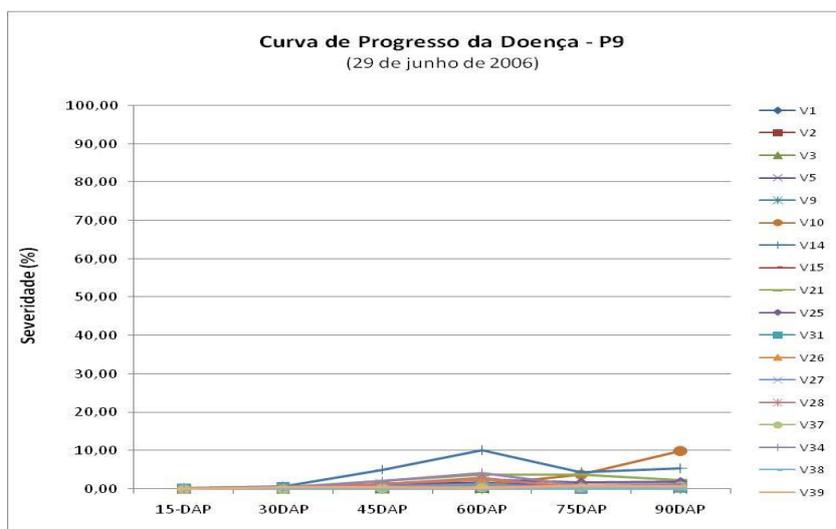


Figura 21: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P10.

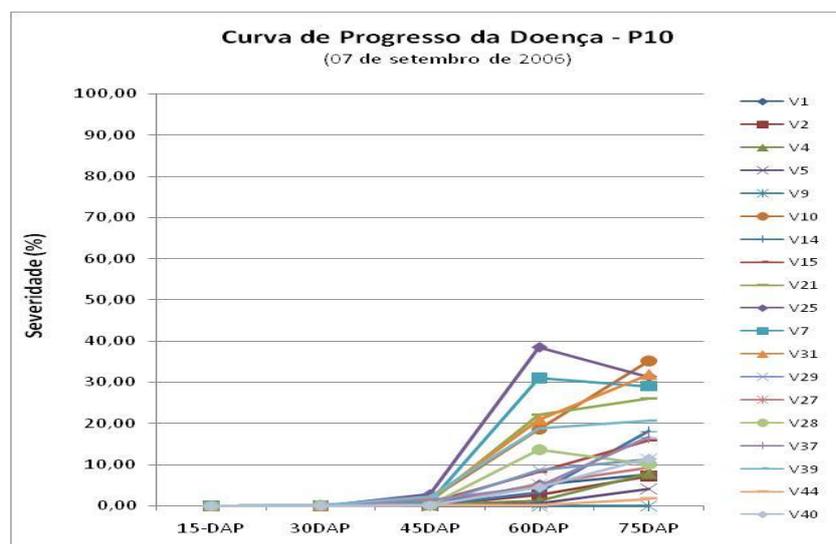
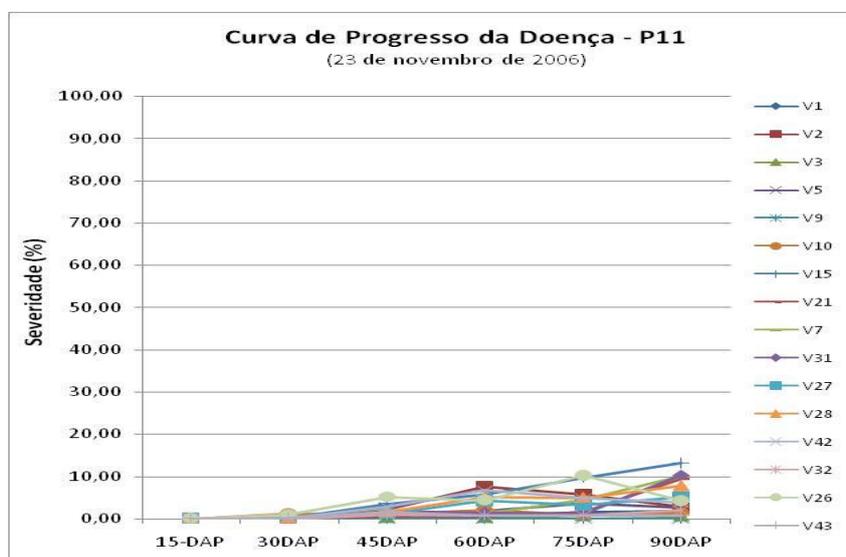


Figura 21: Curva de Progresso da ferrugem branca nas variedades em P11.



CONCLUSÕES

1. A escala diagramática prática permitiu uma avaliação adequada da doença.
2. As condições ambientais influenciam o comportamento das variedades e expressão da resistência.
3. Existem fontes de resistência para ferrugem branca entre a espécie *Dendranthema grandiflora*.
4. Foi possível estabelecer um calendário para plantio comercial com variedades em níveis de resistência, mantendo a diversidade necessária para produção comercial.
5. As variedades Orange Reagan e Rose Reagan são as mais suscetíveis dentre todas avaliadas.
6. A variedade V9 (Capello), resistente em todas as épocas do ano, é uma fonte genética com potencial a ser explorado visando ao controle da ferrugem branca do crisântemo.

Alternativa sustentável para o controle da ferrugem
branca do crisântemo

INTRODUÇÃO

Estudos demonstram que, quase sem exceção, os agrotóxicos causam mudanças deletérias no organismo vegetal, agindo também como precursores de disfunções de ordem metabólica e ecofisiológica nas plantas (CHABOUSSOU, 1987).

Sistemas convencionais de cultivo provocam perturbações ambientais, afetando as interações de forma negativa. Resistência de fungos aos fungicidas são exemplos das perturbações no sistema que causam prejuízos e impedem a produção em muitos casos. O controle da ferrugem branca do crisântemo foi realizado com propiconazole por 20 anos. Segundo Cook (2001), no ano de 1999 produtores de crisântemo relataram a ausência de controle da doença em diferentes cultivares, utilizando propiconazole e outro triazol, miclobutanil. Na Inglaterra, cepas de *Puccinia horiana* mostraram-se tolerantes aos triazóis e/ou a estrobilurina.

Em países da Europa existe tolerância à fungicidas do grupo das carboxamidas (DIRKSE et al. 1982). No Japão, isolados de *Puccinia horiana* mostraram-se tolerantes ao oxycarboxim, exigindo uma concentração de 5-10 vezes maior para inibir a formação dos teliósporos e de 10-20 vezes para inibir a formação dos basidiósporos, inclusive com os sintomas mais severos em plantas inoculadas com isolados tolerantes do que as plantas inoculadas com isolados sensíveis (ABIKO et al. 1977).

Segundo Soglio (2004) o desequilíbrio ambiental é a razão da alta ocorrência de pragas e doenças, nestes sistemas que contrapõem as práticas agroecológicas que possibilitam uma maior ocorrência de associações positivas. Em contraste com a agricultura convencional, os sistemas alternativos buscam obter vantagens das interações de ocorrência natural, dando ênfase ao manejo das relações biológicas e em processos naturais. O objetivo é aumentar e sustentar as interações biológicas nas quais a produção agrícola está baseada, ao invés de reduzir e simplificar essas interações (National Research Council, 1989 apud BETTIOL & GHINI, 2004).

O controle químico de doenças da parte aérea das plantas, e também para o tratamento de solos e substratos com fungicidas é amplamente utilizado. Dentro

deste contexto consideram-se métodos alternativos de controle como sendo, quaisquer métodos de controle que não façam uso de agrotóxicos, como a rotação de culturas e a resistência de cultivares, a solarização, a biofumigação, a utilização de extratos de plantas e outros compostos naturais para a proteção de plantas (PATRÍCIO, 2007). Diante da necessidade de produção conjunta com a preservação ambiental o controle alternativo de doenças é uma opção que deve ser explorada com intuito de usufruir dos recursos oferecidos pela própria natureza, que demonstra constantemente ser aliada neste processo. Através das relações ecológicas de competição, supressão e alelopatia disponíveis para promover o controle de doenças minimizando os impactos ao ambiente.

O controle biológico da ferrugem branca do crisântemo foi obtido por *Verticillium lecanii*, que reduziu em 56% a severidade da doença nas cultivares testadas (RODRIGUEZ-NAVARRO et al. 1996; WHIPPS, 1993). Srivastava et al. (1985) relataram que *Verticillium lecanii* e *Aphanocladium album* infectaram de 90 a 95% dos teliósporos de *P. horiana* em cinco dias, sugerindo a possibilidade do uso desses agentes no controle biológico da doença.

Combinação entre agentes de controle biológico são propostos por Sheroze et al. (2003) e a melhor combinação para a redução do desenvolvimento das pústulas na folha foram *Verticillium sp.* com *Paecilomyces sp.* e *Verticillium sp.* com *Beauveria sp.* Em geral, 80% de umidade relativa e 30° C favoreceu o crescimento máximo dos agentes de controle biológico.

Os aspectos econômicos, aliados à cultura imediatista e unidirecional do homem, têm restringido a convergência das ações do controle de doenças de plantas para uma proposta mais sustentável.

O controle da ferrugem branca do crisântemo em viveiros de matrizes é obtido pelo equilíbrio das condições ambientais (temperatura e umidade) em estufas climatizadas (informação pessoal)*. Em áreas de produção de crisântemo para corte, o controle está baseado no uso intensivo de fungicidas. No Distrito Federal as aplicações são realizadas com base na experiência do produtor conforme o surgimento e a evolução dos sintomas, resultando na maioria dos casos em um controle insatisfatório. Existe uma diversidade relativa de ingredientes ativos registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (AGROFIT, 2008), para a cultura do crisântemo, quando

comparado às demais plantas ornamentais. Os últimos produtos lançados no mercado como ciproconazol, podem conter a doença por um período, mas não podem ser aplicados com frequência pelo custo elevado e pela resistência provocada no patógeno, evidenciando a insustentabilidade do controle convencional.

Apesar das informações sobre a possibilidade de controle por meio do uso de fungicidas, o que se observa é uma grande dificuldade para obter sucesso em condições de produção. O aumento da resistência do patógeno aos fungicidas é também uma ameaça ao controle fitossanitário.

Há propostas alternativas, conforme Wojdyla (2004), que constatou o efeito de um produto à base de quitosana, considerado um eliciador em potencial de defesa vegetal e também um ativo inibidor do desenvolvimento de fungos, denominado Biochikol 020 PC, que apresentou efeito de 54-97% no controle da *Puccinia horiana*. Observações ao microscópio indicam que a quitosana tem um efeito direto sobre a morfologia do microrganismo. Outros estudos sugerem que a quitosana induz uma série de reações de defesa correlacionadas com atividades enzimáticas, demonstrada pelo aumento da produção de compostos fenólicos e síntese de fitoalexinas específicos com atividade antifúngica, além de induzir obstáculos estruturais como a síntese de lignina (BAUTISTA-BAÑOS et al. 2006).

O objetivo do presente trabalho foi testar em cultivo comercial alternativas para o controle da ferrugem branca do crisântemo, com composto bioativo, óleo essencial e extrato vegetal dentre outros; verificar a eficácia do manejo químico, atualmente recomendado em relação às alternativas propostas e verificar a viabilidade da utilização de controle alternativo combinado às medidas convencionais, visando minimizar o uso de fungicidas.

*informação pessoal-Horitec, 2006 gerente de vendas da empresas Agro Industrial Lazzeri S.A. e Ricaflor

MATERIAL E MÉTODOS

1. Descrição do experimento

Os experimentos foram realizados no município de Brazlândia, Distrito Federal, chácara INCRA 6, conforme descrito no Capítulo 1. As épocas em que foram implantados os experimentos estão relacionadas na Tabela 8.

Tabela 8. Épocas em que foram desenvolvidos os experimentos de controle.

Plantio	Data	Época considerada
P5*	27 de abril de 2006	OUTONO
P6	11 de maio de 2006	OUTONO
P7	18 de maio de 2006	OUTONO
P8	08 de junho de 2006	INVERNO
P9	29 de junho de 2006	INVERNO
P13	14 de setembro de 2006	PRIMAVERA
P11	23 de novembro de 2006	PRIMAVERA

*A numeração dos plantios segue a sequência das avaliações de genótipos, por isso não obedecem a numeração ordinal normal.

O delineamento e a condução das avaliações seguiram o modelo estabelecido para avaliação de genótipos descrita no Capítulo 1. Para evitar interferência entre parcelas foram deixadas duas fileiras intermediárias aos tratamentos como bordadura.

Nos plantios P5 e P6 foram testados dois tratamentos: 1. Químico (Q) conforme o manejo do produtor, com a aplicação de produtos como mancozeb (Dithane), ciproconazol (Auto 100), tebuconazole (Folicur) e Pyraclostrobin + Metyran (Cabrio Top) intercalados e em intervalos baseados em observações empíricas do produtor, concentração e volume conforme as indicações presentes no rótulo de cada produto. 2. Alternativo ou Biológico (B) com aplicação do composto bioativo líquido adaptado de Tomita (2001) acrescidos à formulação mais 20 kg de resíduo de peixe para 800 litros de água, iniciando a utilização após três dias do início do processo de fermentação aeróbica, na concentração de 1 (B): 10 L de água, com aplicações semanais iniciadas aos 30 dias após o plantio.

O composto bioativo líquido foi elaborado com os seguintes ingredientes e quantidades, adaptado Tomita, 2001:

Matéria prima:	Quantidade
Resíduo de peixe	20 litros
Terra superficial de mata	20 litros
Farelo de mamona	10 kg
Farelo de arroz	20 kg
Farelo de trigo	10 kg
Farinha de osso	20 kg
Cinza	10 kg
Rapadura	5 kg
Amido de Milho	3 kg
Água	800 litros

Todos os ingredientes foram misturados e homogeneizados em um tanque de fermentação com capacidade de 1000 litros. Sobre este material foi acrescentada água até atingir o volume de 800 litros, formando uma suspensão de resíduos. Para aeração frequente foram introduzidos dois tubos no fundo do tanque, que foi posteriormente tampado sem promover a vedação, visando impedir a entrada de insetos e água de chuva. Após 3 dias de preparo do material, foi iniciada a utilização do composto bioativo, a uma concentração de 1:10 (composto bioativo/água).

Nos plantios P7 e P8 além dos tratamentos Q e B, foi acrescentado uma combinação com Q + B aplicados alternadamente, mantendo as aplicações semanais do composto bioativo intercaladas com os fungicidas nos intervalos conforme monitoramento pelo produtor não tendo excedido a cinco aplicações de fungicidas no ciclo da cultura. O monitoramento feito pelo produtor foi baseado na incidência ou severidade da doença avaliada de forma diária visualmente e julgada segundo a experiência pessoal do mesmo, com 20 anos de experiência de cultivo de crisântemo. Quando a incidência e severidade eram consideradas “baixas” eram realizadas aplicações com mancozeb (Dithane) e em períodos de alta severidade foram realizadas até duas aplicações no ciclo de ciproconazol, alternadas com tebuconazole, também podendo intercalar tebuconazole com

Pyraclostrobin + Metyran, nas concentrações indicadas na bula dos produtos com pulverizador motorizado de mangueira.

No plantio P9 foram testados os tratamentos: Q; B; Óleo de eucalipto (Globulus - CROMOLINE®, Química Fina (EUC) (1:40 água); Extrato aquoso (ExAq) da variedade resistente preparado a partir de folhas coletadas no terço mediano da planta em fase de florescimento, imediatamente trituradas e esmagadas até obter um caldo concentrado (125g folha / 250 ml de água), ou extrato coado em seguida e diluído em água na concentração de 1:10 e aplicado imediatamente; Planta Clean (PC) (produto organomineral – Ecoplanet¹, composto por extratos vegetais e sais minerais, de recomendação geral para pragas e doenças) na concentração de 1:40. As avaliações neste experimento foram realizadas em duas regiões, no terço médio e no terço inferior do perfil da planta.

No plantio P13 foram avaliados os seguintes tratamentos: PC; B; Extrato alcoólico da variedade resistente preparado a partir de folhas coletadas no terço mediano da planta em fase de florescimento que foram imediatamente trituradas e esmagadas até obter um caldo concentrado (125g folha / 250 ml de água ardente com 39% de teor alcoólico), sendo o extrato coado e diluído em água na concentração de 1:10 e aplicado imediatamente após o preparo; fermentado da folha de crisântemo apresentando sintomas (F), na mesma proporção usada para obter o caldo, sendo as folhas trituradas e adicionando ao macerado 1 litro de água ardente com 39% de teor alcoólico completando o volume final para 5 litros, deixando esse preparado fermentar por sete dias quando iniciou as aplicações até o final do ciclo da cultura. EUC; Q; Testemunha sem aplicação (T).

As aplicações foram realizadas semanalmente, iniciadas aos 30 dias após o plantio, utilizando um pulverizador costal bico cônico. O volume aplicado foi de aproximadamente 200 ml/ m², no início do ciclo da planta chegando a 400 ml após o pleno desenvolvimento e florescimento.

¹ECOPLANET, empresa localizada em Florianópolis, SC e cedeu gentilmente o produto Planta Clean para os trabalhos realizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Controle da ferrugem branca de acordo com os tratamentos aplicados

A análise estatística revelou diferença significativa entre os tratamentos e o comportamento das variedades ao nível de 5% de significância nas épocas de plantio P5, P6, P7 e P8. A Tabela 9 mostra as médias de Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) nas épocas de plantio.

Tabela 9. Controle alternativo da ferrugem branca do crisântemo avaliado pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença em quatro épocas de plantio e 23 variedades.

VARIEDADE	AACPD - EXPERIMENTOS DE CONTROLE									
	P5-Q	P5-B	P6-Q	P6-B	P7-Q	P7-B	P7-Q+B	P8-Q	P8-B	P8-Q+B
V1	96,73	54,75	243,96	48,42	NP	NP	NP	59,04	38,26	20,43
V2	356,48	175,08	133,42	30,10	434,13	520,60	360,15	343,79	264,79	262,05
V3	67,36	20,17	73,74	53,80	100,62	129,66	69,59	174,03	115,08	87,59
V4	NP*	NP	325,88	148,66	265,86	262,40	273,41	195,20	236,48	114,84
V5	50,99	36,09	34,11	15,70	NP	NP	NP	227,17	160,51	184,72
V7	NP	NP	NP	NP	842,35	792,84	661,99	1122,09	1186,20	996,40
V9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,05	1,02	0,00
V10	257,93	196,64	502,29	60,19	467,87	252,28	182,00	476,44	483,77	364,83
V14	793,47	373,42	899,33	890,46	1004,58	1067,66	860,64	737,65	229,30	243,24
V15	291,80	229,95	186,60	122,95	404,20	350,94	396,54	242,85	260,59	166,55
V17	15,19	2,93	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
V21	618,31	383,32	830,62	596,46	887,35	929,80	865,04	555,89	880,78	791,85
V23	NP	NP	NP	NP	1705,81	1511,65	1538,93	NP	NP	NP
V25	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	1163,53	1223,29	1043,83
V26	NP	NP	840,98	345,45	NP	NP	NP	487,63	396,88	403,75
V27	94,37	61,39	62,04	14,90	241,39	164,34	156,03	74,83	36,60	71,44
V28	163,34	89,19	388,26	189,97	423,43	258,11	241,30	115,04	69,00	76,98
V31	309,06	177,52	308,04	172,21	347,20	381,21	228,10	486,74	355,22	298,40
V33	344,97	238,11	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
V34	NP	NP	NP	NP	1361,74	1087,96	1001,39	NP	NP	NP
V35	879,73	644,61	323,24	141,14	NP	NP	NP	NP	NP	NP
V36	525,89	336,41	285,45	114,81	NP	NP	NP	NP	NP	NP
V37								1206,36	1080,26	1073,78
Média Geral	304,10	188,72	502,29	60,19	606,18	550,68	488,22	451,19	412,82	364,75
Resistente (R)	Medianamente Resistente (MR)				Suscetível (S)			Altamente Suscetível (AS)		

* NP: a variedade não foi plantada neste período.

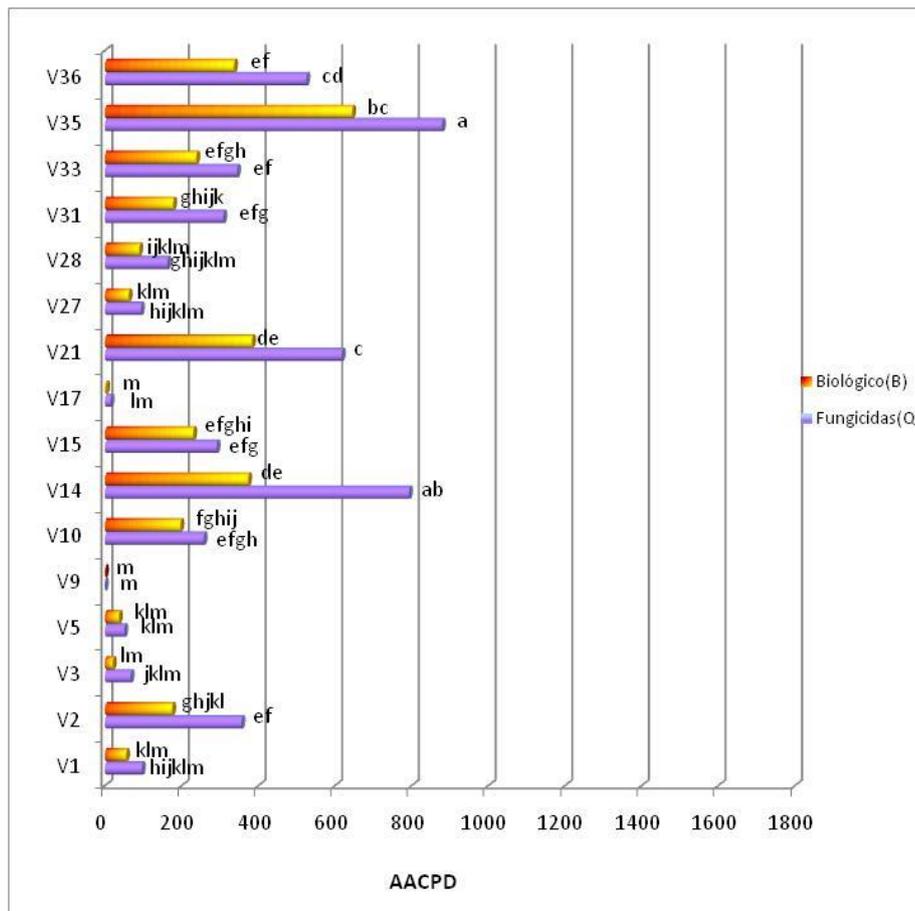
No plantio P5 em que as variedades foram tratadas com fungicida e com o composto bioativo líquido (B) verificou-se que em 100% das variedades a severidade foi menor no tratamento alternativo do que no controle com fungicida. No caso da variedade V14, que segundo a classificação dos níveis de resistência determinados na Tabela 9 é suscetível, a redução da severidade foi de 52,94% permitindo a recomendação da mesma para o cultivo nesse período desde que tratada com o produto alternativo. Semelhantemente em P7 100% das variedades apresentaram níveis de severidade inferiores quando tratadas com o composto bioativo líquido. Em algumas variedades, a redução dos níveis de severidade representada pela AACPD foi superior a 50% como é o caso da variedade V2 com redução de 50,88% e V3 em 70,05. Em alguns casos como V35 em P6 e V14 em P7 a severidade da doença reduziu em 26,73% e 10%, respectivamente, quando tratada com o composto bioativo líquido, mas essa redução não foi suficiente para beneficiar o plantio destas variedades nesta época, pois os níveis de doença mantiveram-nas entre as não indicadas.

Segundo Soares & Machado (2007), a quitosana pode induzir a resistência de plantas e segundo, além de ser uma das substâncias que induzem o acúmulo de peróxido de hidrogênio em tomate, que em determinadas concentrações está envolvida na sinalização da defesa vegetal. No tratamento de morangos em pós-colheita a quitosana diminuindo a podridão de frutos (MAZARO et al. 2008). O controle obtido nos tratamentos em crisântemo com o composto bioativo líquido pode estar relacionado com a presença de quitosana em sua composição, devido aos resíduos de peixe adicionados, atuando nos mecanismos de defesa induzindo a resistência, além de poder afetar diretamente o patógeno pela degradação enzimática da parede do fungo que é composto por quitina, reduzindo a severidade da doença. Resultados positivos com quitosana foram obtidos por Camili et al. (2007), no controle de *Botrytis cinerea* em uva Itália.

A Figura 23 mostra as médias gerais dos tratamentos por variedade no plantio P5, sendo que as mais afetadas pela doença neste plantio foram as variedades V35>V14>V21>V36, sendo que V35 e V14 foram estatisticamente iguais e diferentes de V21 e V36 que foram estatisticamente iguais entre si. Os menores índices de severidade no controle com fungicida foram observados para as variedades V9<V17<V5<V3<V27<V28 que foram estatisticamente

semelhantes. As variedades que apresentaram a menor severidade quando tratadas com fungicidas também apresentaram a menor severidade quando tratadas com composto bioativo com a vantagem de terem sido menos afetadas pela doença. A média geral de AACPD no cultivo P5 tratada com o composto bioativo foi 37,94% inferior à média geral do tratamento com fungicida. No plantio P6 a média geral de AACPD para o composto bioativo líquido foi 88% menor quando comparada com a de plantas tratadas com o fungicida. Estes dados demonstraram que o estabelecimento de uma microbiota ativa no filoplano do hospedeiro auxilia na redução da doença. O composto bioativo líquido nos períodos de P5 e P6 foi mais eficiente no controle da *Puccinia horiana* do que o manejo com fungicidas (Figuras 23 e 24).

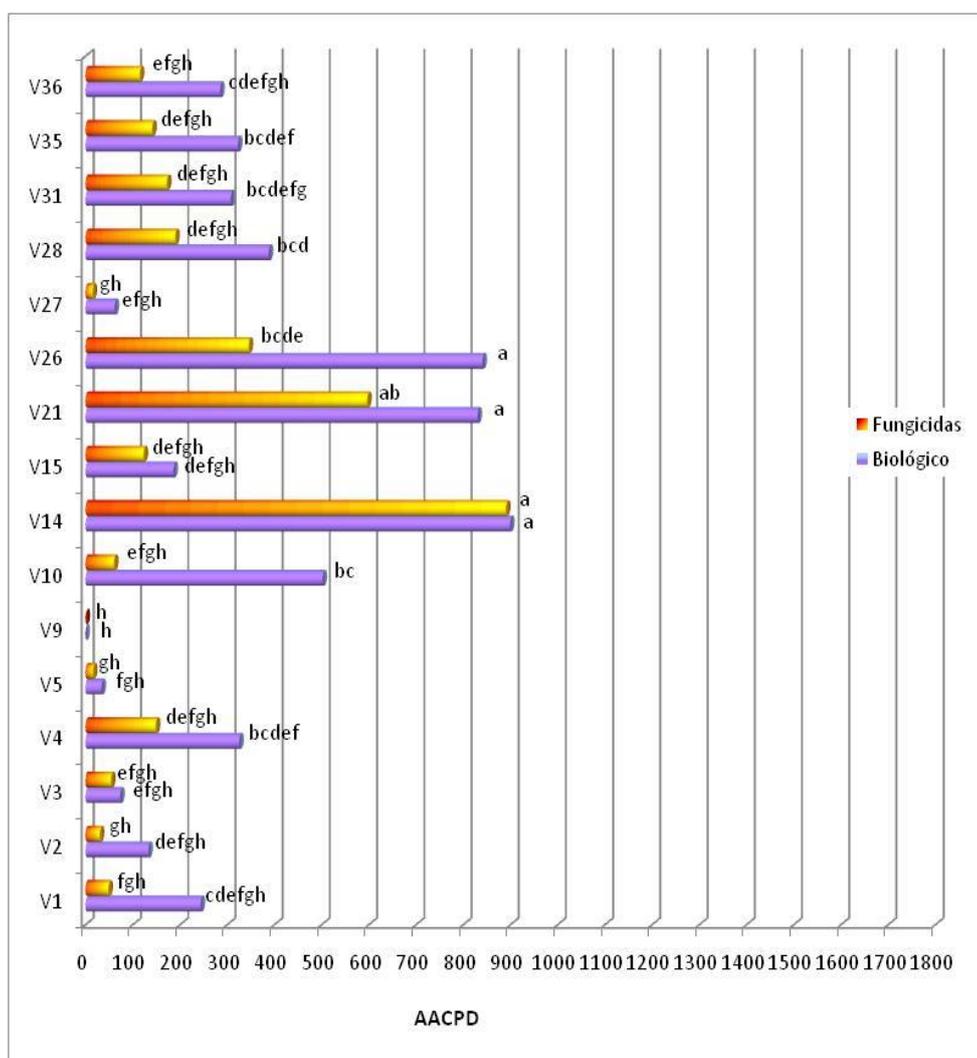
Figura 23. Severidade da ferrugem branca determinada pela AACPD em crisântemo, após tratamento com fungicidas e composto bioativo líquido (B), na época P5.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

A média geral da AACPD para as variedades tratadas com composto bioativo líquido no plantio P6 foi de 60,19 indicando que o manejo para controle da ferrugem branca foi eficiente, quando comparado com o tratamento com fungicida (Tabela 9). Dentre as 16 variedades cultivadas no plantio P6, 80% dessas, ou seja, 13 variedades mantiveram baixos níveis de doença até o final do ciclo. Com o estabelecimento do manejo para controle da ferrugem branca com composto bioativo líquido todas as variedades testadas em P7 foram recomendadas para o plantio nesta época.

Figura 24. Severidade da ferrugem branca determinada pela AACPD em crisântemo, após tratamento com fungicidas e composto bioativo líquido (B), na época P6.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

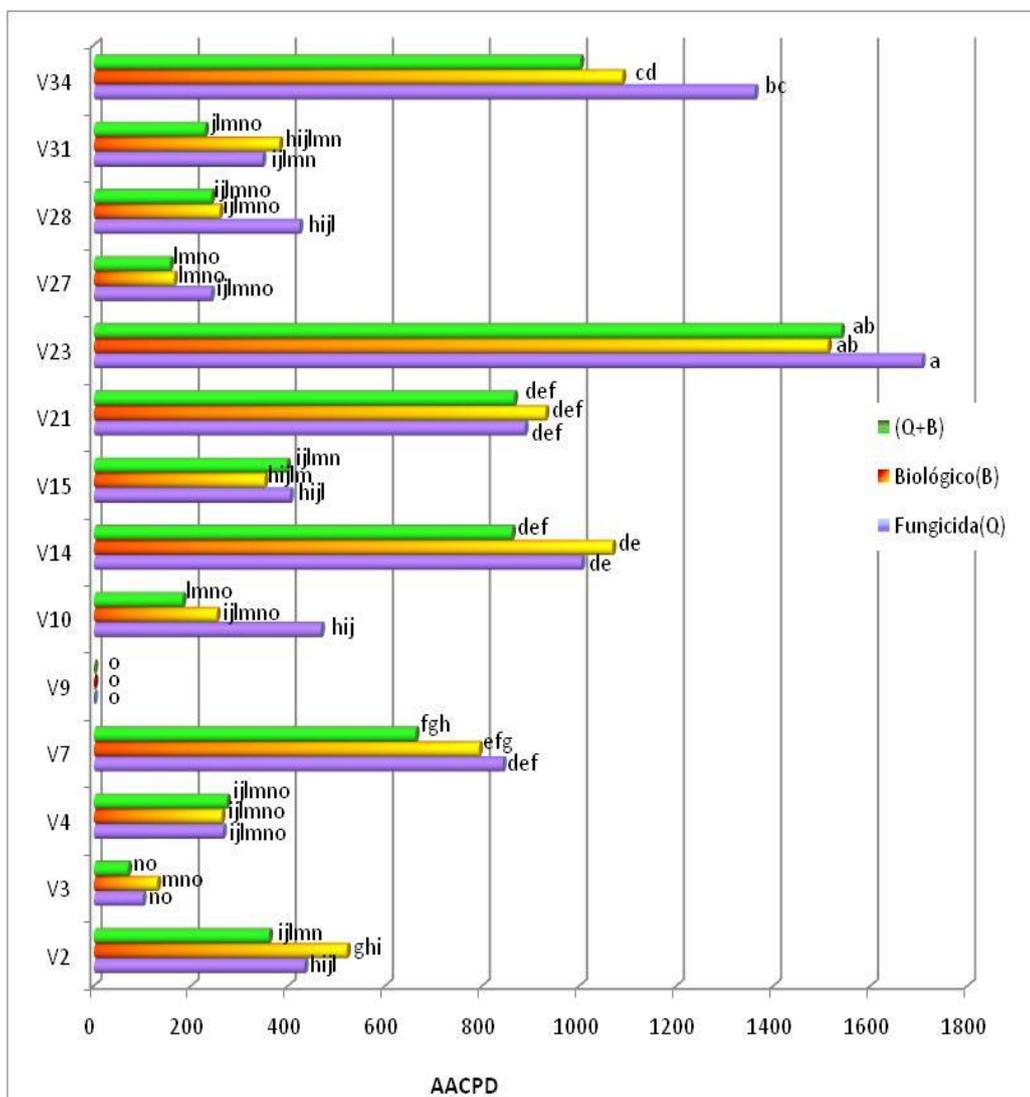
A combinação de fungicida e composto bioativo líquido (Q+B), no plantio P7, foi mais eficiente no controle da ferrugem branca quando comparado com os produtos utilizados isoladamente para as variedades V2, V3, V10, V27, V28, V31, V7, V14, V21 e V34 apesar de não ter reduzido nessas três últimas os índices de severidade para níveis satisfatórios (Tabela 9 e Figura 25). No geral a média de severidade no período P7 foi superior a severidade observada nos períodos anteriores demonstrando a influência do ambiente na severidade da doença, apesar das alterações de manejo para o controle da ferrugem branca.

Em 93% das variedades cultivadas no P7 não houve diferença entre os tratamentos, mas em 86% a redução da severidade foi maior quando as variedades foram tratadas com a combinação Q+B (Tabela 9 e Figura 25). Considerando o cultivo P8, com os mesmos tratamentos realizado para P7, em 94% das variedades esses também não diferenciaram entre si na mesma variedade, mas em 71% a menor severidade foi observada em Q+B (Tabela 9 e Figuras 26). Esses resultados demonstram a importância e eficácia da introdução de medidas alternativas em sistemas comerciais de produção de crisântemo que podem reduzir os custos de produção e beneficiar o ambiente. Esses efeitos podem ser devido a promoção da atividade biológica no filoplano, a supressão do patógeno e/ou indução de resistência no hospedeiro. As variedades V23 e V34 apresentaram índices muito altos de severidade e dentre os tratamentos testados nenhum apresentou eficiência de controle compatível para recomendação dessas variedades para plantio no período P7. Para a V23 nenhum tratamento diferiu estatisticamente entre si, em geral com alta severidade apresentada nos períodos, expondo a fragilidade genética dessa variedade à ferrugem branca.

Para o período P8 os fungicidas nas variedades V2, V4, V5 e V15, o composto bioativo para as V2, V4, V14, V15, V31 e a combinação dos tratamentos nas variedades V2, V5, V10, V14 e V31 foram estatisticamente semelhantes (Figura 26). Para a variedade V2 os tratamentos não diferiram entre si, mas quando as plantas foram tratadas com a combinação Q+B houve menor severidade da doença. As maiores médias de severidade foram observadas para os tratamentos entre parênteses nas variedades V25(B)> V37(Q)> V7(B)> V25(Q)> V7(Q)> V37(B)> V37(Q+B)> V25(Q+B)> V7(Q+B)> V21(B) consideradas estatisticamente semelhantes. Verifica-se que não houve diferença estatística

entre os tratamentos em V7, V25 e V37 (Figura 26). As menores médias de severidade foram observadas nas variedades V9, V1, V27 e V28. A variedade V9 neste período apresentou algumas pontuações amarelas semelhantes a pústulas que foram investigadas e podendo tratar-se de reação de hipersensibilidade, devido à necrose das células sem, no entanto, terem sido observadas estruturas do fungo, esse fato será abordado mais claramente no Capítulo III.

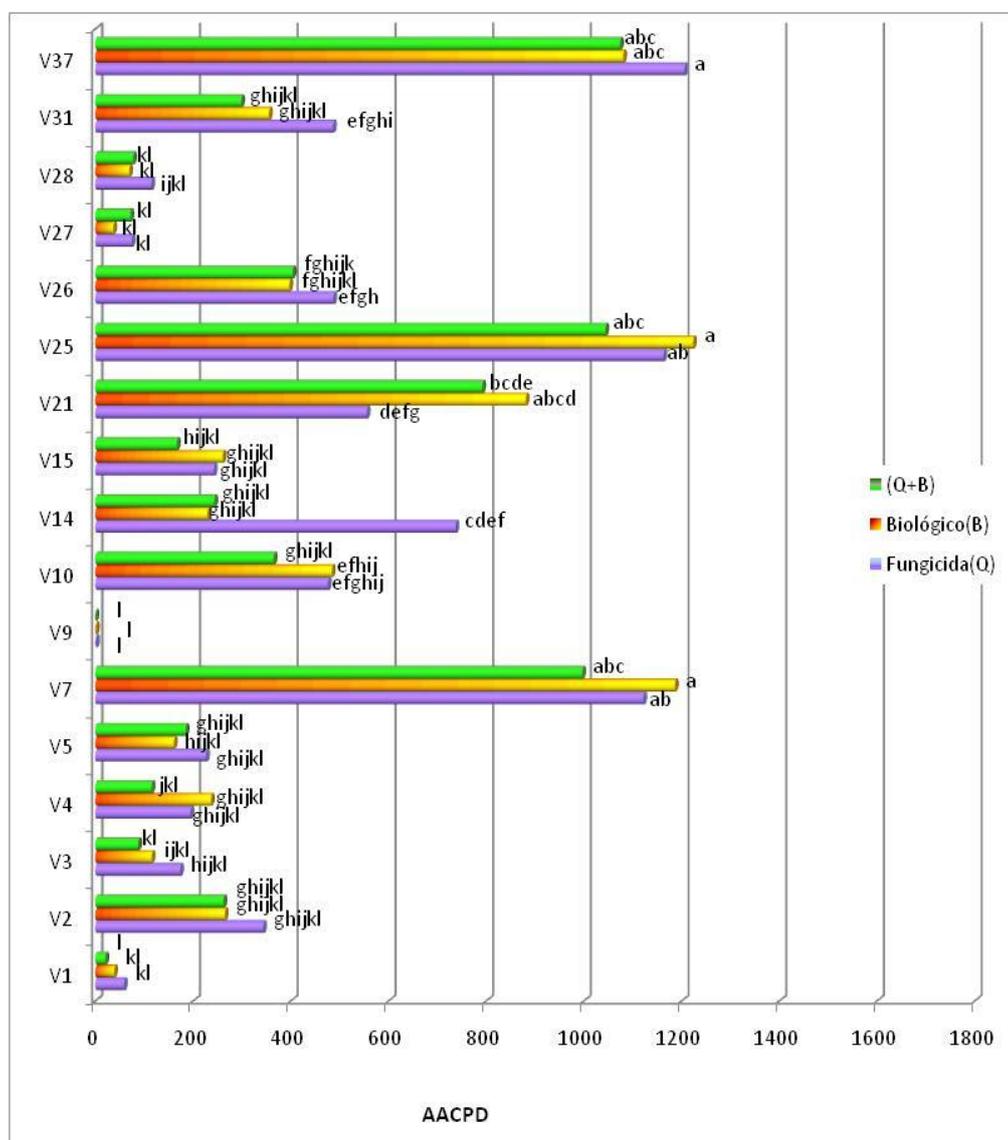
Figura 25. Severidade da ferrugem branca nos tratamentos, determinada pela AACPD em crisântemo, na época P7.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Em P8, a menor média geral de AACPD foi observada no tratamento Q+B, e a menor severidade foi verificada em 58,82% das variedades quando tratadas com a esta combinação. Em 35% das variedades o controle com o composto bioativo foi mais eficiente no período P7. Somente a variedade V21, no P8, teve menor severidade quando tratada quimicamente, mas a redução não resultou em um controle efetivo que favorecesse a recomendação da mesma para plantio neste período (Figura 26 e Tabela 9).

Figura 26. Severidade da ferrugem branca, nos tratamentos, determinada pela AACPD em crisântemo, na época P8.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Na Tabela 10 observa-se a severidade da doença nos respectivos tratamentos entre as variedades cultivadas no período P9.

Tabela 10. Severidade da ferrugem branca representada pela AACPD nas variedades e tratamentos avaliados no terço médio (tm) e terço inferior(bx), no período P9.

VARIEDADES	AACPD- CONTROLE PERFIL-P9				
	Q	B	EUC	EXTTaq	PC
V21tm	175,09	279,05	328,23	700,03	201,67
V21bx	53,72	113,58	193,99	270,27	68,88
V10tm	154,35	236,28	503,10	574,11	163,03
V10bx	65,54	123,39	174,38	203,94	113,88
V2tm	10,35	51,81	166,53	220,02	74,71
V2bx	32,67	118,96	119,48	153,47	57,26
V39tm	35,85	116,98	140,02	348,93	116,26
V39bx	44,14	86,88	116,19	129,50	89,98

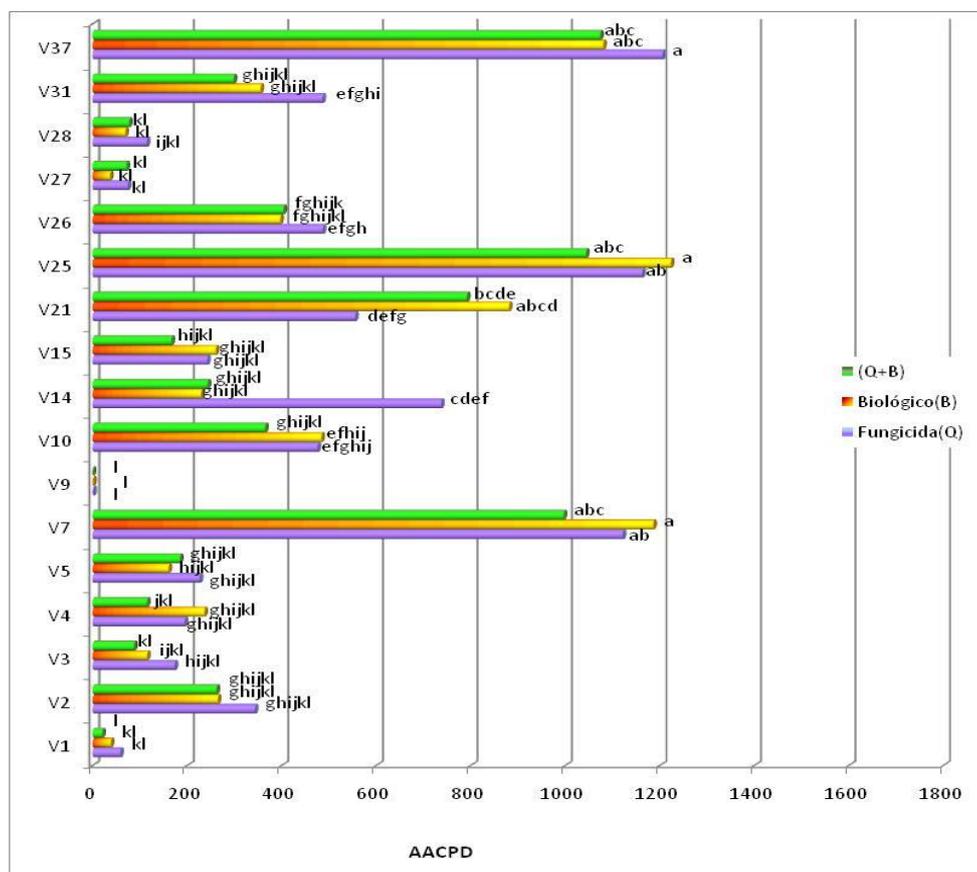
Dos tratamentos realizados em P9, a maior severidade foi observada nas plantas submetidas ao extrato aquoso de crisântemo (Tabela 10). Para todas as variedades, tanto nas avaliações no terço mediano, quando no terço inferior, o tratamento com extrato aquoso de crisântemo não foi eficiente, havendo diferença estatística no comportamento entre as variedades (Figura 27). Estudos realizados por Garcia et al. (1999) com extratos de crisântemo de variedade suscetível, resistente e imune, mostraram que houve diferença nos compostos antimicrobianos. As plantas foram tratadas por hidrólise alcalina e as diferenças apresentadas foram consideradas suficientes para diferenciar a resistência das variedades. Para elaboração do extrato aquoso da planta resistente, a água foi utilizada como extrator, e certamente não foi eficiente para evidenciar os componentes antifúngicos no extrato da planta.

Em todas as variedades o tratamento químico foi estatisticamente semelhante ao tratamento com o Planta Clean (PC) demonstrando que é possível substituir produtos químicos por outros menos nocivos que estão disponíveis no mercado (Tabela 10 e Figura 27). O produto Planta Clean têm uma recomendação generalizada para pragas e doenças. Através desse trabalho foi

possível verificar que há possibilidade de controle satisfatório da ferrugem branca do crisântemo com este produto. No geral, o extrato aquoso de crisântemo e o óleo de eucalipto não foram eficientes no controle da doença (Figura 27 e Tabela 10). Segundo Falkenberg et al. (2007), a extração de determinadas substâncias pode ser influenciada pelo pH do líquido extrator, além do tipo de solvente. A água geralmente extraem saponinas e taninos, e a água acidificada extrai preferencialmente alcalóides. É provável que no extrato aquoso de crisântemo, o extrator não foi adequado para remover as substâncias capazes de afetar o fungo. Dias et al. (2006) demonstraram a atividade do extrato bruto etanólico de flores *Aster lanceolatus* Willd. contra patógeno, por exemplo, *Fusarium oxysporum* e *Cylindrocladium spathulatum*. Plantas da família Asteraceae pode ser fonte de constituintes químicos capazes de servirem como protótipos para novos agentes terapêuticos e para tratamento sanitário de plantas medicinais, exigindo no caso de crisântemo estudos mais detalhados. Segundo Medeiros et al. (2003), as saponinas são dependentes de pH maior ou em torno de 6,0 para mostrar atividade. Não foi identificada se havia substância eficiente para o controle da ferrugem branca na variedade resistente, devendo ser objeto de estudos posteriores.

Em relação ao óleo de eucalipto, Medice et al. (2007) observaram que a aplicação do óleo de eucalipto reduziu a germinação dos esporos e controlou a ferrugem asiática em soja. A alta severidade observada nos tratamentos de variedades de crisântemo com óleo de eucalipto permite afirmar que este não controla a *P.horiana*. Bonaldo et al. (2004) avaliaram o potencial de *Eucalyptus citriodora* no controle da antracnose em pepino, foi verificado que houve inibição total na germinação de esporos e formação de apressórios de *Colletotrichum lagenarium* em concentrações de 20% e 1% do (EA) autoclavado. Para o extrato não autoclavado, os mesmos autores verificaram que houve 75% de inibição da germinação de esporos em 25% do (EA) e inibição total da formação de apressórios em 15% do EA. Esses resultados indicam a necessidade de ampliar os horizontes experimentais para o âmbito real de produção, pois os dados obtidos em laboratório podem não ser representativos para as condições de campo.

Figura 27. Severidade da ferrugem branca, nos tratamentos, determinada pela AACPD em crisântemo, na época P9.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

O tratamento com o composto bioativo líquido manteve nas variedades V10, V2 e V39 os níveis de severidade dentro dos intervalos recomendáveis conforme critério de severidade estabelecido no capítulo I (Tabela 7 e 9).

As avaliações no terço inferior apresentaram, em geral, severidade da doença menor do que no terço mediano (Tabela 10).

No plantio P13 as plantas foram tratadas também com óleo de eucalipto, mas somente a variedade V2 foi conduzida até o final do ciclo. O tratamento com óleo de eucalipto na V10 foi substituído acidentalmente pelo óleo de *Corymbia citriodora* aos 45 dias após o plantio e o resultado foi a queima total das folhas tratadas, imediatamente após a aplicação que tornaram-se arroxeadas e posteriormente morreram ficando somente os ramos. A concentração aplicada foi a mesma, mas o princípio ativo apresentou esse efeito fitotóxico (Tabela 11).

As variedades V2Am e V21 apresentaram severidade muito alta aos 50 dias após o plantio havendo necessidade de intervenção do produtor com fungicida ciproconazol, para evitar maiores perdas econômicas. Os dados da Tabela 11 são uma estimativa da severidade da doença nos tratamentos, já que não houve possibilidade de tratar às variedades, conforme o experiente até o final do ciclo, pelas perdas econômicas que resultariam para o produtor. Considerando a estimativa das médias aos 75 DAP, os tratamentos que apresentaram menor severidade da doença foram com Planta Clean para as variedades V10, V21 e V2Am (Tabela 11).

Para a variedade V2 a ordem crescente de severidade conforme os tratamentos foi Planta Clean < Biológico < Químico < óleo de eucalipto que não diferiram estatisticamente entre si, mantendo a severidade em níveis inferiores a 150.

O tratamento com fermentado apresentou em V2 e V10 severidade superior à observada na testemunha. É possível que tenha ocorrido uma quebra de dormência de esporos por algum componente da solução, como no caso do óleo de eucalipto.

Para V10 o tratamento com Planta Clean foi o mais eficiente e apesar de estatisticamente igual ao controle com fungicidas apresentou uma severidade 70% menor do que quando tratada com o composto bioativo líquido.

Tabela 11. Severidade da ferrugem branca do crisântemo representada pela AACPD nas variedades e tratamentos do cultivo P13.

VARIEDADE	AACPD-CONTROLE- P13						
	PC	B	EXTTalc	FERM	EUC	Q	T
V2-60DAP	65,58	81,93	387,98	454,25	135,09	84,03	233,92
V2-75DAP	140,96	190,69	731,43	847,16	315,57	183,74	485,07
V10-60DAP	11,09	92,63	113,71	271,49	1,05	27,36	182,03
V10-75DAP	20,09	231,76	216,16	558,14	1,05	67,48	339,34
V2Am-60DAP	61,30	203,39	303,14	289,12	305,03	139,33	325,17
V2Am-75DAP	61,30	203,39	303,14	289,12	305,03	139,33	325,17
V21-60DAP	34,88	95,33	76,00	145,90	245,67	118,72	339,03
V21-75DAP	47,71	95,33	76,00	145,90	245,67	118,72	339,03

CONCLUSÕES

1. O composto bioativo líquido é uma alternativa para o controle da ferrugem branca do crisântemo.
2. O óleo de eucalipto (*E. globulus*) não ofereceu controle satisfatório *in vivo* para a ferrugem branca.
3. O óleo de *Corymbia citriodora* causou fitotoxidez às plantas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*).
4. O produto comercial Planta Clean ofereceu controle satisfatório da ferrugem branca do crisântemo em substituição ao controle químico.
5. O extrato aquoso e alcoólico de folhas de crisântemo não controlaram a ferrugem branca.

Mecanismos de resistência do crisântemo à *Puccinia*
horiana

INTRODUÇÃO

A interação hospedeiro-patógeno deve ser visualizada como um sistema único, que depende da planta, do patógeno e do ambiente. A resistência de um hospedeiro, dentro do contexto da fisiologia do parasitismo, pode ser definida como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos (PASCHOLATI & LEITE, 1995). A resistência é de longe o mecanismo mais importante na defesa contra patógenos. Geralmente esse mecanismo é de natureza química, em que o hospedeiro pode resistir ao parasita diminuindo seu crescimento ou tolerando sua presença sem sofrer danos (VALE et al. 2001)

A primeira etapa da reação de resistência é o reconhecimento tanto da planta pelo patógeno e vice-versa. Se esse reconhecimento se dá tardiamente, a interação resultará em suscetibilidade, mesmo que os mecanismos de defesa tenham sido ativados, portanto um dos pontos chave para que a interação resulte em resistência é o reconhecimento em tempo hábil (MEDEIROS et al. 2003).

A nutrição vegetal está intimamente relacionada com a estrutura anatômica e bioquímica do vegetal, com efeito sobre a resistência de plantas ao ataque de pragas e doenças (CHABOUSSOU, 1977; SILVA et al. 2005; SILVEIRA et al. 2006). O manejo em geral exerce influência sobre as características estruturais do vegetal (SILVA et al. 2005). Dada a variabilidade existente no gênero *Dendranthema*, é possível que a combinação dos caracteres hereditários explorados na seleção de variedades tenha convergido para diferenças anatômicas entre as variedades do gênero.

As alterações morfológicas da planta ligadas a diversos fatores podem influenciar na severidade de doenças considerando principalmente a parede celular, cutícula, distribuição celular e estômatos. Segundo Silva (2005), espessura da cutícula pode limitar a saída e entrada de inóculos de plantas infectadas; cera epicuticular pode proporcionar resistência a patógenos que dependem da água para germinar ou multiplicar, pois impede ou dificulta a formação de um filme de água contínuo sobre a superfície foliar. Um exemplo é

a quantidade diferenciada de sintomas de sarna da macieira em tecidos vermelhos e verdes. Estes últimos se mostram isentos devido à molhabilidade dificultada pela maior espessura da cutícula neste local (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

A cutícula pode ser uma barreira tóxica além de funcionar como uma barreira estrutural. Substâncias antifúngicas estão presentes na cutícula de frutos de macieira, folhas de fumo e algodão (PASCHOLATI & LEITE, 1995). Vários patógenos como *Fusarium moniliforme*, *F. solani* f. sp. *pisi*, *Erysiphe* sp., *Rhizoctonia solani*, *Cladosporium cucumerinum*, *Botrytis cinerea*, *Venturia inaequalis*, *Alternaria brassicicola* e *Colletotrichum gloesporioides* são produtores de cutinases que auxiliam na penetração da cutícula, além de facilitar outros processos de infecção. A importância do papel da cutícula na resistência de plantas a patógenos foi demonstrada em patossistemas como pimentão X *Phytophthora* (BILES et al. 1993), mostarda X *Rhizoctonia* (YANG et al. 1992), feijão X *Rhizoctonia* (STOCKWELL & HANCHEY, 1983), (citados por MEDEIROS et al. 2003).

No crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.) é desconhecido o tipo de resposta da planta em relação ao ataque por *Puccinia horiana* Henn., fungo causador da ferrugem branca do crisântemo, mas dentro da família *Asteraceae* (= *Compositae*), foram identificados grande número de metabólitos poliacetilênicos tipo e isoprenóides. (Christensen y Lam, 1991; Christensen, 1992 y Maciver, op. cit., apud GARCÍA et al. 1998). Em *Artemisia* foi demonstrada a presença de diversos grupos de flavonóides e uma cumarina como constituintes em exsudados da planta (VALANT-VETSCHERA et al. 2003).

Norman et al. (1996), sugeriram que os mecanismos de defesa de *Dendranthema grandiflora* são do tipo estrutural, pré-existent ou induzidos. Os resultados encontrados pelos autores da distribuição dos níveis de dano por variedades sugerem uma correlação negativa com a possibilidade de produção de compostos antimicrobianos específicos por planta hospedeira, de tal maneira que o maior nível de dano corresponda uma menor produção destes compostos.

Uma reação histológica importante no contexto dos mecanismos de defesa é a impregnação das paredes das células e dos espaços intercelulares vizinhos a tecidos infectados ou mortos com substâncias fenólicas, geralmente de composição próxima à da lignina (MEDEIROS et al. 2003).

O produto das funções fisiológicas é responsável pela constituição química das células provenientes dos metabolismos primário e secundário. Os metabólitos secundários diferem dos metabólitos primários (aminoácidos, nucleotídeos, açúcares) e apresentam distribuição restrita no reino vegetal, ou seja, são específicos à uma espécie vegetal ou a um grupo de espécies relacionadas, enquanto metabólitos primários são encontrados em todo reino vegetal. Os metabólitos secundários desempenham funções importantes nos vegetais como a proteção contra microrganismos patogênicos e herbivoria, também estão relacionados com a atração de agentes polinizadores e dispersores de sementes, bem como agentes na competição planta-planta (TAIZ & ZEIGER, 2006). Compostos secundários presentes em plantas medicinais também desempenham funções importantes em interações planta-patógeno, por ação antimicrobiana direta ou induzindo a síntese de mecanismos de defesa em outras plantas (BONALDO et al. 2007).

As substâncias bioativas sintetizadas pelos vegetais e algas marinhas geralmente são provenientes do metabolismo secundário, podendo citar os fenóis, terpenos e polipeptídeos (POSER & MENTZ, 2000). Os fenóis são compostos derivados de um anel fenólico e quanto maior for seu grau de hidroxilação, maior sua toxicidade para microrganismos (TALAMINI & STADNIK, 2004).

Fatores de resistência, relacionados à interferência no progresso do patógeno nos tecidos, podem envolver células individuais sob o ataque do patógeno e tecidos normalmente distantes do sítio de penetração. As reações bioquímicas que ocorrem nas células do hospedeiro produzem substâncias tóxicas ou criam condições adversas para o crescimento do patógeno no interior da planta (PASCHOLATI & LEITE, 1995). Como exemplo, a presença de fenóis nas escamas de bulbos de alho que protegem a epiderme e em plantas de trigo resistentes a *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*; o ácido clorogênico em cafeeiro e batata resistentes a *Ceratocystis fimbriata* e *Streptomyces*

scabies, respectivamente, que também estão associadas a resistência (MEDEIROS et al. 2003).

As fitoalexinas pertencem a diferentes classes químicas incluindo os fenóis do tipo flavonóides e terpenóides dentre outros. Diversos estudos demonstram a capacidade antifúngica destes componentes, afetando o desenvolvimento, restringindo a multiplicação de bactérias, acumulando-se no local e no tempo apropriado para causar a inibição do patógeno nos tecidos do hospedeiro (PASCHOLATI & LEITE, 1995). Segundo Bonaldo et al. (2004), o extrato aquoso de folhas de *Corymbia citriodora* induziu a síntese de fitoalexinas em sorgo a partir da concentração de 1%.

Puccinia horiana é um patógeno obrigatório capaz de penetrar diretamente na cutícula e parede celular epidérmica (WHIPPS, 1993), sem necessitar de aberturas naturais, assim como ocorre em outras espécies vegetais afetadas por *Puccinia*, como exemplo a *P. hemerocallidis* (LI et al. 2007). As barreiras enfrentadas pelo patógeno podem estar nos componentes estruturais como cutícula, parede celular epidérmica, nos metabólitos secundários, ou seja, mecanismos pré e pós-formados que estão ligados às características do hospedeiro. Pretende-se com a realização desse estudo encontrar indícios dos mecanismos envolvidos na defesa do crisântemo contra a ferrugem branca por meio das análises anatômicas e histoquímicas comparativas de variedades de *Dendranthema grandiflora*. As técnicas de histoquímica possibilitam observar a presença e localização de substâncias químicas nos tecidos, ou seja, componentes bioquímicos relacionados à defesa como os alcalóides e compostos fenólicos. O comportamento diferenciado das variedades em relação aos danos evidenciados pela *P. horiana*, frente ao mesmo ambiente e pressão de inóculo justifica esse estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Anatomia e histoquímica de *Dendranthema grandiflora*

Os estudos de anatomia e histoquímica de variedades de crisântemo foram realizados no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Biologia (IB), na Universidade de Brasília.

Para essa pesquisa, foram selecionadas cinco variedades com diferentes níveis de severidade à *Puccinia horiana*, a saber: Mini Margarida Amarela (MMA), Capello (C), White Reagan (WR), Rose Reagan (RR) e Spitoven Amarela (SA). Tomou-se como padrão de comparação a variedade Capello, que não apresentou sintoma da doença em nenhuma das épocas do ano. O objetivo desse trabalho foi identificar indícios do mecanismo de defesa das plantas contra o patógeno, para orientar novos estudos. Os níveis de resistência das variedades selecionadas foram: (C) resistente; (MMA) medianamente resistente; (SA) medianamente suscetível; (WR) suscetível e (RR) altamente suscetível.

A coleta de material vegetal foi realizada na área de plantio comercial de crisântemo em Brazlândia/DF, chácara INCRA 6, efetuada na fase de pleno florescimento, na altura do terço médio da planta, no período de setembro de 2007 a fevereiro de 2008. Foram utilizadas para os testes de três a cinco folhas de indivíduos diferentes, em três períodos diferentes, assegurando as repetições.

1. Corte Paradérmico

Para o estudo da epiderme foram confeccionadas lâminas em corte paradérmico de folhas frescas coletadas e acondicionadas em sacos plásticos borrifadas com água para serem transportadas para o laboratório. No laboratório as folhas foram cortadas em fragmentos de aproximadamente 0,5 X 0,5 cm e imersos na Solução de Franklin (KRAUS & ARDUIN, 1997) e mantidos em estufa a 40°C até a dissociação das células do mesófilo e separação da epiderme. O período de aproximadamente 48 horas foi suficiente

para visualizar a descoloração do material e separação das duas faces da epiderme.

O material foi transferido para água e lavado, para remoção de resíduos de células do mesófilo com pinceladas suaves. O material foi transferido para álcool 50% para ser submetido à coloração. Aos fragmentos de epiderme em álcool 50% foram adicionados gotas do corante azul de Alcian e Safranina (5:1 - etanólico) até saturar, deixando imersos por 20 minutos, quando se observou coloração intensa dos cortes paradérmicos. Após este período os fragmentos foram lavados por uma série gradativa alcoólica nas concentrações de 70%, 90% e a última com 100% por duas vezes. Foi removida a solução de álcool 100% e adicionado em seguida a solução de acetato de butila e álcool (1:1) e acetato de butila puro para montagem da lâmina.

A montagem das lâminas foi efetuada com verniz vitral incolor marca Acrilex, para obtenção de lâminas permanentes, conforme preconizado por Paiva et al. (2006) para outros tipos de cortes, em detrimento da montagem com glicerina ou gelatina glicerinada, que são recomendados para montagem de cortes paradérmicos (KRAUS & ARDUIN, 1997). Para isto, foi feita uma adaptação metodológica, em que os cortes imersos na solução etanólica foram submetidos a uma seqüência gradativa de álcool 70%, 90% e 100% (duas vezes), acetato de butila e álcool 1:1 e acetato de butila puro, finalizando com a montagem da lâmina com o referido verniz. As observações foram feitas em microscópio óptico.

Determinou-se o número de estômatos por mm^2 por contagem em microscópio óptico Zeiss Axiophot de 40 campos visuais a um aumento de 400X, dos fragmentos de corte paradérmico das faces abaxial e adaxial, separadamente. A área visualizada no campo microscópico foi determinada medindo-se o diâmetro deste campo com lâmina micrométrica em objetiva de 40X para aplicar a fórmula de área de uma circunferência, sendo: O valor de π (pi) multiplicado pelo quadrado do raio (R^2) da circunferência, definindo a área.

$$A = \pi \cdot R^2 \text{ (0, 2475 } \mu\text{m)}$$

$$A = 0,7697 \mu\text{m}^2 \text{ (área do campo visual microscópico).}$$

2. Inclusão de parafina no tecido vegetal

Para o preparo de lâminas permanentes em parafina (JOHANSEN, 1940), o material vegetal fresco, de cinco folhas de indivíduos diferentes por variedade, foi cortado em fragmentos de aproximadamente 1,0 X 0,8 cm na porção mediana da folha tomando como referência a nervura central. Para o tecido doente foram utilizados fragmentos dos locais lesionados em vários graus de infecção.

O material foi fixado em FAA 50 e colocado em dessecador a vácuo por aproximadamente 48 horas. Para a desidratação foi empregada uma seqüência alcoólica gradativa crescente 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100% (2 vezes), com intervalos de uma hora para cada troca.

A etapa de diafanização foi realizada com xilol:etanol nas proporções 3:1, 1:1 e xilol puro por duas vezes, substituindo todo conteúdo celular por xilol. A inclusão em parafina, fase final que prepara o material para os cortes e preenche todo tecido com parafina, foram adicionadas pastilhas de Histosec periodicamente até saturar a solução de xilol. O material foi colocado em estufa a vácuo com temperatura de 56-60°C visando fundir a parafina e promover a penetração gradativa no tecido vegetal. A solução de xilol com parafina foi substituída por parafina líquida em sucessivas trocas até assegurar a remoção completa do xilol.

O material vegetal incluído em parafina foi montado em blocos para realização dos cortes seriados em micrótomo rotatório Leica RM-4125. As fitas de corte produzidas no micrótomo foram cuidadosamente fracionadas com bisturi a fim de se adequarem ao comprimento da lamínula. Previamente as lâminas foram untadas com o adesivo HAUPT A, sendo colocadas para secar e depois foram cobertas com HAUPT B (KRAUS & ARDUIN, 1997). As lâminas com as fitas foram mantidas em uma chapa aquecida a 45°C até a distensão e adesão dos cortes à lâmina e secagem da solução de HAUPT B. Para complementação do processo as lâminas foram deixadas em estufa a 45°C por 24h.

O processo de coloração utilizado foi a coloração dupla com safranina e "fast green". O material foi mantido em trocas sucessivas de xilol por 10, 3 e 3 minutos para a desparafinização. Os cortes foram hidratados com uma série

gradativa de álcool 100-90-80-70-60-50% e imersos em safranina alcoólica 50% durante no mínimo 6h. O material foi submetido a uma nova seqüência alcoólica de 50-60-70-80-90-100% para desidratação e imersão rápida em “fast green”. As lâminas foram imersas em xilol:etanol 1:1, xilol puro e xilol:fenol 1:1 por 3 vezes. Algumas gotas de verniz vitral foram adicionadas sobre a lâmina ainda molhada com o xilol, que serviu de solvente do verniz. A lamínula foi colocada sobre a lâmina, mantendo entre as porções de vidro os cortes assim protegidos e aderidos permanentemente.

3. Testes Histoquímicos

Foram realizados testes para verificar a presença e localização de lipídios, amido, pectina, lignina, celulose, compostos fenólicos, alcalóides e taninos nas folhas das variedades de crisântemo.

Para todos os testes histoquímicos utilizou-se tecido vegetal fresco, ou seja, sem qualquer tratamento, cortado em micrótomo de mesa com espessura de aproximadamente 20 µm. Os cortes foram colocados em água, procedendo-se as reações conforme descrição de Kraus & Arduim (1997), seguido de observação sob microscópio óptico e de fluorescência de acordo com cada recomendação.

3.1. Compostos graxos

Os testes utilizados para verificação da presença de camada externa às células epidérmicas, composta pela cutina e ceras epicuticulares, além de grânulos de lipídios e gorduras nos interior das células, foram os de Sudam III e Sudam IV.

a. Sudam III

Cortes frescos imersos em álcool 50% foram transferidos para vidros de relógio adicionando o reagente Sudam III por 20 minutos. Posteriormente os cortes foram lavados em álcool 80% e montados em lâmina com glicerina 50% coberta com lamínula, para visualização no microscópio óptico. A coloração observada para presença de compostos graxos deverá ser amarelo-alaranjado.

b. Sudam IV

Os corte para esta reação foram imersos em álcool 70% seguindo os mesmos procedimentos posteriores executados para reação de Sudam III. A coloração observada para os compostos graxos nesta reação é vermelha, quando positiva.

3.2. Celulose

Em todas as reações para identificação de celulose nos tecidos da folha, os cortes foram transferidos da água para lâmina, posteriormente adicionado o reagente.

a. Lugol-ácido sulfúrico

O teste foi baseado nametodologia empregada por Purvis et al. (1964, p. 152), modificado por Kraus e Arduim, (1997, p.135). Aos cortes frescos foram adicionadas gotas do reagente lugol permanecendo por 5 minutos. Em capela, gotas de ácido sulfúrico 70% foram adicionadas lentamente, observando em seguida o material em microscópio óptico. A reação faz com que as paredes celulósicas tornem-se inchadas e assumam coloração azul brilhante.

b. Cloreto de Zinco iodado

Aos cortes frescos foram adicionadas gotas de cloreto de Zn iodado foram adicionadas, aguardando 1 a 2 minutos. Substituiu-se o reagente por glicerina 50% acrescentada na borda da lamínula, absorvendo com papel de filtro na outra extremidade o cloreto de Zn iodado. Ao observar no microscópio óptico, a coloração assumida pela parte do material com presença de celulose deverá ser azul-acinzentado, lignina de amarelo e amido de cor negra azulada.

3.3. Lignina

Aos cortes foram adicionadas gotas do regente de floroglucinol acidificado nas bordas da lamínula para observação imediata ao microscópio óptico. O tecido lignificado deverá evidenciar a coloração vermelha. O teste de floroglucinol acidificado não é específico, podendo também corar suberina, além da lignina.

3.4. Pectina

Utilizando os cortes parafinados (item 1.3.) até a etapa precedente à coloração, as lâminas foram imersas em azul de metileno aquoso a 1% por 5 minutos, sendo em seguida lavadas com água destilada 3 vezes por 1 minuto cada. Corou-se em vermelho de rutênio preparado na ocasião (0,02% em água destilada) por 5 minutos. Lavou-se 3 vezes por um minuto. As lâminas foram secas ao ar ou estufa a 40°C, desparafinizadas com xilol duas vezes por 30 minutos cada. As lâminas foram montadas em verniz vitral (Paiva et al. 2006).

3.5. Compostos fenólicos

Foram realizados testes diferentes para verificar a presença de compostos fenólicos, que possivelmente detectam diferentes classes.

a. Dicromatos de Potássio

Este reagente detecta a presença de compostos fenólicos gerais. Os cortes frescos foram mantidos em uma solução aquosa de dicromato de potássio a 10% (Gabe, 1968; Fank-de-Carvalho & Graciano-Ribeiro, 2005) durante 30-60 minutos, lavando em seguida em água, prosseguindo a montagem em glicerina 50% para observação em microscópio óptico. A coloração castanho-avermelhada evidencia a presença de compostos fenólicos.

b. Cloreto de Ferro

O cloreto férrico atua em outras classes de compostos fenólicos, inclusive taninos. Os cortes montados em lâmina com lamínula receberam gotas do reagente nas bordas até o completo preenchimento do espaço sob a lamínula, mantendo por 1 a 2 minutos. O reagente foi substituído por glicerina 50% em água, absorvendo o mesmo com papel de filtro na extremidade oposta a adição da glicerina. A coloração negro-azulada ou verde escura evidencia compostos fenólicos e/ou taninos.

b. Fluorocromos

Para evidenciar os flavonóides através dos fluorocromos sob luz UV foram realizados os testes com acetato de chumbo aquoso a 3% e reagente de Wilson (CHARRIÈRE-LADREIX, 1976; FANK-DE-CARVALHO & GRACIANO-RIBEIRO, 2005). As reações histoquímicas foram analisadas e fotografadas no microscópio Olympus BX-40, equipado com fluorescência.

3.6. Taninos

Para evidenciar taninos, foram realizados teste com vanilina clorídrica 0,5% em ácido clorídrico a 9% (Mace & Howell 1974 *apud* ASCENSÃO, 2003; FANK-DE-CARVALHO & GRACIANO-RIBEIRO, 2005). Os cortes em água foram transferidos para o reagente permanecendo por 10 minutos, seguido da montagem da lâmina em glicerina 50% em água. Os taninos coram de vermelho.

3.7. Alcalóides

Foram utilizados os reagentes de Dittmar (FURR & MAHLBERG, 1981) e Dragendorff (Svendsen & Verpoorte, 1983, *apud* ASCENSÃO, 2003) que permite detectar o azoato terciário ou quaternário, não revelando as aminas primárias e secundárias a não ser que esses encontrem-se em concentrações muito elevadas.

a. Dittmar

Os cortes frescos foram colocados diretamente no reagente Dittmar por 5 a 10 minutos, seguido por lavagem em água e montagem em lâmina com água glicerinada 50%, cobertos por lamínula. Os alcalóides são grânulos castanho-avermelhados.

b. Dragendorff

Os cortes do tecido vegetal fresco em água foram transferidos para o reagente Dragendorff e mantidos por 5 a 10 minutos, seguido de lavagem rápida em nitrito de sódio a 5%, e posteriormente em água e em seguida

transferidos para lâmina para observação ao microscópio óptico. Os alcalóides deverão corar de castanho-avermelhado.

4. Avaliação

Os testes histoquímicos foram visuais e adotou-se uma escala considerando a intensidade da reação, sendo: (-) ausência da reação típica do teste; (\pm) reação presente em pequenas porções ou partes da estrutura anatômica ou em células isoladas do tecido considerado; (+) reação presente em grupos de duas a quatro células contíguas no tecido analisado; (++) reação presente em cinco ou mais células contíguas no tecido analisado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Anatomia e Histoquímica de Variedades de Crisântemo

1.1. Descrição Anatômica

A epiderme é uniestratificada nas duas faces foliares. As células comuns nas secções transversais apresentam formato tabular ou levemente poligonal, com ângulos arredondados e são mais altas anticlinalmente na face adaxial do que na abaxial (Figuras 28 e 29). Apresentam largura periclinal claramente maior que a altura anticlinal. Em vista frontal, as células epidérmicas comuns da face adaxial são maiores e possuem o contorno reto ou sinuoso, enquanto as da face abaxial são menores e têm contorno com sinuosidade mais acentuada.

De forma intercalar às células comuns da epiderme, encontra-se as células-guarda, com formato reniforme (Figura 28, setas pretas). Os tricomas estão presentes nas duas faces da folha e mais abundantes na face abaxial, sendo que os tectores são no formato de agulha de bússola (Figura 31 A), pluricelulares, e os tricomas glandulares são capitados, sésseis e situados em depressões (Figura 31 B).

As folhas são anfiestomáticas (estômatos nas duas superfícies foliares). A densidade dos estômatos está entre 15 a 28 estômatos/mm² na face abaxial, com variação de 53,5% entre as variedades e 5-10 estômatos/mm² na face adaxial, com variação de 50% entre as variedades (Tabela 12). Os estômatos são anomocíticos (Figura 29), podendo estar no mesmo nível, acima ou abaixo do alinhamento das células comuns da epiderme, dependendo da variedade.

Os cortes transversais das folhas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) possibilitaram verificar que o mesófilo é tipicamente dorsiventral, característica comum em *Asteraceae* (FONSECA et al. 2006), com uma camada de células de parênquima paliçádico voltado para a face adaxial (EpAd) e cerca de 6-8 camadas de parênquima lacunoso voltado para a face abaxial (EpAb) com variado volume de espaços intercelulares (Figura 28). Os feixes vasculares secundários são colaterais, de pequeno calibre e com bainha parenquimática.

Tabela 12. Densidade de estômatos nas faces das folhas de variedades de crisântemo.

Variedade	Média do número de estômatos mm ²	
	Face adaxial	Face abaxial
Capello (C ou V9)	04	16
Mini Margarida Amarela(MMA ou V3)	10	28
Spitoven Amarela (SA ou V27)	06	21
White Reagan (WR ou V21)	04	14
Dark Rose Reagan (RR ou V23)	06	15

A nervura mediana foliar é biconvexa em todas as variedades, possui epiderme com estômatos e tricomas intercalados às células comuns da epiderme (Figura 28) nas duas faces da folha, apresentando uma ou duas camadas colenquimáticas subepidérmicas pouco diferenciadas. O córtex é parenquimático, constituído por 6-12 camadas celulares. O feixe vascular mediano é colateral (Figura 28 B, D, F, H e J).

Na montagem dos cortes paradérmicos, o teste com verniz vitral incolor marca Acrilex resultou em lâminas com boa transparência (Figura 29) e boa vedação.

1.2. Testes Histoquímicos

Através dos testes histoquímicos foi possível verificar que a parede das células epidérmicas é composta por substâncias pécticas, celulose e lignina (Figura 30).

As células-guarda apresentam pectina e celulose em continuidade às células comuns da epiderme, podendo estar no mesmo nível, acima ou abaixo do alinhamento das células da epiderme. A camada lipídica externamente a parede celular da epiderme foi verificada com a reação de Sudam IV (Figura 33 A, B, C, D e E) e Sudam III, observado-se também a ornamentação da cutícula em algumas variedades.

Em relação à composição química das células dos tricomas tectores foi verificado que a parede das células pedais é constituída basicamente por pectina e celulose (Figura 30). Foram encontradas substâncias fluorescentes

em luz ultra violeta indicando presença de flavonóides em tricomas tectores e glandulares. Outras substâncias como alcalóides também são encontradas tanto no apêndice apical como nas células de sustentação dos tricomas tectores, além de compostos fenólicos no interior das células basais e célula pedal (Figura 31 E). Os tricomas glandulares contêm alcalóides (Figura 31 C), lipídios (Figura 33 A) e celulose (Figura 31 H).

A reação com cloreto de ferro possibilitou identificar células da epiderme e basais dos tricomas tectores (célula pedal e a primeira logo acima) da variedade Capello, com coloração negro-azuladas (Figura 34 J), indicando a presença de compostos fenólicos ou tânicos neste tecido, substância comprovadamente atuante na defesa vegetal, sendo tóxico aos patógenos (MEDEIROS et al. 2003; CAMPOS et al. 2004).

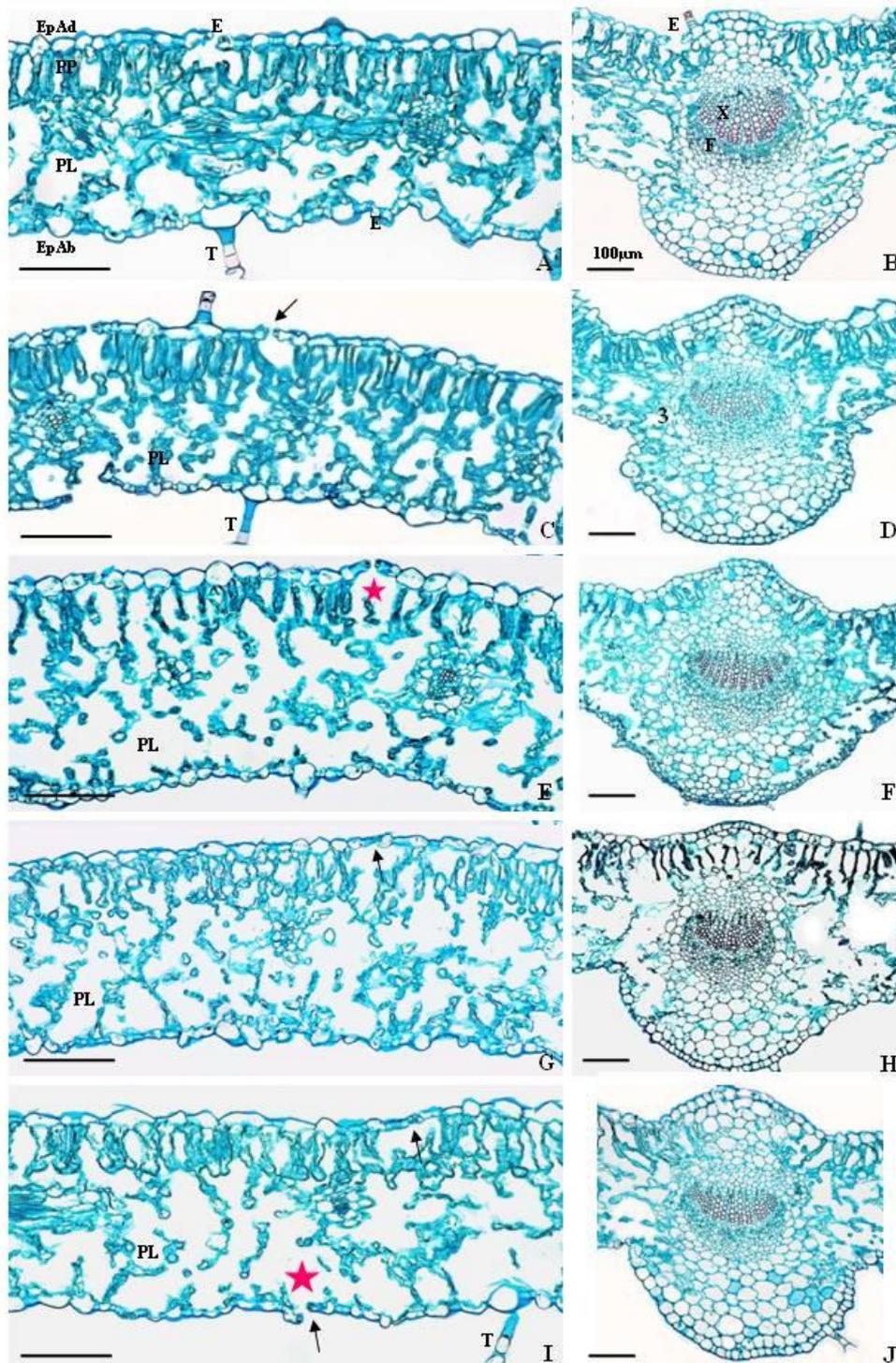


Figura 28: Cortes transversais em micrótomo a uma espessura de 10µm, de folhas de variedades de crisântemo, incluídas em parafina; coloração em azul de alcian:safranina (4:1). A. Mesófilo de (C); B. Nervura (C); C. Mesófilo (MMA); D. Nervura (MMA); E. Mesófilo (SA); F. Nervura (SA); G. Mesófilo (WR); H. Nervura (WR); I. Mesófilo (RR); J. Nervura (RR). EpAb: epiderme abaxial, EpAd: epiderme adaxial; E: estômato e setas pretas indicando estômato, X: xilema, F: floema, PP: parênquima paliçádico, PL: parênquima lacunoso, T: tricoma. A estrela vermelha indica a câmara subestomática. Barra; 100µm.

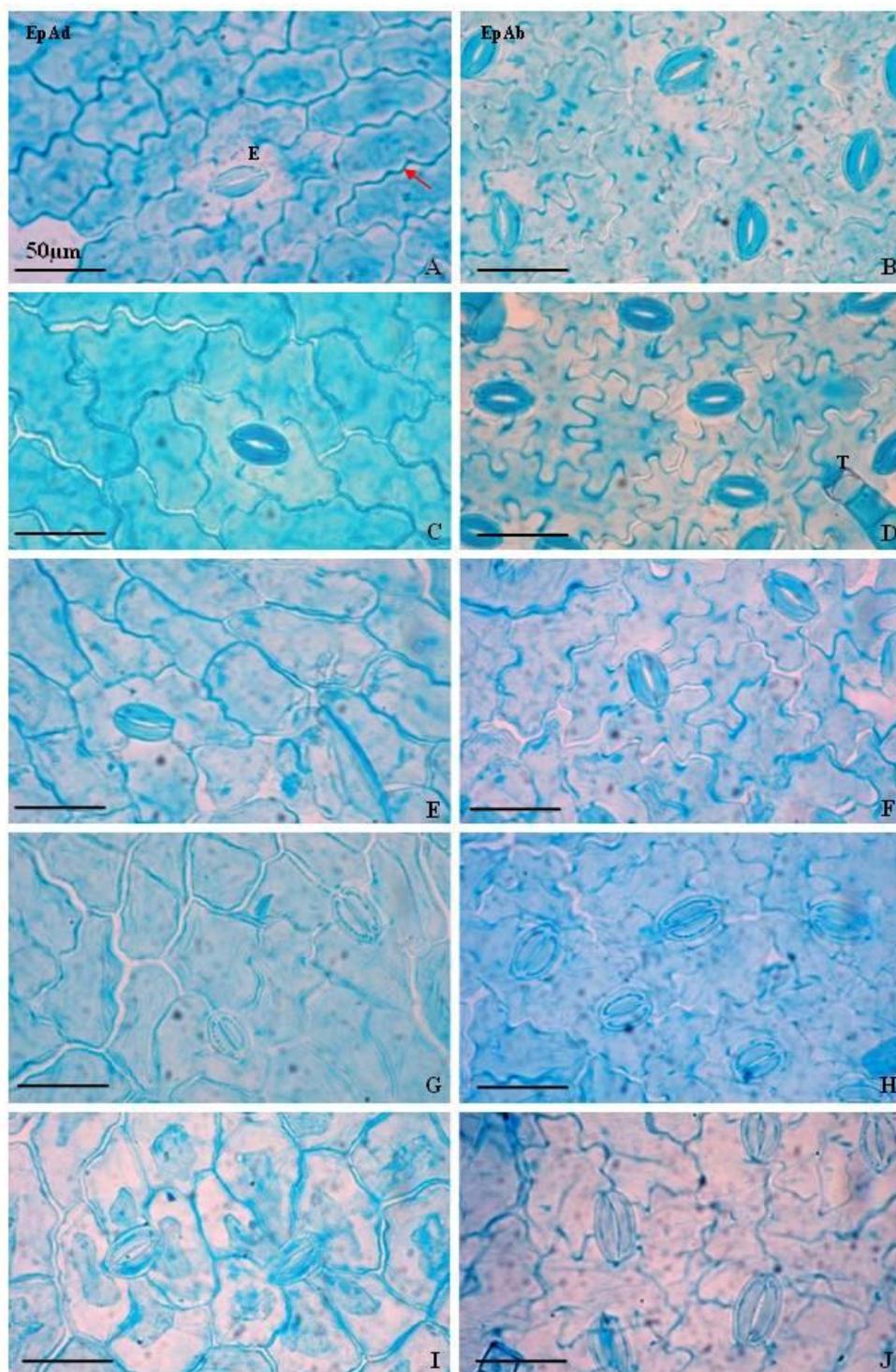


Figura 29: Corte paradérmico de variedades de crisântemo; remoção da epiderme com Solução de Franklin, coloração com Azul de Alcian e Safranina (5:1), vedação com verniz vitral Acrilex. A: EpAd da variedade (C); B: EpAb (C); C: EpAd (MMA); D: EpAb (MMA); E: EpAd (SA); F: EpAb (SA); G: EpAd (WR); H: EpAb (WR); I: EpAd (RR); J: EpAb (RR); seta vermelha indicando a espessura da parede celular. T: tricoma tector; E: estômatos; Epiderme adaxial (EpAd); Epiderme abaxial (EpAb); (E) estômato; Barra: 50µm.

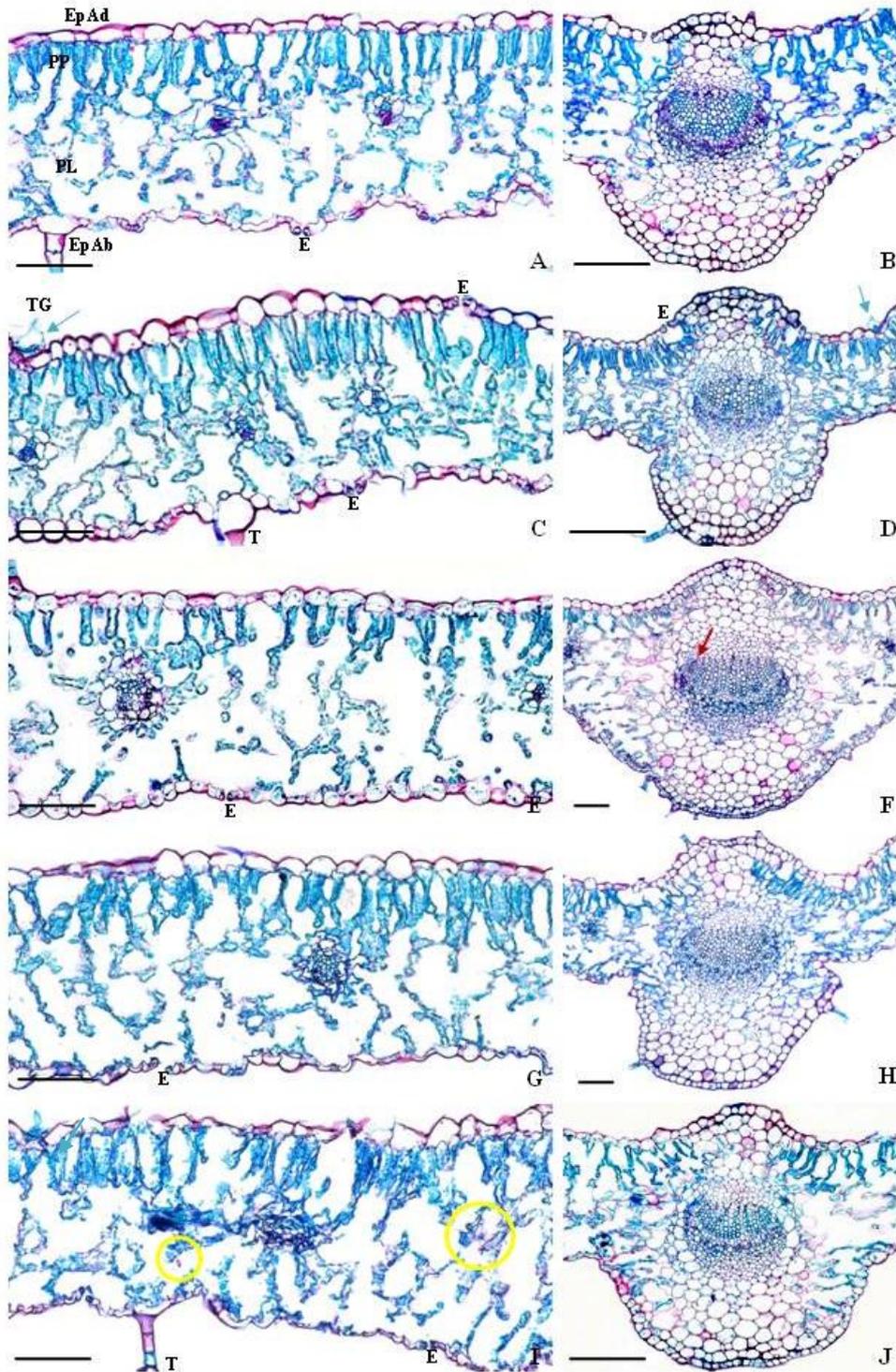


Figura 30: Testes histoquímicos com vermelho de rutênio em tecidos foliares de crisântemo. Coloração vermelha evidenciada na epiderme e outros tecidos pela presença de pectina. A: Mesofilo (C); B: Nervura (C); C: Mesofilo (MMA); D: Nervura (MMA); E: Mesofilo (SA); F: Nervura (SA); G: Mesofilo (WR); H: Nervura (WR); I: Mesofilo (RR); J: Nervura (RR). T: tricomas tectores. TG: tricomas glandulares; E. estômatos; PP: parênquima paliçádico; PL: parênquima lacunoso; EpAd: epiderme adaxial; EpAb: epiderme abaxial; Círculo amarelo: resquícios da parede celular impregnada de pectina. Barras de 100µm.

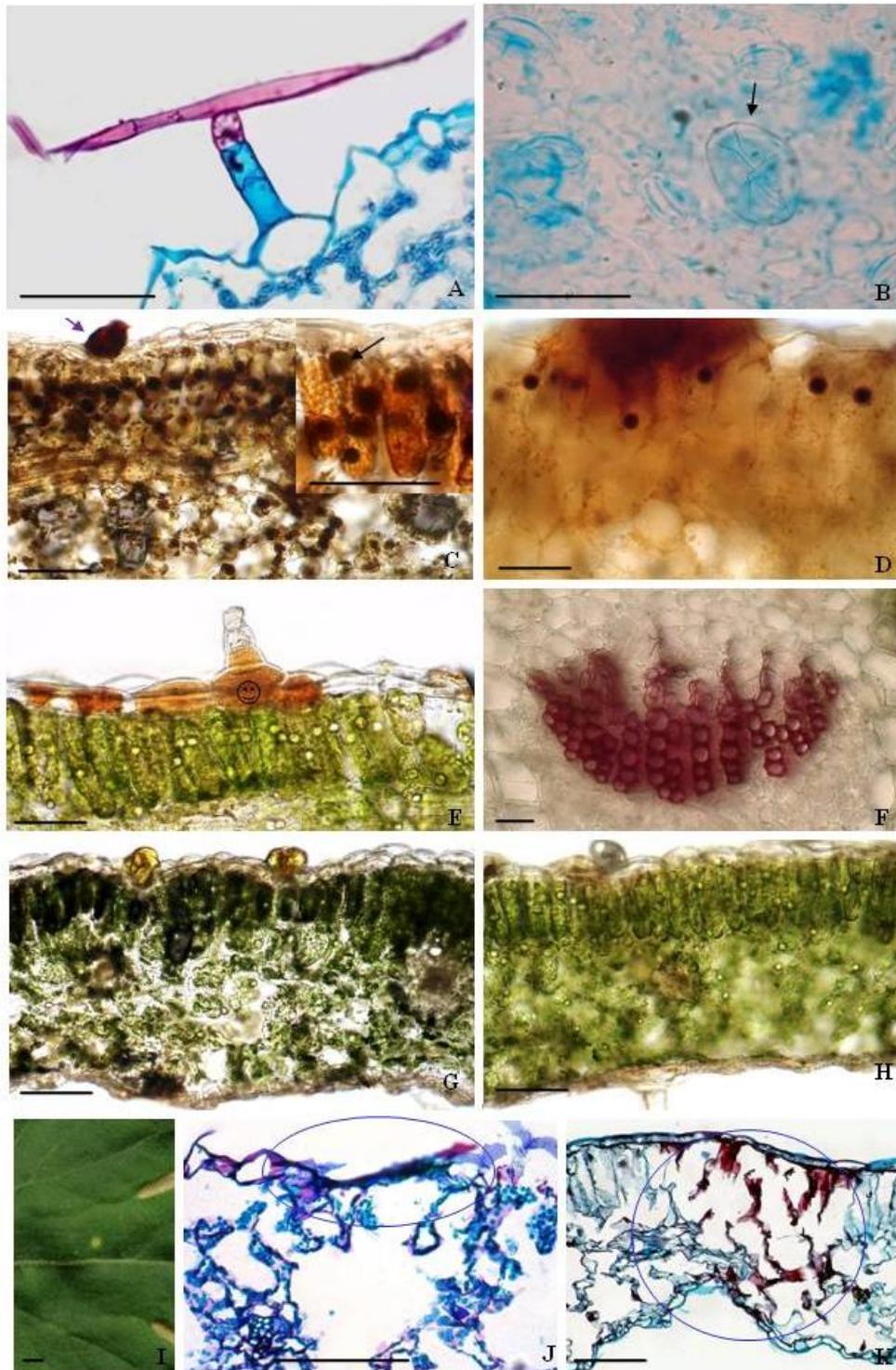


Figura 31: Testes histoquímicos e estruturas anatômicas em variedades de *Dendranthema grandiflora*. A. Tricoma tector em formato de bússola B. Tricoma glandular em corte paradérmico (seta); C. Reação Dittmar evidenciando os grânulos castanho-avermelhados de alcalóide, no parênquima da variedade Capello; D. Grânulos de alcalóide circundando a pústula de *P. horiana* no mesófilo da variedade (RR); E. Reação com dicromato de K na (C), coloração alaranjada pela presença de compostos fenólicos em células contíguas da epiderme; F. Elementos de vaso impregnados de lignina - reação generalizada nas variedades tratadas com floroglucinol acidificado; G. Reação com ClZn (tricomas glandulares em amarelo, pela presença de lignina em (C)); H. Reação com ClZn em (MMA) evidenciando tricoma glandular de cor negra-azulada pela presença de amido, a epiderme com celulose e lignina; I. Lesão amarela em (C) semelhante ao início de uma pústula de *P. horiana*; J e K. Reação de hipersensibilidade em (C). Barras de 50µm.

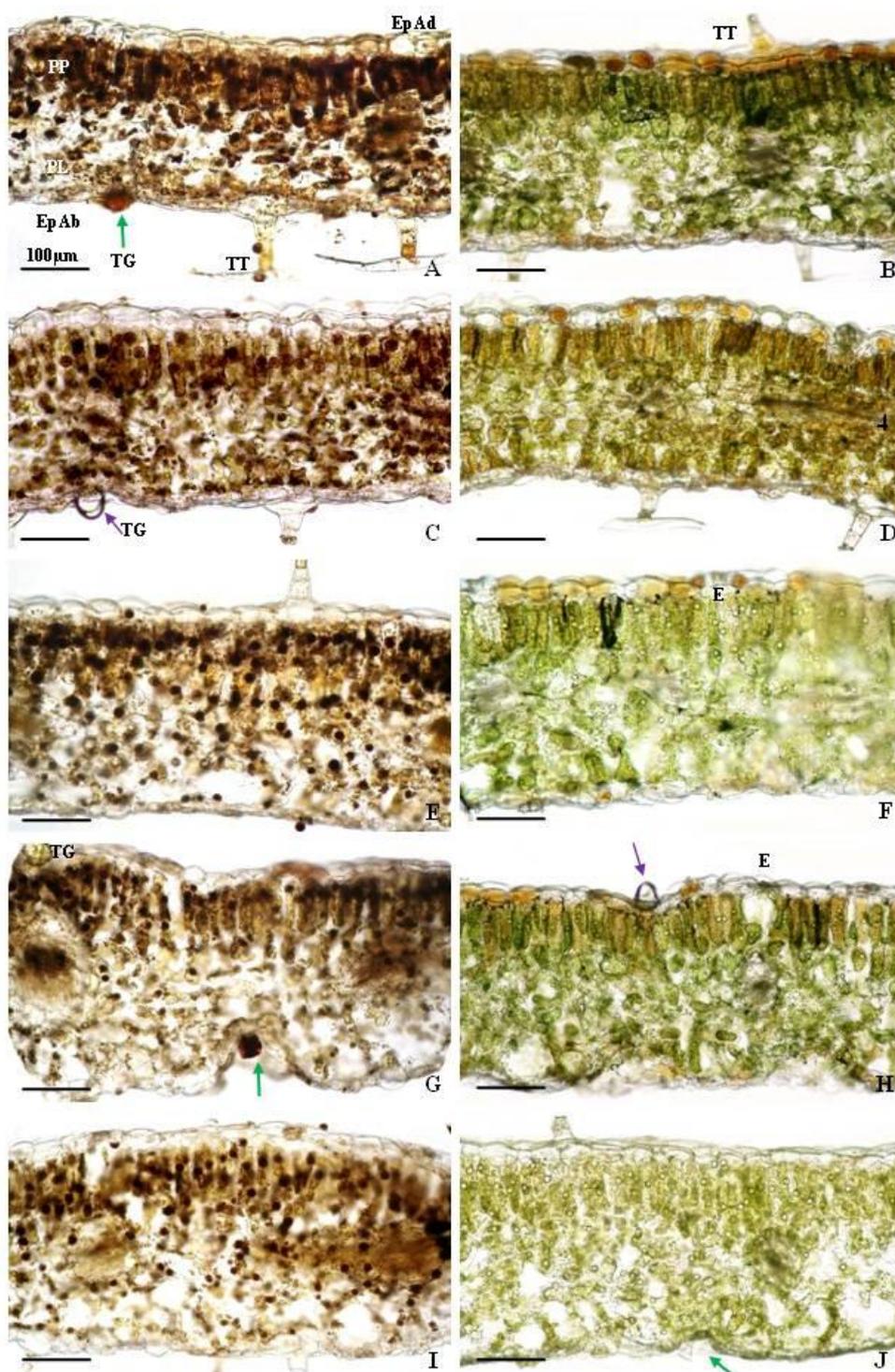


Figura 32: Testes histoquímicos com reagente Dittmar à esquerda e Dicromato de K à direita em cortes foliares de *Dendranthema grandiflora*. A e B: Variedade (C); C e D: Variedade (MMA); E e F: Variedade (AS); G e H: Variedade (WR); I e J: Variedade (RR). Setas verdes e lilases indicando tricomas glandulares. TT: tricomas tectores. E: estômatos. PP: parênquima paliçádico. PL: parênquima lacunoso. EpAd: epiderme adaxial. EpAb: epiderme abaxial. Barras de 100µm.

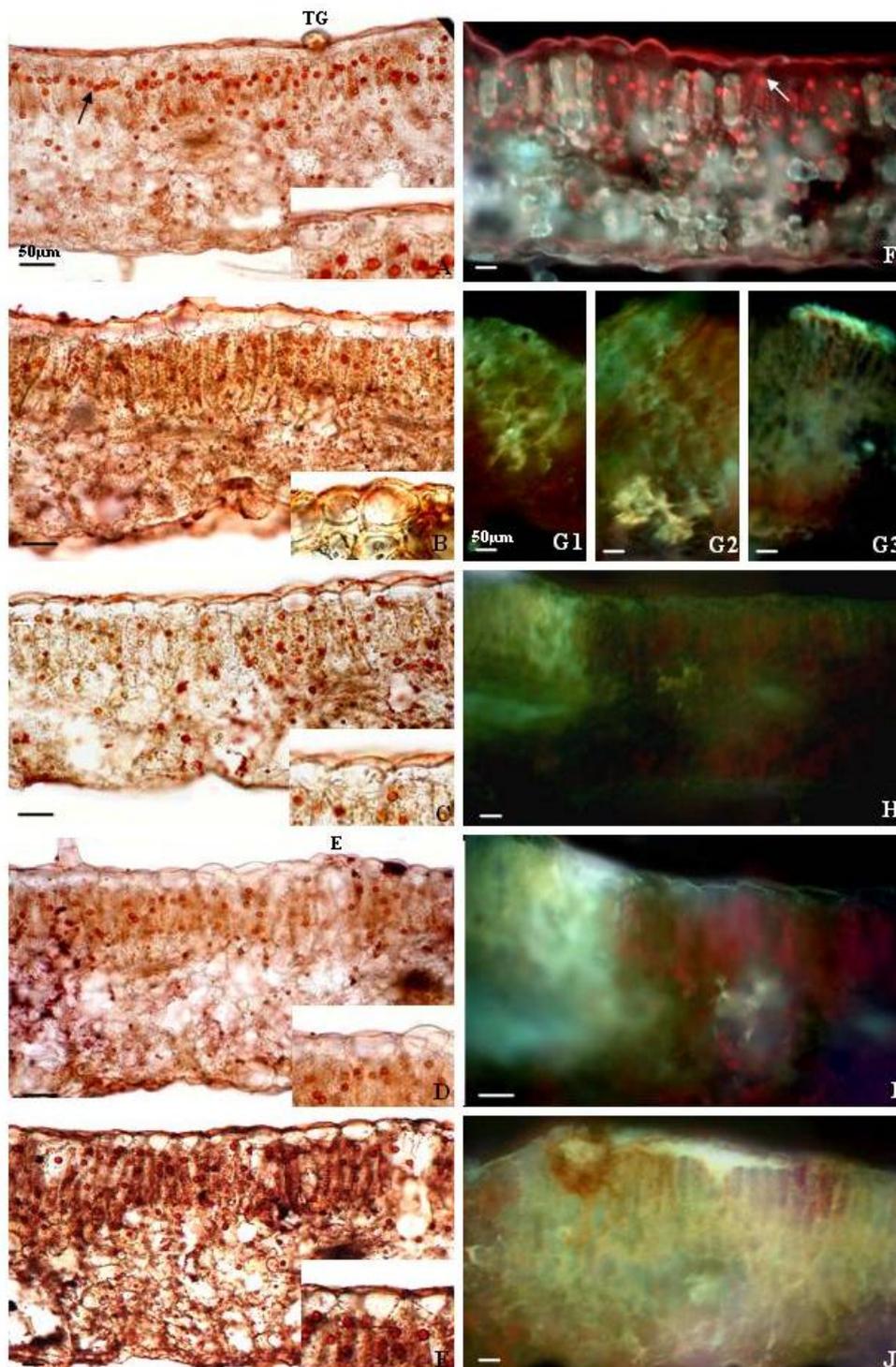


Figura 33: Teste histoquímico com reagente Sudam IV à esquerda, sendo: A: (C); B: (MMA); C: (SP); D: (WR); E: (RR). À direita teste para detecção de fluorocromos (classes de compostos fenólicos e flavonóides), F: Variedade (C) sob luz ultravioleta submetido ao reagente de Wilson (parede externa das células contíguas da epiderme em vermelho vivo fluorescente e grânulos no parênquima evidenciando a presença de flavonóides ou compostos fenólicos); G-1,2,3: Em (RR) a fluorescência nos pontos em que o patógeno se estabeleceu; H: (RR) Fluorescência no tecido lesionado, distinguindo do tecido não colonizado (reação com acetato de chumbo); I: Lesão em (RR) mais evoluída (em acetato de chumbo); 10. Tecido necrosado em (RR), com formação de pústula. Barras de 50 µm. E: estômato; TT: tricoma glandular; seta preta indicando grânulos de lipídios no parênquima paliçádico; Seta branca evidenciando grânulos de flavonóides ou compostos fenólicos.

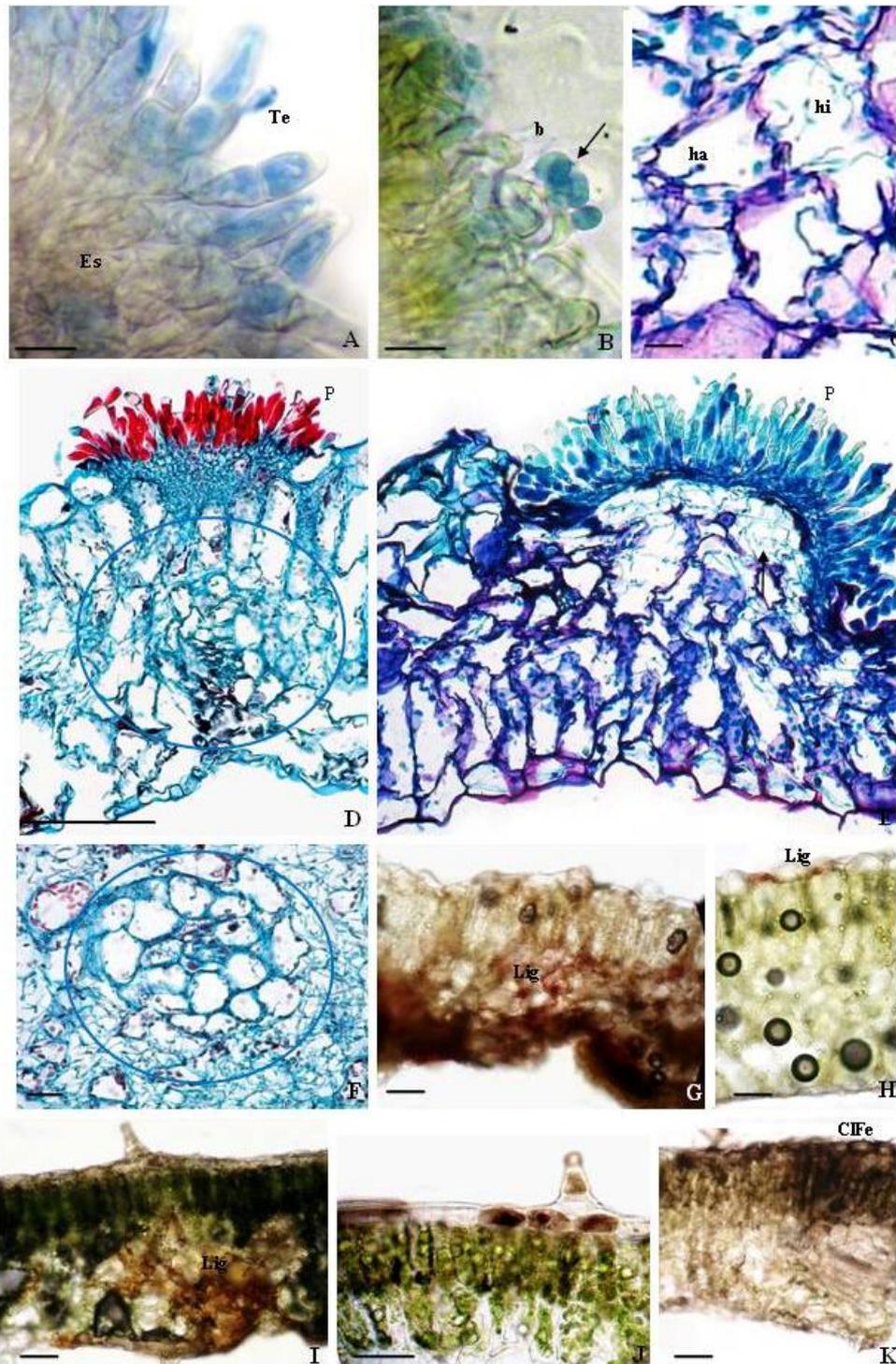


Figura 34: *Dendranthema grandiflora* afetada por *Puccinia horiana*. A: Teliósporos de *P. horiana*; B: Basidiósporos de *P. horiana*; C: Hifas e haustórios de *P. horiana* em células do mesófilo de crisântemo (reação com vermelho de rutênio do tecido incluído em parafina em corte transversal); D: Pústula com teliósporos maduros em variedade (SP), detalhe do feixe vascular cercado por hifas; E: Pústula mais nova pelos teliósporos azuis, hifas intercelulares e destruição de células do parênquima (reação para pectina); F: Alterações das células adjacentes do feixe vascular pela presença do patógeno; G: Reação com floroglucinol acidificado evidenciando em vermelho a lignificação do tecido afetado pelo patógeno em (RR); H: Lignificação em (C) impedindo a infecção; I: Reação com ClZn iodado evidenciando em amarelo a lignificação em (RR) afetada pelo patógeno; J: Reação com ClFe na variedade Capello – coloração negro-azulada pela presença de compostos fenólicos em células contíguas da epiderme e tricomas; K: Reação com cloreto de ferro evidenciando presença de compostos fenólicos nos tecidos da planta afetada. Barra de 50µm.

2. Análise comparativa anatômica e histoquímica entre as variedades

2.1. Anatomia comparativa visando resistência

A primeira observação foi feita durante a reação com Solução de Franklin para confecção das lâminas de cortes paradérmicos. Houve diferença no tempo necessário para degradação dos componentes internos do tecido e desprendimento da epiderme da variedade V9 na solução de Franklin, isso sugeriu uma diferença na composição da parede celular entre as variedades, podendo ser em quantidade ou qualidade. O tempo de degradação em V9 foi de 72 horas, enquanto nas demais foram necessárias somente 48 horas sendo possível que a constituição da parede celular esteja ligada a resistência da variedade à infecção.

No campo observou-se uma textura diferenciada das folhas entre as variedades, sendo que V9 é consideravelmente mais espessa e de coloração verde mais intensa que nas demais variedades, durante todo o ano. Este fenômeno está relacionado às características genéticas, não caracterizando na modificação ocasional que segundo Esau (1965) é decorrente da intensidade de luz que recebem, resultando nas chamadas folhas de sol que são usualmente mais espessas e diferenciadas das folhas à sombra modificadas ainda nos primórdios da gema.

Anatomicamente pôde ser visto através do corte paradérmico que na média de 40 observações, o número de estômatos foi distinto entre as variedades (Tabela 12 e Figura 29). Quanto ao tamanho foi observado visualmente que em (WR) e (RR) os estômatos são consideravelmente maiores na face abaxial, que nas demais variedades estudadas (Figura 29 H e J). A quantidade e o tamanho dos estômatos na superfície da folha não constituem atributos de resistência. O fungo, *Puccinia horiana*, penetra por meio de um curto tubo germinativo, diretamente pela cutícula e epiderme, após a germinação do esporo infectivo (WHIPPS, 1993). Trabalhos realizados por Gerardo et al. (2001) demonstraram que o patógeno também penetra pelos estômatos, mas isso não foi observado no presente estudo.

Características como tamanho das células da epiderme, sinuosidades e espessura da parede, diferem visivelmente entre as variedades, sendo

característica de outra *Asteraceae* (FONSECA et al. 2006). Na variedade Capello (Figura 29 A e B) essas células são mais justapostas e menores que nas demais (variedades RR, WR, SP). Na variedade Mini Margarida Amarela em corte paradérmico (Figura 29 D) e em corte transversal (Figura 28 C e D), ocorre o adensamento das células da epiderme, justaposição e espessamento da parede. Tais aspectos relacionam-se com a resistência estrutural de plantas contra patógenos. Segundo García et al. (1998) a parede celular é um fator de resistência de variedades de crisântemo. Estudos realizados para identificação de compostos antimicrobianos em variedades de crisântemo mostraram que na constituição da parede celular da variedade imune, uma grande quantidade, de um componente derivado possivelmente de uma fitoanticipina ou fitoalexina, seguido pela resistente e suscetível que quase não apresentou.

Segundo Medeiros et al. (2003) o tempo de abertura dos estômatos parece ser importante indicando resistência horizontal a fungos fitopatogênicos que penetram, exclusiva ou facultativamente por estômatos como ocorre em estádios uredínicos de ferrugens. Tal fase não ocorre em *P. horiana*, que utiliza os basidiósporos para infectar diretamente pela cutícula. Na relação entre *Puccinia hemerocallidis* e *Hemerocallis* spp. ocorre variação de suscetibilidade entre variedades afetadas, como em crisântemo. Estudos realizados por Li et al. (2007) mostraram que a penetração do patógeno ocorre pelos estômatos ou células da epiderme.

O número de tricomas na face abaxial da variedade V3 foi visualmente maior do que nas demais, podendo esta característica contribuir com a resistência nesta variedade, como ocorre no patossistema feijoeiro e *Glomerella cingulata* f.sp. *phaseoli* em que a quantidade de tricomas está relacionada com resistência à antracnose durante o estágio pré-infeccional do patógeno (JERBA, 2005) não tendo sido abordado o aspecto quantitativo de tricomas nesse trabalho.

A densidade de células do parênquima paliçádico das variedades segue a tendência de C<MMA<SA<WR<RR, sendo os espaços intercelulares em RR também no parênquima lacunoso, visualmente mais amplo. A extensão da câmara subestomática da variedade Dark Red Rose (Figura 29 I e J) em comparação com Capello (Figura 29 A e B) também apresenta uma nítida

diferenciação, com volumes maiores e menores, respectivamente. Fatores estruturais de densidade de células podem estar influenciando na resistência.

Outro aspecto observado foi o alinhamento das células-guarda em relação à epiderme, que, em geral nas variedades mais suscetíveis encontrava-se em nível inferior com acentuadas reentrâncias. A hipótese de acúmulo de gotículas de água nessas sinuosidades pode favorecer a germinação das estruturas infectivas do patógeno e promover condições de umidade muito mais favoráveis nesses pontos do que em superfícies planas. Não foi encontrada nenhuma referência sobre esse assunto até o presente, sendo esta uma suposição que exige maiores investigações.

Na Figura 34 D e E podem ser observadas células do tecido parenquimático tomadas por hifas do fungo, com presença de haustórios (Figura 34 C) e desordem nos feixes vasculares (Figura 34 D e F). As hifas não chegam a atingir os vasos possivelmente pela maior lignificação das paredes. Esses danos evidentes nas células próximas ao feixe vascular (Figura 34 E e F) podem ser responsáveis por distúrbios fisiológicos prejudicando todo o desenvolvimento da planta. Harder & Haber (1992), afirmaram que a infecção pelo patógeno induz várias mudanças estruturais, bioquímicas e fisiológicas no hospedeiro com alterações profundas provocadas pela invasão intracelular do fungo e pela formação de haustórios, mas não foram constatados efeitos fisiológicos diretos das hifas intercelulares sobre os protoplastos do hospedeiro.

Um resultado importante em relação à montagem de lâminas permanentes em corte paradérmico foi a utilização de verniz vitral incolor marca Acrilex na vedação das lâminas de corte paradérmico, técnica comprovadamente eficaz para secções anatômicas (PAIVA et al. 2006) não tendo sido demonstradas para cortes paradérmicos. Conforme Kraus & Arduim (1997), os cortes paradérmicos foram montados em glicerina ou gelatina glicerinada, constituindo lâminas semi-permanentes. A obtenção de lâminas permanentes como descrito neste trabalho representa um avanço metodológico, pois registra melhor os resultados anatômicos, apresenta melhor resistência ao longo do tempo e temperaturas adversas, proporciona qualidade das imagens pela alta transparência, sem desvio por refração luminosa e

contribui para a conservação dos corantes e tecidos sem alterações perceptíveis.

2.2. Alterações histoquímicas relacionadas à resistência

As Tabelas 13 e 14 mostram os resultados dos testes histoquímicos entre as variedades, avaliados conforme a intensidade da reação típica do teste.

Observando os resultados, a maior concentração de pectina ocorreu na parede celular das variedades V9 e V3, mais especificamente na lamela média das células da epiderme que constitui a primeira barreira de penetração do fungo. Segundo Medeiros et al. (2003), a pectina funciona como “cimento celular”, mantendo firme e coeso o tecido vegetal. O papel de enzimas pectinolíticas no processo de patogênese foi descrito para alguns fungos como *Alternaria solani* (MARCHI et al. 2006) e bactérias causadoras de podridão mole. O fungo *P. horiana* é capaz de penetrar diretamente nos tecidos do hospedeiro, sendo para isso necessário dispor de enzimas capazes de degradar os componentes da parede das células do seu hospedeiro, possivelmente os teores mais elevados de pectina, lignina e celulose encontrado em V9 e V3 estejam contribuindo para a resistência.

Segundo Resende et al. (2007) havendo genes de defesa na planta em resposta a agressão, ocorre a produção de proteínas-PR, enzimas de fitoalexinas, lignificação dos tecidos, caloses e outros reforços da parede celular, podendo ser esses os recursos utilizados por alguns hospedeiros como em V3. Para que não ocorra sintoma como observado para V9 é necessário que esses atributos de defesa sejam constitutivos e não em resposta ao ataque de patógenos.

A resposta de biossíntese de compostos secundários depende da constituição genética da planta, variável com cada organismo (CAMPOS et al. 2004). Segundo Macheix et al. (1986), o tempo de ativação do metabolismo de fenóis após uma infecção é variável, dependendo do grau de complexidade da molécula e de sua integração com outras estruturas químicas. Os resultados com Dicromato de Potássio revelaram a presença de pelo menos um componente alcalóide, fenólico ou tânico associado às células da epiderme em

V9 presente em células contíguas e freqüentemente nos tecidos. Tricomas glandulares desta variedade contém alcalóides (Figuras 31 C e 32 A) e lipídeos (Figura 33 A). Compostos fenólicos de diferentes grupos podem ser observados no conteúdo de diversas nas células epidérmicas contíguas (Figura 32 B). Tais observações indicaram que o principal componente de resistência desta variedade é bioquímico.

A quantidade maior de alcalóides no parênquima paliçádico e lacunoso de V9 (resistente), em relação a V23 (extremamente suscetível) pode ser o caminho que indica a resistência. Na Figura 31 D, observa-se uma concentração de alcalóides logo abaixo da formação da pústula nos tecidos da variedade V23, indicando uma reação de defesa. O tempo decorrido entre o contato do patógeno com o tecido e o metabolismo químico de defesa, é essencial para que os eventos subseqüentes de colonização e reprodução do patógeno nos tecidos do hospedeiro não venham ocorrer.

A presença intrínseca de substâncias químicas relacionadas à defesa como foi visto em V9 podem ser o diferencial na resposta atuando diretamente sobre o patógeno ou influenciando reações envolvidas na sinalização da defesa como ocorre com os lipídios. Substâncias químicas pré-formadas relativas à defesa provavelmente possibilitam uma reação mais imediata à agressão, em relação à planta que não apresenta esta característica, e quando atacada necessita desviar ou produzir tais metabólitos ausentes ou presentes em baixas concentrações na tentativa de evitar os eventos pré ou pós-infecção.

A presença de grânulos de lipídios no parênquima paliçádico de V9 é evidente, sendo gradativamente inferior em relação a V27, V21 e V23 (Figura 33 A, B, C, D e E). A variedade V3 além de apresentar lipídios nos tecidos internos, as camada de cera epicuticular é mais extensa e espessa que nas demais variedades, apresentando até ornamentação (Figura 33 B). Segundo Medeiros et al. (2003) esta camada apresenta alta estabilidade química e a degradação direta por fitopatógenos é difícil de ser comprovada. A variedade V3 apresenta nível satisfatório de defesa contra a *P. horiana*, podendo ser relacionada a este mecanismo estrutural.

A lignificação das células foi observada na epiderme em V27, variedade medianamente resistente (Figura 34 H) quando infectada pela *P. horiana*

indicando um mecanismo de resistência pós-formado. A presença de lignina pode ser visualizada nos vasos do xilema, impregnando também a parede das células da epiderme, tendo entre os basidiomicetos representantes lignolíticos (MEDEIROS et al. 2003).

Outra reação histológica importante é a impregnação das células ou tecidos circunvizinhos à infecção, com substâncias relacionadas à defesa, que segundo Medeiros et al. (2003) inibem o avanço do patógeno. Nos tecidos de crisântemo afetado pela *P. horiana* podem ser observados alcalóides (Figura 32 A, C, E, G e I), compostos fenólicos (Figura 32 B, D, F, H, I e 34 J) e, possivelmente, isoflavonóides (Figura 33 F a J).

Os flavonóides têm como principal característica química a resistência à hidrólise ácida (ZUANAZZI & MONTANHA, 2007). Em geral o substrato preferencial para fungo é ácido, portanto o acúmulo destes componentes nos tecidos da planta afetada representa uma defesa química na tentativa de conter o avanço do patógeno. Segundo Zuanazzi & Montanha (2007), uma grande parte dos isoflavonóides em vegetais comporta-se como fitoalexinas, mas tem distribuição restrita entre representantes da família botânica *Fabaceae*, salvo raríssimas exceções. A presença de flavonóides foi observada nos tecidos de folhas de crisântemo (Figura 33 F a J), fato também constatado por Valant-Vetschera et al. (2003) em *Artemisia*, *Asteraceae* que encontrou vários grupos de flavonóides em partes aéreas incluindo inflorescências. Substâncias fluorescentes concentram-se intensamente nos locais afetados pelo patógeno, evidenciando a reação de defesa. Segundo Agrios (2005, p. 189) algumas das várias funções dos flavonóides são agir como moléculas sinalizadoras de certas funções específicas na interação planta-patógeno. Muitos deles, no entanto, são inibidores ou tóxicos para patógenos e alguns deles, por exemplo, medicarpin, agem como fitoalexinas, e estão envolvidos na indução da defesa em plantas contra fungos.

Uma reação importante considerada como resistência devido à resposta da planta a infecção é a reação de hipersensibilidade (HR), que impede o avanço do patógeno, evitando assim sua colonização e os eventos subseqüentes às novas infecções. Segundo Camargo (1995), HR é o fenômeno que ocorre nas células do hospedeiro, vicinais ao ponto de entrada

do patógeno, morrem logo após a infecção restringindo o crescimento do patógeno. Foi investigada em V9 (Capello), uma lesão circular, amarela típica do sintoma inicial da ferrugem branca (Figura 31 I), sem, contudo, apresentar nenhuma esporulação. O corte histológico evidenciou a morte de células e necrose do tecido (Figura 31 J e K) correspondente à lesão, caracterizando a reação de HR, conseqüentemente uma resposta de resistência evidente nesta variedade (V9). Segundo Li et al. (2007), a morte de células por hipersensibilidade também é uma resposta de resistência à ferrugem em *Hemerocallis* sp.. Keen (1990) revela que esse é um tipo de resistência quase sempre monogênica. As lesões necróticas nas superfícies foliares estão associadas com o número de células afetadas do hospedeiro.

Tabela 13. Resultado dos testes de amido, pectina, lignina, celulose e lipídios nos tecidos de crisântemo em cada variedade estudada.

Tecidos ou estrutura anatômica		Amido					Pectina					Lignina					Celulose (Cloreto de Zinco iodado)					Celulose (Lugol e Ácido Sulfúrico)					Sudam IV				
		1.*	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.
EPIDERME	Mesofilo	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	±	+	±	+	±	±	-	+	±	+	+	+	+	++
	Nervura mediana	-	-	-	±	-	±	+	+	+	±	-	-	-	-	-	+	±	+	+	+	-	-	-	++	-	+	+	+	+	++
Células-guarda		-	-	-	-	-	+	±	±	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	+	±	+
TRICOMAS	Tectores	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	±	+	+	-	+	++	++	+	++	++	+	+	+	+	+
	Glandulares	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	+	+	±	-	-	-	-	-	+	±	-	-	++
PARÊNQUIMA	Paliçádico	-	-	-	-	-	±	±	±	±	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	+	±	±	±	±	+	+	+	+	+
	Lacunoso	±	-	-	-	-	±	±	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	-	±	+	+	+	+	+
Xilema		-	±	-	±	-	-	-	-	±	-	+	+	+	+	+	+	±	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Floema		-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	+	±	+	+	+	++	++	++	++	-	-	-	-	-	

*1. V9; 2. V23; 3. V21; 4. V27; 5. V3

(-) ausência da reação típica do teste; (±) reação presente em pequenas porções ou partes da estrutura anatômica ou em células isoladas do tecido considerado; (+) reação presente em grupos de duas a quatro células contíguas no tecido analisado; (++) reação presente em cinco ou mais células contíguas no tecido analisado.

Tabela 14. Resultado dos testes de alcalóides e compostos fenólicos nos tecidos de crisântemo em cada variedade estudada.

Tecidos ou estrutura anatômica		Dittmar					Dragendorf					Dicromato de K					Reagente de Wilson					Acetato Chumbo aquoso				
		1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.
EPIDERME	Mesofilo	+	+	+	+	+	+	-	±	+	±	++	+	+	±	+	+	±	±	+	+	++	±	+	+	+
	Nervura mediana	-	+	-	+	-	+	±	-	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+	+
Células-guarda		±	±	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	++	+	+	±	±	+	+	+	±	+	+	+
TRICOMAS	Tectores	+	+	±	+	+	+	+	±	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Glandulares	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	±	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+
PARÊNQUIMA	Paliçádico	++	+	+	++	+	-	-	-	-	-	+	±	+	±	+	+	++	+	±	+	++	+	++	++	+
	Lacunoso	++	+	±	+	+	-	-	-	-	-	+	±	+	±	+	±	±	-	±	+	+	+	±	+	±
Xilema		-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Floema		+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-

*1. V9; 2. V23; 3. V21; 4. V27; 5. V3

(-) ausência da reação típica do teste; (±) reação presente em pequenas porções ou partes da estrutura anatômica ou em células isoladas do tecido considerado; (+) reação presente em grupos de duas a quatro células contíguas no tecido analisado; (++) reação presente em cinco ou mais células contíguas no tecido analisado.

CONCLUSÕES

1. A estrutura anatômica das variedades de crisântemo estudadas está relacionada à resistência.
2. Mecanismos estruturais como deposição de lignina, pectina e lipídios são responsáveis pela defesa dessas variedades de crisântemo à ferrugem branca.
3. Existem classes diferentes de compostos fenólicos nos tecidos das variedades resistentes e suscetíveis de crisântemo.
4. Os compostos fenólicos e os alcalóides são os principais componentes de resistência da variedade Capello que não foi afetada pelo patógeno.
5. A reação de hipersensibilidade está ligada a defesa da variedade resistente.
6. As técnicas de anatomia e histoquímica utilizadas neste trabalho permitiram detectar mecanismos de defesa em variedades de crisântemo à ferrugem branca.
7. Para a variedade V3 a resistência está relacionada à espessura da cutícula, tamanho e justaposição das células epidérmicas.
8. A variedade Capello dispõe de compostos bioquímicos pré-formados em seus tecidos, eficazes na defesa contra a *P. horiana*, sendo os principais, alcalóides e compostos fenólicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ferrugem branca causada por *Puccinia horiana* representam uma ameaça freqüente às áreas de cultivo de crisântemo em todo mundo. As condições ambientais influenciam o comportamento do patógeno e expressão da resistência à doença das variedades. A presente pesquisa identificou variedades de crisântemo resistentes à ferrugem branca que podem ser utilizadas em planejamentos de plantios sucessivos em épocas do ano diferentes explorando a diversidade e potencial de comercialização existente. Medidas para evitar a introdução em áreas livres, a disseminação, e a aplicação de práticas de manejo em áreas afetadas, são fundamentais para reduzir os prejuízos econômicos pela doença. Embora existam propostas de controle com uso de fungicidas que possibilitam erradicação e controle da doença, a intensidade das aplicações reflete uma preocupação pela questão ambiental e saúde dos consumidores. As medidas de controle alternativas, de menor impacto ao ambiente devem ser incentivadas, pelo o uso das técnicas existentes, juntamente com a conscientização para aplicação racional dos fungicidas, promovendo o controle sustentável das ferrugens. A proposta identificada na presente pesquisa é o uso composto bioativo líquido que foi eficiente no controle da ferrugem branca principalmente na época da primavera. O composto bioativo líquido pode ser substituído aos princípios ativos mancozeb, ciproconazol, tebuconazole e pyraclostrobin + metyran que normalmente são aplicados, e ao serem substituídos oferecerão menor risco aos aplicadores, ao ambiente e aos consumidores, pois não oferece risco pelos componentes que o integram. Diferentes mecanismos de resistência estão associados às variedades de crisântemo cultivadas comercialmente, podendo ser estruturais, bioquímicos, bem como a reação de hipersensibilidade.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABIKO, K.; KISHI K.; YOSHIOKA A.; Occurrence of Oxycarboxin-Tolerant Isolates of *Puccinia horiana* P.Hennings in Japan. Ann. Phytopath. Soc. Japan., v. 43, p.145-150, 1977.

AGRIOS, G.N. Control of plant diseases. In: AGRIOS, G.N. (Ed.). Plant pathology. San Diego: Academic Press, p.173-221, 2005.

AGROFIT, 2008. Ministério da Agricultura. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.pdf, Acesso, 12 mai.2008. 3p.

ALAEI, H.; HÖFTE, M.; MAES, M.; HEUNGENS, K. Molecular detection of *Puccinia horiana* Henn. the causal agent of Chrysanthemum white rust. Crop Protection, v. 22, p. 4739-43, 2007.

ALAEI, H.; BACKER, M. de; NUYTINCK, J.; MAES, M.; HÖFTE, M.; HEUNGENS, K. Phylogenetic relationships of *Puccinia horiana* and other rust pathogens of Chrysanthemum x morifolium based on rDNA ITS sequence analysis. Mycological Research, v. 113, p. 1-16, 2009 (a).

ALAEI, H.; BAEYEN, S.; MAES, M.; HÖFTE, M. & HEUNGENS, K. Molecular detection of *Puccinia horiana* in *Chrysanthemum x morifolium* through conventional and real-time PCR. J. of Microbiol. Methods, v. 76, n. 2, p.136–45, 2009 (b).

ALEXANDRE, M. A. V. & DUARTE, L. M. L. Boletim Técnico. Instituto Biológico. São Paulo: Instituto Biológico, mai., n.20, p. 1-73. 2007.

AMARAL, M. F. Z. J.; BARA, M. T. F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. Revista Eletrônica de Farmácia. Suplemento, v. 2, p. 5- 8, 2005. pdf

AMORIM, L. Avaliação de doenças. Manual de Fitopatologia: princípios de conceitos. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. V. 1. Cap. 32. São Paulo, 1995.

ANDERSON, N. O. CHRYSANTHEMUM *Dendranthema x grandiflora* Tzvelv. Springer Netherlands. n. 3, jul., p. 389-437, 2006.

ANEFALOS, C. L.; GUILHOTO, J. J. M. Estrutura do mercado Brasileiro de flores e plantas ornamentais. Agricultura em São Paulo, São Paulo: IEA, v. 50, n. 218, p. 41-63, 2003. pdf. Acesso, 07/11/2007.

AKI, A; PEROSA, J. M. Y. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. Revista Brasileira de Horticultura Ornamental, Campinas, v.8, n.1/2, p.13-23, 2002.

ARBOS, A. M. El crisantemo - cultivo, multiplicacion y enfermedades. Madrid: Ediciones Mundi – Prensa, 1992. 170p.

ASCENSÃO, L. Técnicas histoquímicas convencionais e de microscopia de fluorescência aplicadas em espécies de cerrado. Apostila didática, UNICAMP, 2003.

AZEVEDO, L. A. S. de. Manual de quantificação de doenças de plantas. São Paulo, 1997.

BARBOSA, J. G. Crisântemo. *Aprenda Fácil*, Viçosa, 2003, 234p.

BARBOSA, J. G.; GROSSI, J. A. S.; BARBOSA, M. S.; STRINGUETA, A. C. O. Cultivo de crisântemo para corte. Informe Agropecuário. FLORICULTURA. Belo Horizonte, v. 26, n. 227, p. 36-43, 2005.

BARBOSA, M. A. G.; MICHEREFF, S. J.; MORA-AGUILE, G. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da ferrugem branca do crisântemo. *Summa Phytopathologica*. Botucatu, v. 32, n. 1, p. 57-62, 2006.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A. N.; VELÁSQUEZ-DEL VALLE, M.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, E. A. I. T.; BARKA, E.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C. L. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, v. 25, n. 2, fev. p. 108-118. 2006.

- BELLÉ, R. A. Apostila didática de floricultura. Santa Maria, 1998. 142 p.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Métodos alternativos usados com sucesso no Brasil para o controle de doenças de plantas. In: Stadnik, M. J.; Talamini, V. Manejo Ecológico de doenças de plantas, Florianópolis, UFSC, 2004. 239 p.
- BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TESSMANN, D. J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. Fitopatologia Brasileira, v. 29, p.128-134. 2004.
- BRASIL. Ministério da Economia, Fazenda e Planejamento. Ação permanente para o comércio de flores e plantas ornamentais. Brasília: Departamento de Comércio Exterior, 1993. 13p.
- BUAINAIN, M.; BATALHA, M. O. Cadeia produtiva de flores e mel. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Política Agrícola, Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura IICA: MAPA/SPA, Agronegócios v. 9, p. 140, Brasília, 2007.
- CABI, EPPO. Data Sheets on Quarantine Pests. Puccinia horiana. EPPO Quarantine Pests. www.eppo.org/QUARANTINE/fungi/Puccinia_horiana/PUCCHN_ds.pdf, acesso, 20/04/2007.
- CAMARGO, L. E. A. Análise genética da resistência e da patogenicidade. Manual de Fitopatologia: princípios de conceitos. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. V. 1. Cap. 24. São Paulo, 1995.
- CAMILI, E. C.; BENATO, E. A.; PASCHOLATI, S. F.; CIA, P. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. *Summa Phytopathologica*, v.33, p.3, p.215-221, 2007.
- CAMPOS, A. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANÇÃO, N.; SILVEIRA, E. P. da.; OSÓRIO, V. A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.39, n.7, jul., p.637-643. 2004.

CATHEY, H. M. Chrysanthemum temperature study - thermal modifications of photoperiods previous to and after flower bud initiation. Proc. Am. Soc. Hortic. Science, v. 64, p. 462-498, 1954.

CHABOUSSOU, F. As plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a teoria da trofobiose. GUAZZELLI, M.J. (trad.). 2ª ed. Porto Alegre, 1987. 256 p.

COOK, R. T. A. First report in England of changes in the susceptibility of *Puccinia horiana*, the cause of chrysanthemum white rust, to triazole and strobilurin fungicides. Plant Pathology, v. 50, p. 792, 2001.

COUTINHO, L. N.; Problemas de introdução de doenças no país por meio da aquisição de plantas ornamentais exóticas. *Biológico*. São Paulo, v.63, n.1/2, p.41-44, jan./dez., 2001.

CUMMINS, G. B.; HIRATSUKA, Y. Illustrated Genera of Rust Fungi. 2. ed. rev. Saint Paul. American Phytopathological Society, 1983.

CUMMINS, G. B.; HIRATSUKA, Y. Illustrated Genera of Rust Fungi. The Amer. Phytop. Soc. 3ª ed. St. Paul, 2003.

DIAS, J. F. G.; VIRTUOSO, S.; DAVET, A.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI-JÚNIOR, A.; OLIVEIRA, A. B.; FERRONATO, M. L. Revista Brasileira de Farmacognosia, Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 16, n. 1, p. 83-87, jan./mar., 2006.

DICKENS, J. S. W. The Resistance of Various Cultivars and Species of Chrysanthemum to White Rust (*Puccinia horiana* Henn.). Plant Pathology, v. 17, n. 1, p. 19-22, 1968.

DICKENS, J. S. W. Further observations on the resistance of chrysanthemum cultivars to white rust (*Puccinia horiana* Henn.). Plant Pathol., v. 20, p. 27-28, 1977.

DIRKSE, F. B.; DIL, M.; LINDERS, R.; RIETSTRA, I. Resistance in white rust (*Puccinia horiana* P. Hennings) of chrysanthemum to oxycarboxin and benodanil

in the Netherlands. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent., v. 47, p. 793±800, 1982.

ESAU, K. Anatomia das plantas com sementes. Trad. Berta Lange de Morretes. São Paulo, Edgard Blucher, Ed. Universidade de São Paulo, 1974, 293 p. il.

FALKENBERG, M. de B.; SANTOS, R. I. dos; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia da planta ao medicamento. 6ª ed. Porto Alegre, UFRGS, p. 229-245, 2007.

FANK-DE-CARVALHO, S. M.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Arquitetura, anatomia e histoquímica das folhas de *Gomphrena arborescens* L.f. (*Amaranthaceae*). Acta bot. bras., v. 19, n. 2, p. 377-390, 2005.

FONSECA, M. C. M.; MEIRA, R. M. S. A.; CASALI, V. W. D. Anatomia dos órgãos vegetativos e histolocalização de compostos fenólicos e lipídicos em *Porophyllum ruderale* (ASTERACEAE). Planta Daninha, Viçosa, v. 24, n. 4, p. 707-713, 2006.

FREIRE, F. das C. O.; VIANA, F. M. P.; LIMA, R. C. de A. Ocorrência da Ferrugem-Branca-do-Crisântemo no Estado do Ceará. *Comunicado Técnico 75*, Embrapa, Fortaleza, CE, dez. 2002.

FREITAS-ASTÚA, J.; CALDARI, Jr. Doenças das plantas ornamentais. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L. E. A. Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas. v. 2. 4ª ed. São Paulo, SP, Editora Agronômica Ceres, p. 523-539, 2005.

FUKAI, S. *Dendranthema* species as chrysanthemum genetic resources. Acta Hort. (ISHS) v. 620, p. 223-230, 2003. http://www.actahort.org/books/620/620_26.htm

FURUTA, H.; SHINOYAMAB, H.; NOMURAB, Y.; MAEDAC, M. & MAKARA, K. Production of intergeneric somatic hybrids of chrysanthemum [*Dendranthema* × *grandiflorum* (Ramat.) Kitamura] and wormwood (*Artemisia sieversiana* J. F. Ehrh. ex. Willd) with rust (*Puccinia horiana* Henning) resistance by electrofusion of protoplasts. Plant Science, v. 166, p. 695–702, 2004.

GABE, M. Techniques histologiques. Masson & Cie, Paris.

GARCÍA, L. M. V.; GLORIA, E. L.; PÉREZ, M. L. Compuesto antifúngico en pared celular de crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.). Ciencias Naturales y Agropecuarias, v. 5, n. 3, nov. 1998.

GERARDO, L. S.; IMELDA, L.; CARDENAS-SORIANO, E.; VALDOVINOS-PONCE, G.; Patogenesis de la Roya Blanca *Puccinia horiana* Henn. en una Variedad Susceptible de Crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* (Ramat.) Hemsl.) [Pathogenesis of white rust *Puccinia horiana* Henn. on a chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* (Ramat.) Hemsl. susceptible variety.] Revista-Mexicana-de-Fitopatologia, v. 19, n. 2, p. 191-196, 2001.

GILLOW, I.; GORTZIG, C. History. In: Bearg, B. et al. (Coord.) Chrysanthemums, a manual of culture, disease, insects and economics of Chrysanthemums. New York: New York State University, Extension Service Chrysanthemums School, p. 7-8, 1964.

GÖRE, M. E. White rust outbreaks on chrysanthemum caused by *Puccinia horiana* in Turkey. Plant Pathology, v. 57, 2008, 786 p.

GRUSZYNSKI, C. Produção comercial de crisântemos: vaso, corte e jardim. Guaíba : Agropecuária, 2001. 166 p.

HARDER, D. E.; HABER, S. Oat Diseases and Pathologic Techniques. In: MARSHALL H. G. and SORRELS, M.E. (Co- Ed.) Oat Science and Technology. Madison: Crop Science Society of America, p. 307-402, 1992.

HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, P. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. N. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. 8. ed. Wallingford: CAB international, 1995.

HENNEN, J. F.; FIGUEIREDO, M. B.; CARVALHO JR., A. A. de; HENNEN, P. G. Catalogue of the species of plant rust fungi (Uredinales) of Brazil, 2005.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Caracterização do setor produtivo de flores e plantas ornamentais no Brasil 1995-1996. Estudos e Pesquisas: informação econômica 2. Rio de Janeiro, 2004.

http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/flores_e_plantas/flores_plantas.pdf. Acesso, 03/07/2008.

IBRAFLOR, INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. Padrão ibraflor de qualidade. São Paulo, jun., 2000. 87 p.

JERBA, V. de F.; RODELLA, R. A.; FURTADO, E. L. Relação entre a estrutura foliar de feijoeiro e a pré-infecção por *Glomerella cingulata* f.sp. *phaseoli*. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.40, n.3, p.217-223, mar. 2005.

JOHANSEN, D. A. *Plant Microtechnique*. London, McGraw-Hill. 1940.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Perfil da Cadeia Produtiva de Flores e Plantas Ornamentais do Distrito Federal. Brasília: SEBRAE / DF. (Edição SEBRAE), 2005, 121p.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Inteligência Comercial no Mercado de Flores. Palestra apresentada no Seminário Setorial Mercado de Flores da 14ª Semana Internacional da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria – FRUTAL / Flor Brazil 2007. Fortaleza, CE, 15 a 18 de setembro de 2007. 1 CD-Rom.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. da S. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira: características, tendências e importância socioeconômica recente. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, v.14, n.1, p. 37-52, 2008a.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. da S. Exportações de flores e plantas ornamentais superam US\$ 35 milhões em 2007: recorde e novos desafios para o Brasil. Análise conjuntural da evolução das exportações de flores e plantas ornamentais do Brasil janeiro a dezembro de 2007. *HORTICA*. pdf. 2008b.

KEEN, N. T. Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions. *Annual Review Genetics*, v. 24, p. 447-463, 1990.

KIMATI, H.; BERGAMIM FILHO, A. Princípios gerais de controle. In: Bergamim Filho, A. Kimati, H.; Amorim, L. *Manual de Fitopatologia*. Cap. 34, v. 1, 1995, 919 p.

KIRK, P. M; CANNON, P. F; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A. Ainsworth & Biby's dictionary of the fungi. 9.ed. Oxon: CAB INTERNACIONAL, 2001.

KIYUNA, I.; FRANCISCO, V. L. F. dos S.; COELHO, P. J.; CASER, D. V.; ASSUMPÇÃO, R. de; ÂNGELO, J. A. Floricultura brasileira no início do século XXI: o perfil do produtor. Informações Econômicas, São Paulo: IEA, v. 34, n. 4, abr., p. 14-32, 2004.

KIYUNA, I.; ÂNGELO, J. A.; COELHO, P. J.; ASSUMPÇÃO, R. de. Floricultura: desempenho do comércio exterior em 2005. Informações Econômicas, São Paulo: IEA, 2005. 10 p.

KIYUNA, I.; ANGELO, J. A.; COELHO, P. J. Floricultura Brasileira: novos arranjos no comércio exterior. Análises e Indicadores do Agronegócio. Instituto de Economia Agrícola. v.3, n.5, maio, 2008b.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica, Rio de Janeiro, EDUR. 1997, 198 p.

KREBS, K. E. Chrysanthemum White rust can be controlled. Gartnerbörse und Gartenwelt 3:69-73, 1985.

LI, W. S.; XIA, L. H.; LAN, D. S.; A study on the germination of the teliospores of *Puccinia horiana*. Forest-Research, v. 19, n. 3, p. 391-394, 2006.

LI, Y. H.; WINDHAM, M. T.; TRIGIANO, R. N.; FARE, D. C.; SPIERS, J. M.; COPES, W. E. Microscopic and Macroscopic Studies of the Development of *Puccinia hemerocallidis* in Resistant and Susceptible Daylily Cultivars. Plant Disease, v. 91, p. 664-668, 2007.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. de. Plantas Ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras, 3 ed. Nova Odessa, SP, 2001, 414 p.

MACDONALD, L. Chrysanthemum White Rust Floriculture Factsheet. British Columbia, Ministry of Agriculture, nov. 2001.

MACHEIX, J. J.; FLEURIET, A.; QUESSADA, M.P. Involvement of phenols and peroxidases in wound healing and grafting. In: GREPPIN, H.; PENEL, C.;

GASPAR, T. (Ed.). Molecular and physiological aspects of plant peroxidases. Geneva: University of Geneva, p.267-286, 1986.

MARCHI, C. E.; BORGES, M. de F.; MIZUBUTI, E. S. G. Amilolytic and pectinolytic activities of *Alternaria solani* and aggressiveness in tomato plants. *Summa Phytopathologica*, v.32, n.4, p.345-352, 2006.

MARTIN, P. H.; FIRMAN, I. D. Resistance of Chrysanthemum Cultivars to White Rust (*Puccinia horiana*). *Plant Pathology*, v.19, n. 4, p.180–184, 1970.

MAZARO, S. M.; DESCHAMPS, C.; MIO, L. L. M. de; BIASE, L. A.; GOUVEA, A. de; SAUTTER, C. K. Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro após a aplicação pré-colheita de quitosana e acibenzolar-smetil. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 1, p. 185-190, mar., 2008.

MEDEIROS, R. B. de; FERREIRA, M. A. S. V.; DIANESE, J. C. Mecanismos de agressão e defesa nas interações planta-patógeno. Editora Universidade de Brasília, Brasília, 2003. 290p.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T. de; MAGNO JUNIOR, R. G.; LOPES, E. A. das G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, jan./fev., 2007.

MELO, I. S. de; FAULL, J. L. Tombamento de plântulas e controle biológico de *Rhizoctonia solani* e *Pythium* spp. In: *Controle Biológico*, v. 2, 2000.

MUELLER, D. S.; JEFFERS, S. N.; BUCK, J. W. Effect of Timing of Fungicide Applications on Development of Rusts on Daylily, Geranium, and Sunflower. *Plant disease*, v. 88, n. 6, jun., p. 657-661, 2004.

MUELLER, D. S.; JEFFERS, S. N.; BUCK, J. W. Toxicity of fungicides to urediniospores of six rust fungi that occur on ornamental crops. *Plant Disease*, v.89, mar., p.255-261, 2005.

NECHET, K de L. Manejo Integrado de Doenças de Plantas. Disponível em: http://www.cpafr.embrapa.br/index.php/cpafr/artigos/manejo_integrado_de_doenças_de_plantas. Acesso: 02/05/2008.

NORMAN, M. T.; GARCIA, F. A.; SANDOVAL, R. F. R.; VÁZQUEZ, G. L. M.; AQUINO, M. J.; CORONA, R. M. C.; PEDRAL, M. E. Nivel de daño causado por *Puccinia horiana* P. Henn. Em crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). Fitopatologia, v. 31, n. 2, jul., p. 133-139, 1996.

OEPP/EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). *Puccinia horiana*. Diagnostic protocols for regulated pests. Bulletin OEPP/EPPO, v. 34, p. 209-11, 2004.

OLIVEIRA, A. A. P.; BRAINER, M. S. de C. P. Floricultura: caracterização e mercado. Série: Documentos do Eteno (Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste), v. 16, Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2007. 180 p. http://www.bnb.gov.br/projwebren/Exec/livroPDF.aspx?cd_livro=61

OROZCO-CARDENAS, M.; NARVÁEZ-VÁSQUEZ, J.; RYAN, C.A. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. Plant Cell, v. 13, p. 179-191, 2001

PAIVA, J. G. A. de; FANK-DE-CARVALHO, S. M.; MAGALHÃES, M. P.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Verniz vitral incolor ®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. Acta Botânica Brasileira, v. 20, n. 2, p. 257-264. 2006.

PASCHOLATTI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: Alterações fisiológicas induzidas por fitopatógenos. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. V. 1. Cap. 21 e 22. São Paulo, 1995.

PASTORE, K. Mercado de flores cresce 30% ao ano. Jornal do Brasil, rio de Janeiro, 23 jan., 1994. Negócios e Finanças, p.23.

PATRÍCIO, F. R. A. Controle de doenças de hortaliças – convencional vs. alternativo. Palestra. Biológico, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 87-90, jul./dez., 2007.

PITTA, G. P. B.; CARDOSO, R. M. G.; HENNEN, J. F. Ocorrência da ferrugem branca (*Puccinia horiana* P. Henn.) do crisântemo (*Chrysanthemum* spp.) no estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, v. 3, p. 75-80, 1977.

RADEMAKER, W.; JONG, J. Types of resistance to *Puccinia horiana* in chrysanthemum. *Acta Hort.* (ISHS)197:85-88, 1987. http://www.actahort.org/books/197/197_9.htm, Acesso: 19 abr. 2008.

RESENDE, M. L. V. de; BARRETTI, P. B.; MEDEIROS, F. C. L. de; SILVA, D. D. da; PEREIRA, R. B.; LINS, S. R. de O.; PEREIRA, L. de M.; CAMPOS, M. de A. Percepção e transdução de sinais para a ativação de respostas de defesa em plantas contra patógenos. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 15, p. 173-242, 2007.

RODRIGUEZ-NAVARRO, J. A.; ZAVALA-MEJÍA, F. & ALATORRE-ROSAS. 1996. Epidemiología y manejo de la roya blanca (*Puccinia horiana* P. Henn.) del crisantemo (*Dendranthem grandiflora* Tzvelev). *Fitopatología*, v. 31, n. 2, p. 122-32, 1996.

SALINGER, J. P. *Producción Comercial de Flores*. Editorial Acrabia, Zaragoza (Espanã), p. 223-244, 1991. 371p.

SANDOVAL, R. F. R.; NORMAN, M. T.; CORONA, R. M. C.; AQUINO, M. J.; VÁZQUEZ, G. L. M.; GARCIA, F. A. Determinacion Del nivel de daño causado por *Puccinia horiana* Henn. Em 15 variedades de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.) cultivadas em México. *Fitopatología*, v. 32, n. 3, nov. , p. 160-165, 1997.

SHEROZE, A., A. RASHID†, A.S. SHAKIR AND S.M. KHAN. Effect of bio-control agents on leaf rust of wheat / *Int. J. Agri. Biol.*, v. 5, n. 1, 2003.

SMITH, I. M.; McNAMARA, D. G.; SCOTT, P. R.; HARRIS, K. M. Quarantine Pest for Europe, *Puccinia horiana*. CAB International in association with EPPO, 1992.

SMITS, G.; RINALDI, R.; NOGUERA, R. Roya blanca Del Crisantemo em Venezuela. *Fitopatología*, v. 27, p. 90-92, 1992.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V. J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. *Acta Botânica Brasileira*, v. 19, n. 1, p. 183-194. 2005.

SILVA, D. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 32, p. 143-145, 2007.

SILVEIRA, R. L. V. de; MUNIZ, A. R. A.; SILVA, C. R.; CAMARGO, F. R. A. de. Aspectos nutricionais envolvidos na ocorrência de doenças com ênfase para a ferrugem (*Puccinia psidii*) do eucalipto. <http://www.rragroflorestal.com.br/divulgacao/pdf/ferrugem.pdf>, Acesso, 17 set., 2006.

SMITH, I. M.; McNAMARA, D. G.; SCOTT, P. R.; HARRIS, K. M. *Puccinia horiana*. Disponível em: www.eppo.org/QUARENTINE/fungi/Puccinia_horiana/PUCCHN_ds.pdf, 1992. Acesso, 29 mai., 2006.

SOARES, A. M. dos S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*, v.1, n. 1, p. 9, 2007.

SOGLIO, F. K. D. Manejo de doenças na perspectiva da transição agroecológica. In: Manejo ecológico de doença de plantas. Stadnik, M. J. & Talamini, V. Florianópolis, SC, UFSC, 2004.

SRIVASTAVA, A. K.; DÉFAGO, G.; KERN, H. Hyperparasitism of *Puccinia horiana* and other microcyclic rusts. *Phytopathologische Zeitschrift, Journal of Phytopathology*, v. 114, n. 1, p. 73 – 78, 1985.

STRINGHETA, A. C. O. Teores foliares de macronutrientes em crisântemos cultivados em substratos contendo composto de lixo urbano e casca de arroz carbonizada. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, Campinas - SP, v. 9, n. 2, p. 191-197, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. Trad. Eliane Romanato Santarém [et al.] 3. Ed., Porto Alegre, Artmed, 2004.

TAKATSU, Y.; OHISHI, K.; TOMITA, Y.; HAYASHI, M.; NAKAJIMA, M.; AKUTSU, K. Use of chrysanthemum plantlets grown in vitro to test cultivar susceptibility to white rust, *Puccinia horiana* P. Hennings. Plant Breeding, v. 119, n. 6, dec., p. 528-530, 2000.

TALAMINI, V.; STADINIK, M. J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: Stadnik, M. J.; Talamini, V. Manejo ecológico de doenças de plantas. Florianópolis, 2004.

TANIO, D. S.; SIMÕES, S. C. Cadeia de Suprimentos de Flores e Plantas Ornamentais no Brasil – uma nova abordagem para aumentar a participação do setor no mercado internacional. Grupo de estudos logísticos Universidade Federal de Santa Catarina. pdf. Estudos realizados - GELOG-UFSC 2005. Acesso, 07 nov. 2007.

TAVARES, A. R. R.; BARBOSA, J. G.; FINGER, F. L.; LEITE, R. DE A. Vida de prateleira de minicrisântemos em vaso tratados com tiosulfato de prata. Bragantia, Campinas, n.4, p.673-678, 2005.

TOMITA, C. K. Manejo de matéria orgânica no controle de *Ralstonia solanacearum* em tomateiro. (Dissertação de Mestrado). Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2001.

VAN DER MERWE, M.; ERICSON, L.; WALKER, J.; THRALL, P. H.; BURDON, J. J. Evolutionary relationships among species of *Puccinia* and *Uromyces* (Pucciniaceae, Uredinales) inferred from partial protein coding gene phylogenies. Mycol. Res., v. 111, n. 2, p. 163-75, 2007.

VAN DER PLANK, J. E. Plant diseases: epidemics and control. New York: Academic Press, p. 5-52, 1963.

VALANT-VETSCHERA, K. M.; FISCHER, R.; WOLLENWEBER, E. Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (Asteraceae—Anthemideae): new results and

chemosystematic interpretation. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 31, p. 487–498, 2003.

VALE, R. F. X. do; ZAMBOLIM, L. Influência da temperatura e da umidade nas epidemias de doenças de plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 4, 1996.

VAN DER PLANK, J. E. *Plant diseases: epidemics and control*. New York: Academic Press, p. 5-52, 1963.

VEIGA, R. F. A. A importação e a quarentena de germoplasma vegetal no Brasil. 2007. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/quarentena/index.htm>. Acesso em: 9/3/2009.

VELASCO, R. G.; MEJÍA, E. Z.; MARTÍNEZ, R. I. R.; MIR, S. G. L.; DÁVILA, G. F.; SIMPSON, J. Variación patogênica y moleclar de aislamientos de *Puccinia horiana* Henn. *Revista Fitotecnia Mexicana*, v. 30, n. 3, p. 223-234, 2007.

VENCES-CONTRERAS, C.; VÁZQUEZ-GARCÍA, L. M. Inoculación in vitro de la roya blanca (*Puccinia horiana* Hennings) em crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). *Agronomía Mesoamericana*, v. 19, n. 1, p. 81-5, 2008.

WHEELER, W.B. The role of research and regulation in 50 years of pest management in agriculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.50, p.4151-4155, 2002.

WHIPPS, J. M. A review of white rust (*Puccinia horiana* Henn.) disease on chrysanthemum and the potential for its biological control with *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas. *Annals of Applied Biology*, v. 2, n. 1, febr., 1993.

WISE, K. A.; MUELLER, D. S.; BUCK, J. W. Quarantines and Ornamental Rusts. *APSnet*, fev., p. 1-8, 2004.

WOJDYLA, A. T. Chitosan (biochikol 020 PC) in the controlo f some ornamental foliage diseases. *Communnications Agricultural and Appllyed Biological Sciences*, v. 69, n. 4, p. 705-15, 2004.

WOJDYLA, A. T. Influence of strobilurin compounds on the development of *Puccinia horiana*. *Communications Agricultural and Applied Biological Sciences*, v. 72, n. 4, p. 961-6. 2007.

YAMADA, S. Experiments on the epidemiology and control of Chrysanthemum White Rust, caused by *Puccinia horiana* P. Henn. *Annual Phytopathology Society Japan*, v. 20, p. 148-154, 1955.

YODER. Boletim Yoder, acesso 09 jan. 2008.
http://www.yoder.com/grower/garden/insect/07228_CWR_Bulletin.pdf

XU, T.; HUANG, K.; GUO, F.; QU, W.; YANF, J.; LIANG, Z. LUO, Y. Postharvest grapefruit seed extract and chitosan treatments os table grapes to control *Botrytis cinérea*. *Postharvest Biology and Technology*. ScienceDirect. ELSEVIER, v. 46, p. 86-94, 2007.

ZANDVOORT, R.; GROENEWEGEN, C. A. M.; ZADOKS, J. C. On the incubation period of *Puccinia horiana*. *Neth. J. Pl. Path.*, v. 74, p. 128-130, 1968.

ZAVALETA-MEJÍA, E. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. *TERRA*, v. 17, n. 3, p. 201-207, 1999. pdf

ANEXOS

Tabela 1. Temperaturas mínimas diárias do ano de 2006, conforme a estação climatológica principal de Brasília/DF, INMET*.

Dia	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
1	17,4	17,8	18,8	19,2	16,2	13,2	13,6	17,1	18,4	19,8	19,6	18,7
2	18,4	17,3	19,2	18,7	16,4	15,9	13,9	17,5	18,0	19,3	19,0	19,1
3	18,2	18,3	19,3	19,0	16,8	15,6	14,0	16,7	15,0	19,1	18,4	18,5
4	17,5	18,4	19,4	19,8	15,1	13,4	14,5	15,8	16,6	17,8	18,4	18,4
5	17,4	18,2	18,5	19,5	16,2	13,0	13,0	17,7	12,6	19,2	19,4	19,8
6	17,2	19,3	18,7	18,9	15,3	12,5	13,6	16,6	13,6	19,1	19,6	19,1
7	17,1	18,4	18,6	19,0	18,6	12,5	11,4	16,1	16,0	17,0	18,5	17,6
8	18,4	18,9	17,7	18,4	17,2	13,8	13,2	15,7	16,0	16,5	18,4	17,6
9	17,1	18,9	18,5	18,9	16,5	13,6	15,0	15,6	15,2	18,6	18,8	17,4
10	19,0	18,5	17,6	18,5	16,3	13,5	14,4	15,6	15,8	17,8	18,8	19,5
11	17,9	18,3	19,0	17,1	16,3	13,8	15,9	17,0	17,1	17,4	15,2	18,2
12	17,9	18,5	18,6	18,9	14,7	13,2	14,6	17,2	17,4	17,7	15,8	18,2
13	18,0	18,7	18,5	18,7	13,9	13,6	14,6	14,9	16,9	17,8	15,7	18,8
14	18,2	19,3	18,9	19,4	15,4	13,9	13,0	16,6	17,4	17,6	16,5	18,0
15	18,9	19,3	19,0	19,7	16,5	13,6	12,5	14,7	19,1	18,7	16,7	18,0
16	19,0	18,5	18,0	18,7	16,3	12,2	13,3	17,9	19,1	18,4	16,6	18,6
17	17,5	18,9	18,8	19,0	14,3	14,6	13,6	17,3	19,8	18,5	18,8	18,8
18	17,1	17,7	18,5	18,4	14,5	15,5	13,4	15,8	20,2	17,7	18,3	18,3
19	19,6	19,5	18,6	16,8	12,8	13,6	13,0	17,5	20,1	17,8	18,0	18,2
20	18,9	18,2	16,8	16,6	11,8	13,1	13,1	18,7	19,2	17,8	19,6	18,6
21	18,5	17,9	16,8	16,2	13,6	13,6	12,8	18,2	17,8	18,7	18,4	19,2
22	18,7	17,4	19,4	14,5	14,6	13,3	11,8	15,3	18,4	18,0	17,4	18,0
23	18,6	18,5	18,9	15,3	16,0	15,1	12,4	16,0	19,1	17,2	17,4	19,5
24	19,1	19,4	19,5	16,0	15,4	12,1	10,8	15,1	17,9	18,0	17,8	18,8
25	19,3	18,8	19,5	17,4	15,8	15,5	12,9	16,6	17,6	17,5	18,6	18,8
26	18,2	19,9	19,0	16,3	15,4	12,5	15,1	17,0	18,9	16,7	18,3	19,9
27	19,0	19,7	17,8	16,5	16,4	14,6	14,4	16,4	17,6	17,5	18,2	19,3
28	19,0	19,3	19,2	16,8	14,0	14,4	15,9	17,3	16,0	19,0	17,8	19,6
29	19,1		19,8	16,8	15,0	15,2	16,4	19,4	16,8	18,2	18,0	18,0
30	17,3		18,7	18,2	14,7	14,7	17,2	19,0	19,9	18,5	19,2	19,1
31	18,3		18,7		15,9		17,4	16,8		18,4		17,8

*Dados do Instituto Nacional de Meteorologia – INMET, Estação Climatológica Principal de Brasília/DF, Latitude: 15°47'S Longitude: 47°56'W Altitude: 1.159,54 m

Tabela 2. Temperaturas mínimas diárias do ano de 2007, conforme a estação climatológica principal de Brasília/DF, INMET.

Dia	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
1	17,1	18,4	19,3	17,7	16,7	15,5	13,2	12,3	15,8	18,4	19,8	17,2
2	17,0	19,0	18,7	18,7	16,9	14,6	13,7	13,0	15,4	17,2	17,1	18,3
3	18,9	19,3	18,6	18,9	16,8	15,8	14,1	13,1	16,8	17,3	17,1	18,7
4	18,3	18,8	18,4	18,4	15,7	16,8	15,0	15,1	17,0	17,0	17,4	18,0
5	19,3	18,8	18,4	17,3	15,8	13,9	15,4	14,9	16,0	19,4	17,4	18,0
6	18,3	18,0	16,9	17,3	15,9	15,9	15,0	15,8	15,6	19,5	18,5	19,7
7	17,5	18,6	18,3	18,7	15,6	16,9	14,1	13,8	17,0	18,6	18,4	19,1
8	17,5	18,5	19,3	20,0	17,7	13,2	14,0	14,6	16,6	19,5	20,1	17,7
9	18,6	19,2	16,5	18,5	16,2	15,1	14,4	14,7	16,1	18,2	17,2	17,7
10	19,7	17,5	17,6	18,0	17,1	12,8	13,8	15,5	15,6	17,3	17,2	18,5
11	18,8	19,0	19,2	18,7	15,4	12,1	14,1	14,6	16,3	18,7	18,0	17,2
12	19,2	19,0	17,9	18,6	14,6	14,0	16,6	14,3	16,6	19,7	18,2	15,2
13	19,1	18,4	18,2	17,7	15,7	16,5	15,4	14,4	17,2	18,0	17,7	19,1
14	18,9	18,4	17,9	18,4	13,4	16,1	13,4	13,3	16,8	19,5	17,2	17,6
15	18,9	17,8	19,1	18,5	14,6	15,8	13,6	13,8	15,8	20,8	19,3	18,7
16	19,5	18,8	17,2	17,9	14,6	12,5	13,6	13,2	16,8	21,5	18,9	19,7
17	18,9	19,4	18,7	18,3	17,4	13,8	15,2	13,6	18,3	20,5	19,5	18,7
18	19,7	18,9	18,3	15,1	14,9	15,8	16,7	13,5	21,6	20,4	19,9	19,0
19	19,2	18,0	17,7	17,4	16,0	15,5	14,0	13,6	20,7	17,8	18,7	18,0
20	20,4	15,9	18,5	17,7	16,9	15,4	15,7	12,9	19,2	17,4	20,4	17,9
21	18,9	15,6	18,0	18,6	17,3	14,6	18,4	14,6	19,2	19,7	20,2	17,8
22	19,2	16,8	17,9	17,8	15,9	14,2	16,1	17,2	18,0	17,9	19,4	17,3
23	18,2	18,4	19,1	18,9	16,4	14,2	17,7	14,6	17,9	18,4	18,5	17,4
24	18,7	18,4	20,2	18,2	15,7	13,7	17,8	15,5	20,3	18,3	17,6	17,4
25	18,9	18,2	19,4	17,4	10,9	16,1	16,7	13,7	18,0	17,3	19,0	17,7
26	19,5	18,3	19,5	17,4	14,1	15,4	14,2	16,5	19,1	18,2	18,5	19,0
27	19,1	18,4	20,0	18,7	15,8	14,6	14,3	19,8	16,5	18,8	18,0	18,0
28	18,8	18,4	20,4	19,9	16,8	12,4	16,0	18,2	17,5	19,9	19,6	16,3
29	19,3		18,7	17,3	17,0	13,5	15,1	19,3	17,0	22,3	19,3	18,9
30	19,2		19,0	16,2	14,6	13,2	14,0	15,9	20,0	22,0	17,1	19,3
31	18,6		16,2		13,7		12,1	14,0		19,6		18,7

Tabela 3. Temperaturas médias compensadas do ano de 2006, conforme a estação climatológica principal de Brasília/DF, INMET.

Dia	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
1	21,2	20,8	22,3	20,8	21,7	19,8	17,8	21,5	23,3	22,6	21,3	20,8
2	21,5	20,1	23,4	21,1	21,6	19,8	18,5	21,8	24,2	21,0	21,7	21,7
3	20,5	21,4	23,5	23,2	21,3	18,6	17,5	21,8	20,5	21,0	20,4	21,1
4	21,6	22,4	20,8	22,5	20,5	17,8	15,3	21,7	21,1	22,0	22,0	22,9
5	20,0	23,0	23,2	21,9	21,1	18,0	16,3	21,7	18,6	21,5	23,0	23,2
6	19,2	22,6	23,8	22,1	21,1	18,4	18,1	21,0	21,4	22,1	21,8	20,9
7	21,2	21,0	20,8	21,2	21,3	18,5	18,0	20,2	20,2	19,7	21,7	20,1
8	20,0	21,4	21,0	19,9	20,2	17,9	19,9	19,8	20,9	20,4	21,0	20,6
9	20,4	22,7	21,5	20,9	20,5	17,7	21,4	21,1	20,9	21,9	20,8	21,4
10	23,0	21,2	20,9	20,3	20,0	18,3	21,3	21,9	23,8	19,1	21,2	22,2
11	21,4	21,7	22,0	21,5	19,9	18,9	20,1	22,1	21,6	21,2	19,5	19,7
12	20,6	21,1	20,8	21,4	18,9	19,4	18,8	21,7	22,0	21,9	19,2	19,8
13	20,8	22,4	21,1	22,1	20,1	18,6	18,1	21,0	23,0	19,9	18,9	20,8
14	22,1	22,9	21,3	23,6	20,5	18,4	17,1	22,2	23,9	21,2	20,3	20,4
15	22,9	22,3	20,7	23,5	20,8	18,5	16,8	21,5	24,4	21,0	22,1	20,4
16	23,1	21,6	21,1	22,8	20,3	19,5	17,4	23,2	24,5	21,3	22,5	21,1
17	23,3	23,6	19,8	21,4	19,1	20,0	18,2	23,9	25,0	21,0	22,8	21,6
18	23,9	23,7	19,6	20,5	18,1	19,2	18,7	22,6	26,6	22,0	24,2	21,0
19	24,4	23,1	20,7	19,0	17,5	17,6	18,4	23,3	24,1	21,1	24,3	21,0
20	23,4	22,1	19,9	18,5	17,6	17,7	19,6	23,1	21,8	20,9	23,3	22,1
21	22,6	21,5	21,8	19,9	19,4	17,8	20,0	22,1	21,9	21,6	21,2	22,4
22	23,8	21,5	23,2	20,4	20,6	18,3	19,5	21,0	22,5	20,1	21,3	23,7
23	25,0	21,9	22,9	21,1	20,7	18,0	19,0	18,9	23,1	20,9	21,8	24,9
24	25,6	22,6	23,0	21,5	20,0	17,7	20,0	19,5	20,0	19,5	21,6	24,6
25	24,9	22,5	22,1	21,3	19,7	17,4	20,2	21,0	22,7	18,0	21,4	24,6
26	23,9	22,9	21,5	21,1	19,8	19,2	21,0	21,4	23,3	20,5	21,7	22,6
27	23,4	22,3	21,7	22,1	19,9	20,5	21,7	22,5	19,6	22,2	21,0	22,4
28	23,0	22,4	21,9	21,9	20,1	19,8	22,2	23,9	20,5	22,9	20,7	22,3
29	22,5		21,7	20,8	21,2	18,7	22,7	23,7	23,3	24,1	21,7	22,1
30	20,2		20,9	21,6	20,3	19,2	22,8	23,9	23,1	23,7	23,7	21,1
31	21,7		22,2		20,5		21,0	21,7		22,1		21,2

Tabela 4. Temperaturas médias compensadas do ano de 2007, conforme a estação climatológica principal de Brasília/DF, INMET.

Dia	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
1	18,9	21,2	22,9	24,1	22,1	20,1	20,0	17,6	21,3	21,8	23,8	20,8
2	21,2	21,8	22,2	24,5	21,9	20,6	19,2	18,5	21,6	21,6	21,8	21,8
3	21,1	20,5	21,8	22,3	21,4	21,9	19,0	19,4	21,9	23,1	23,0	22,4
4	22,1	20,8	21,7	23,0	20,7	19,6	19,6	20,5	21,3	24,1	22,1	21,0
5	22,1	20,2	22,2	22,6	19,9	20,4	19,8	20,9	20,7	24,6	22,8	24,2
6	20,6	20,5	22,2	23,3	20,7	21,4	18,9	20,6	20,8	24,7	20,3	23,9
7	20,3	20,2	22,2	23,7	21,4	21,1	18,8	20,3	21,6	24,7	23,4	22,9
8	22,2	21,7	22,5	22,8	22,9	19,9	20,0	19,9	21,2	24,6	23,7	21,2
9	23,9	23,4	22,3	20,8	21,7	19,2	20,5	19,6	20,7	23,0	21,2	22,0
10	22,3	23,7	22,9	22,1	20,4	19,0	20,6	19,5	21,5	23,2	21,3	20,1
11	21,7	23,6	22,9	22,4	18,6	X	20,4	19,6	22,6	24,6	21,8	18,7
12	22,6	22,2	22,5	22,2	19,6	20,1	20,6	19,9	22,3	25,9	24,0	22,9
13	20,6	20,2	23,0	22,4	20,2	20,5	19,7	19,3	22,2	21,5	20,8	25,0
14	20,6	20,5	22,5	22,4	20,1	X	20,0	18,6	22,3	25,4	22,5	20,5
15	21,9	21,7	22,3	22,4	21,5	X	20,5	18,7	23,2	25,9	21,5	22,6
16	22,9	22,7	21,1	22,3	21,5	19,6	20,6	18,2	24,8	26,1	24,1	22,2
17	23,7	22,0	22,2	21,5	22,2	20,9	21,3	18,5	26,1	27,1	24,0	23,0
18	23,7	21,8	22,4	20,1	21,0	20,5	21,8	19,5	25,5	25,8	24,2	21,7
19	24,1	20,3	22,0	20,2	21,0	19,9	20,6	19,7	25,4	20,2	24,3	19,7
20	24,9	19,1	22,4	20,1	21,8	19,3	21,8	20,7	25,6	24,0	23,3	20,4
21	24,7	19,5	21,3	20,8	21,5	19,2	22,2	21,6	24,8	23,4	24,4	19,9
22	22,6	21,7	23,3	22,2	21,5	19,0	21,6	21,6	25,0	22,2	21,9	18,9
23	21,7	22,3	23,7	21,4	21,4	19,2	22,7	20,4	25,8	21,1	21,8	20,5
24	22,4	22,3	23,7	22,8	17,1	19,8	22,1	20,3	27,2	23,0	23,0	19,9
25	21,1	21,3	23,1	22,3	17,2	19,3	21,5	21,7	25,6	21,5	21,8	22,0
26	21,8	22,1	23,5	21,6	20,6	18,8	18,2	24,0	23,3	22,6	20,4	22,8
27	21,0	21,3	23,7	23,2	22,6	19,0	21,9	25,3	22,1	24,6	22,5	22,5
28	22,1	21,1	23,8	22,1	21,1	19,0	19,4	24,8	23,0	26,6	23,6	22,9
29	22,3		23,4	20,4	21,6	20,0	19,1	23,5	24,1	28,1	21,8	23,6
30	20,3		22,9	21,8	19,1	20,0	18,7	19,9	23,8	25,7	20,7	23,6
31	22,2		23,5		19,9		17,2	19,5		24,2		24,3

Tabela 5. Temperaturas máximas diárias do ano de 2006, conforme a estação climatológica principal de Brasília/DF, INMET.

Dia	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
1	26,1	28,2	27,3	24,8	27,4	25,5	24,0	28,2	28,3	29,7	26,1	26,1
2	27,3	25,4	29,2	25,5	27,5	25,1	25,6	27,6	26,6	26,1	26,9	26,1
3	27,0	27,1	29,7	28,4	27,1	23,9	22,5	27,8	27,8	26,0	23,7	25,3
4	27,2	27,6	24,4	27,1	27,8	23,4	17,7	27,0	27,0	27,9	26,5	28,0
5	25,2	27,9	28,9	27,7	26,8	24,0	20,5	27,1	26,6	27,6	27,1	29,6
6	23,2	28,1	30,0	26,4	28,2	24,5	24,6	26,5	28,7	27,1	26,0	26,9
7	26,3	28,5	27,0	27,1	27,0	24,1	25,7	26,1	26,1	27,1	28,2	26,2
8	24,4	28,2	26,7	23,2	25,0	23,4	27,3	26,1	26,8	25,9	25,3	27,1
9	24,7	27,4	26,1	26,5	26,6	23,5	28,5	27,0	27,5	26,7	24,0	27,2
10	25,1	27,1	26,5	24,4	25,7	24,0	27,6	28,6	27,7	20,9	26,1	26,7
11	25,7	26,8	27,1	28,2	25,9	24,5	26,4	28,6	27,5	27,1	23,9	22,3
12	24,7	25,3	26,5	26,3	25,5	25,2	25,0	27,5	27,3	27,6	23,6	22,3
13	24,7	28,5	26,2	27,4	26,8	24,6	23,6	29,0	29,2	26,4	24,0	24,3
14	27,9	28,2	25,5	29,0	27,6	24,6	23,1	28,8	30,4	25,9	25,9	24,6
15	27,6	27,6	24,9	28,4	26,2	24,1	22,1	29,0	30,0	25,7	28,0	24,3
16	28,2	26,9	25,7	28,0	25,7	26,6	23,0	29,2	30,6	26,2	28,1	25,7
17	28,6	29,0	21,6	27,4	24,6	26,0	23,6	30,1	31,6	25,7	28,9	26,9
18	30,2	29,3	22,8	24,7	22,7	24,8	24,8	30,0	32,7	26,7	30,0	27,6
19	28,9	29,1	25,7	23,5	24,6	22,9	26,0	31,0	31,9	27,1	30,6	25,3
20	28,5	29,0	23,7	21,8	24,0	22,6	26,6	30,0	28,0	27,5	29,7	26,7
21	27,2	28,4	27,5	26,5	25,2	23,1	26,4	28,6	26,8	27,0	26,7	26,9
22	29,4	28,0	27,8	26,3	25,9	24,3	27,4	29,5	27,5	25,7	26,9	28,7
23	30,6	28,0	28,0	27,1	26,6	23,7	26,0	25,4	29,2	25,6	27,4	30,0
24	31,6	28,8	28,5	27,1	25,0	24,1	27,6	26,4	23,7	22,9	27,1	30,0
25	31,2	28,8	27,1	27,0	25,0	21,3	27,2	26,8	27,4	19,5	24,6	30,4
26	31,4	28,0	27,4	27,6	25,1	26,5	27,7	27,7	28,8	26,1	26,5	30,0
27	30,2	27,5	27,5	28,0	25,1	27,3	29,5	29,0	25,0	27,6	26,9	26,7
28	29,1	27,8	27,1	28,5	26,7	25,6	29,0	29,5	26,6	29,8	26,0	26,9
29	28,1		25,6	27,2	27,1	25,2	30,3	30,0	29,0	30,3	27,1	27,1
30	25,0		26,5	26,7	26,6	25,0	29,3	29,6	29,5	29,4	25,5	24,8
31	25,7		27,0		26,2		27,7	28,0		27,7		26,9

Tabela 6. Temperaturas máximas diárias do ano de 2007, conforme a estação climatológica principal de Brasília/DF, INMET.

Dia	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
1	21,5	27,2	27,4	30,0	27,8	26,5	26,0	24,5	27,6	28,7	30,8	26,0
2	25,0	27,2	27,1	30,0	28,0	28,0	25,3	25,1	27,7	27,4	26,3	28,1
3	26,5	24,3	26,1	26,4	27,1	28,2	25,3	25,6	27,6	29,3	29,3	27,3
4	26,5	25,7	26,8	27,5	26,3	25,7	25,5	26,8	26,8	30,3	28,2	25,4
5	27,4	22,9	27,4	28,8	25,3	26,5	25,9	27,7	25,9	31,4	29,2	27,7
6	25,9	25,4	28,0	29,6	26,1	27,4	23,5	26,7	26,6	30,4	23,4	29,7
7	24,8	23,5	27,2	28,2	27,8	26,7	25,7	27,3	27,4	30,9	29,8	29,4
8	26,9	26,5	27,1	28,0	29,2	26,2	26,2	26,3	27,6	30,8	30,8	27,9
9	30,0	28,0	28,2	27,2	27,8	24,7	26,5	25,9	27,5	28,8	29,4	28,0
10	27,6	29,2	28,3	28,4	26,5	25,5	28,0	25,3	28,2	29,5	27,7	25,6
11	27,2	29,9	27,8	27,5	23,6	26,6	26,9	25,7	29,8	31,0	26,9	22,8
12	28,6	27,1	27,4	27,3	25,5	26,3	26,7	26,4	28,7	32,0	30,1	28,4
13	23,3	23,9	28,3	27,8	25,9	26,7	25,7	25,7	28,0	27,1	24,6	30,6
14	23,9	24,9	29,0	27,7	27,8	28,1	27,1	25,2	28,7	30,5	29,0	25,4
15	27,1	28,2	29,0	27,6	27,8	27,4	26,9	24,9	29,4	31,7	27,6	28,6
16	27,4	27,2	25,3	27,6	28,4	26,4	28,6	24,6	32,2	32,2	30,6	27,0
17	29,4	26,9	28,0	27,6	28,4	27,6	28,3	23,9	32,4	34,3	29,7	28,0
18	30,3	26,1	27,7	25,7	27,2	27,1	29,2	25,7	31,1	32,1	28,8	27,2
19	29,8	27,1	28,0	26,1	27,6	25,0	27,9	26,3	31,2	24,9	29,8	24,3
20	29,8	25,9	28,6	24,3	25,9	25,1	28,4	27,4	32,4	31,4	29,0	26,2
21	30,8	23,3	26,9	24,5	27,8	25,5	27,6	28,1	31,6	30,2	29,3	23,2
22	29,0	26,3	28,6	27,4	28,2	25,3	28,8	27,8	31,2	30,2	27,8	22,4
23	26,2	27,1	28,9	27,9	27,4	25,1	28,4	26,5	33,6	26,2	26,6	25,0
24	26,5	27,2	28,4	27,8	21,3	25,8	29,2	27,2	34,2	30,7	29,0	22,8
25	26,9	27,3	28,2	28,1	24,3	24,3	29,0	30,6	32,4	30,2	27,4	26,6
26	27,1	26,9	28,6	27,5	28,3	24,1	24,1	31,1	29,6	30,4	22,8	27,2
27	23,3	26,0	28,8	29,6	29,0	24,2	28,6	32,8	28,5	30,0	27,8	27,8
28	28,2	25,7	28,9	27,5	27,6	26,3	24,9	32,1	28,8	32,9	29,6	28,5
29	27,5		29,2	25,5	27,5	26,7	25,1	29,4	30,0	34,1	26,6	28,2
30	23,0		28,2	28,2	25,9	26,1	25,1	25,8	30,2	32,0	25,3	27,8
31	27,6		29,2		26,3		24,4	25,6		32,7		29,8

Tabela 7. Precipitação total diária (mm) do ano de 2006, conforme a estação climatológica principal de Brasília/DF, INMET.

Dia	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
1	2,8	18,6	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,5	17,2
2	0,1	62,5	34,8	8,4	0,0	0,0	0,0	0,2	4,1	2,8	19,4	1,4
3	4,7	1,3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	12,6	0,4	2,2	3,0
4	10,7	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,9	19,9	0,3
5	0,0	0,0	5,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7	4,4	0,0
6	23,0	0,0	0,0	5,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,4	5,4	0,6
7	12,5	16,4	0,0	0,9	7,2	0,0	0,0	0,0	2,8	3,2	17,0	1,1
8	2,1	0,0	2,4	18,8	5,4	0,0	0,0	0,0	0,0	69,7	39,8	1,0
9	7,8	21,1	11,2	15,5	13,4	0,0	0,0	0,0	0,0	5,3	0,6	14,9
10	2,1	0,0	44,1	11,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	42,3	7,4	0,3
11	0,1	33,8	0,0	2,0	4,8	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	5,2	0,0
12	0,0	0,0	30,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	26,9	0,0	71,0
13	0,0	0,0	1,3	8,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	19,2	0,1	1,1
14	0,0	5,3	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	33,7	0,0	1,4
15	0,0	2,0	2,2	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	13,8
16	0,0	0,8	9,3	0,0	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1
17	0,0	1,0	4,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,7	0,0	0,2
18	0,0	0,0	23,2	35,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,1	0,0	28,9
19	0,0	0,0	0,7	33,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	29,2	0,0	13,4
20	0,0	6,4	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8	14,3	0,2	1,1
21	0,0	2,0	15,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	0,8	0,0
22	0,0	13,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,0	0,3	1,7	0,0
23	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,8	0,0	84,8	26,0	0,0
24	0,0	2,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,6	10,9	15,1	0,3	0,0
25	0,0	0,5	1,8	0,0	0,0	0,7	0,0	42,2	0,1	8,5	0,0	0,0
26	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	13,5	22,8	0,0
27	0,2	0,6	19,9	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	103,1	1,8	1,1
28	33,3	2,4	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	17,2	3,0
29	9,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,7	2,9	1,2
30	7,2		4,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0
31	7,5		42,7		0,0		0,1	0,0		0,0		3,0

Tabela 8. Precipitação total diária (mm) do ano de 2007, conforme a estação climatológica principal de Brasília/DF, INMET.

Dia	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
1	71,0	2,7	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	37,0
2	23,2	2,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,7	3,7	1,4
3	9,2	8,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	41,0	14,0
4	4,2	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2
5	0,0	9,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	19,2	22,3
6	3,8	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	13,4	0,0
7	20,5	16,8	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	0,0
8	1,6	27,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	13,1
9	0,0	2,7	0,0	16,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	57,2
10	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	28,3	6,7
11	0,9	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	15,2	35,2	10,5
12	1,1	8,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,6
13	15,2	13,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	16,8	6,8	0,0
14	11,0	22,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	5,3	32,8
15	20,9	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
16	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,0	0,7
17	11,8	0,0	17,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,5
18	0,0	29,0	4,0	8,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9
19	15,8	13,6	10,6	13,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,1	0,0	30,9
20	0,0	7,9	0,0	4,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	4,7
21	0,0	13,9	0,1	4,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,6
22	0,0	0,0	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,3
23	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	3,6	1,9
24	1,0	0,0	0,0	0,0	4,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,8
25	20,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	3,8
26	2,8	33,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,3	49,5	0,0
27	2,5	4,8	0,0	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	7,0	0,0
28	8,8	5,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
29	6,8		0,0	0,0	2,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
30	1,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,3	0,0
31	5,6		0,0		0,0		0,0	0,0		1,2		0,0

Tabela 9: Umidade relativa do ar, média diária (%) do ano de 2006, conforme a estação climatológica principal de Brasília/DF, INMET.

Dia	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
1	78	78	85	92	61	54	64	60	55	69	83	87
2	75	82	74	83	64	53	52	61	85	73	89	76
3	92	76	63	67	63	61	58	51	65	84	93	79
4	71	71	85	75	61	62	78	47	65	85	77	61
5	88	65	73	78	63	54	71	44	45	79	76	66
6	93	75	64	78	67	56	59	47	48	79	97	80
7	77	76	82	79	70	54	52	45	65	87	77	82
8	92	80	84	91	82	59	55	44	49	82	85	83
9	82	76	86	82	73	57	49	46	43	78	79	75
10	61	87	84	89	76	55	40	49	35	93	82	78
11	69	76	79	76	71	56	46	47	43	80	71	95
12	72	79	85	81	63	53	52	39	38	74	74	93
13	74	74	83	79	64	60	66	49	32	87	74	89
14	65	73	83	68	67	65	48	42	26	75	69	87
15	55	82	92	67	79	60	51	41	28	81	66	91
16	50	80	81	71	60	52	57	36	25	86	59	84
17	47	60	93	83	52	54	61	31	36	92	49	84
18	41	58	89	87	53	55	53	33	32	83	52	82
19	50	75	87	84	53	54	55	35	50	82	51	72
20	55	76	85	80	60	58	42	38	66	87	71	74
21	56	80	74	70	58	55	32	44	66	83	84	75
22	54	72	63	58	61	67	31	54	60	89	77	63
23	43	80	65	61	58	65	31	71	63	85	78	47
24	44	75	68	61	62	63	33	67	87	89	77	57
25	53	75	80	65	66	83	46	48	64	96	86	57
26	54	78	78	71	65	57	44	49	62	81	86	70
27	80	82	79	61	61	58	40	45	73	76	78	77
28	76	82	79	62	54	55	42	43	62	72	81	77
29	81		81	67	51	72	43	57	53	58	76	75
30	88		94	65	44	61	45	46	62	65	71	88
31	84		78		46		68	57		78		83

Tabela 10: Umidade relativa do ar, média diária (%) do ano de 2007, conforme a estação climatológica principal de Brasília/DF, INMET.

Dia	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
1	93	84	64	47	57	63	43	33	29	55	67	82
2	85	78	61	46	51	53	45	37	33	57	81	79
3	90	88	64	68	50	55	100	41	32	40	70	79
4	63	88	62	54	29	71	55	40	41	28	87	85
5	73	91	64	59	53	60	58	35	38	33	69	44
6	83	87	62	54	69	55	61	42	45	33	88	62
7	79	92	67	54	60	49	49	38	37	32	57	80
8	78	80	61	70	51	44	49	41	35	28	61	83
9	66	56	60	77	61	46	53	44	28	28	75	77
10	84	49	57	72	74	41	45	45	36	34	84	84
11	80	68	45	66	67	X	48	41	37	29	73	91
12	79	75	62	63	61	49	41	51	58	32	63	55
13	90	85	60	52	50	55	47	37	33	66	79	55
14	91	90	67	60	45	X	45	36	39	43	63	81
15	79	77	72	60	44	X	40	38	24	29	76	67
16	75	72	80	59	40	54	39	47	25	30	54	70
17	65	86	76	66	44	48	40	50	23	30	48	73
18	73	83	70	75	55	51	45	44	35	53	44	85
19	68	90	66	79	52	47	54	36	36	83	44	87
20	53	87	72	84	53	51	48	26	24	52	62	84
21	55	83	81	77	56	58	50	30	20	67	59	85
22	75	75	60	68	54	55	49	29	24	67	76	86
23	83	66	61	73	59	52	45	40	24	71	71	80
24	82	69	54	61	83	48	100	42	32	57	62	87
25	82	77	57	67	56	49	63	28	36	72	84	64
26	92	77	56	67	60	65	62	30	46	57	89	54
27	86	80	55	63	55	52	39	26	42	48	77	46
28	77	80	51	75	69	52	68	24	39	35	69	51
29	79		45	68	64	44	62	33	37	31	81	48
30	89		48	61	65	43	59	33	44	47	84	55
31	68		51		56		46	36		55		43

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)