

MARIO TOMAZELLO FILHO
ENGENHEIRO AGRÔNOMO
Auxiliar de Ensino do Departamento de Silvicultura
E. S. A. L. Q. - U. S. P.

ESTUDOS SOBRE O CANCRO CAUSADO POR
Diaporthe cubensis Bruner
ETIOLOGIA E RESISTENCIA EM *Eucalyptus* spp.

Orientador: Prof. Dr. PAULO DE CAMPOS TORRES DE CARVALHO

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura "Luiz de Queiroz", da
Universidade de São Paulo, para obtenção
do título de Mestre.

PIRACICABA
Estado de São Paulo
1976

A meus pais

A meus irmã~os

A Alice

AGRADECIMENTOS

O autor expressa os seus agradecimentos:

Ao Professor Dr. Paulo de Campos Torres de Carvalho pela orientação, incentivo e revisão dos originais;

Ao Professor Dr. Helládio do Amaral Mello pelo estímulo e apoio;

Ao Dr. Mario Barreto Figueiredo pelas sugestões, incentivo e revisão dos originais;

Ao Professor Dr. Mario Ferreira pelas críticas e sugestões;

Ao Eng^o Agr^o Paulo Y. Kageyama pelo auxílio na execução do levantamento;

Aos Professores Drs. Hasime Tokeshi e Clélio Lima Salgado, pela revisão dos originais;

Ao Eng^o Agr^o Dr. Jayme Mascarenhas Sobrinho pelas facilidades concedidas;

Ao Professor M.S. Natal Antonio Vello pela orientação nas análises estatísticas;

À Bibliotecária Marialice Metzker Poggiani pela orientação na elaboração da literatura citada;

A Florestas Rio Doce S/A pelas facilidades proporcionadas durante a execução do levantamento;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, pelo fornecimento de recursos financeiros para a realização desta pesquisa.

Í N D I C E

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Ocorrência do gênero <u>Diaporthe</u> (<u>Phomopsis</u>) em essên- cias lenhosas	3
2.2. Considerações sobre alguns aspectos da fisiologia de fungos do gênero <u>Diaporthe</u>	8
2.3. Considerações sobre o gênero <u>Endothia</u> e <u>Diaporthe</u> co- mo agentes causais de cancro em eucalipto no Brasil.	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1. Métodos de isolamento, isolados utilizados e manuten- ção	12
3.2. Identificação do agente causal do cancro do eucalip- to	13
3.3. Estudos sobre alguns aspectos da fisiologia do agen- te causal do cancro	14
3.3.1. Influência de meios de cultura e regime de luz na esporulação	14
3.3.2. Influência da temperatura no crescimento mi- celial.	16
3.4. Métodos de inoculação e avaliação da resistência de espécies de eucalipto	16
3.5. Estudo do cancro em talhão comercial de <u>Eucalyptus</u> <u>urophylla</u> (<u>E. alba</u>)	19
3.5.1. Dados gerais do talhão estudado	19
3.5.2. Origem do talhão	20
3.5.3. Delineamento	20
3.5.4. Parâmetros avaliados	21
3.5.4.1. Padrões fenotípicos	21
3.5.4.2. Caracterização botânica das plantas em laboratório	22
3.5.4.3. Classes de cancro	23
3.5.4.4. Diâmetro e altura das árvores	23
3.5.4.5. Falhas e mortes	23

	Página
3.5.4.6. Retidão do tronco	27
3.5.5. Inoculações artificiais	27
3.6. Estudo do cancro em ensaios de introdução de espécies e procedências de eucalipto	28
4. RESULTADOS	30
4.1. Isolamento e características das culturas	30
4.2. Identificação do agente causal do cancro do eucalipto	30
4.3. Estudo sobre alguns aspectos da fisiologia do agente causal do cancro	35
4.3.1. Influência de meios de cultura e regime de luz na esporulação	35
4.3.2. Influência da temperatura no crescimento micelial	37
4.4. Métodos de inoculação e avaliação da resistência de espécies de eucalipto	39
4.5. Estudo do cancro em talhão comercial de <u>Eucalyptus urophylla</u>	40
4.5.1. Características gerais das parcelas representativas do talhão	40
4.5.2. Distribuição das plantas de <u>E. urophylla</u> na população, quanto aos padrões fenotípicos e classes de cancro	41
4.5.3. Caracterização botânica das plantas em laboratório	43
4.5.4. Distribuição das plantas de <u>E. urophylla</u> , com relação à altura média, diâmetro e retidão do tronco	45
4.5.5. Inoculações artificiais	46
4.6. Estudo do cancro em ensaios de introdução de espécies e procedências de eucalipto	50
5. DISCUSSÃO	55
5.1. Isolamento e características das culturas	55
5.2. Identificação do agente causal do cancro do eucalipto	56

	Página
5.3. Estudo sobre alguns aspectos da fisiologia do agente causal do cancro do eucalipto	58
5.3.1. Influência de meios de cultura e regime de luz na esporulação	58
5.3.2. Influência da temperatura no crescimento micelial	60
5.4. Métodos de inoculação e avaliação da resistência de espécies de eucalipto	61
5.5. Estudo do cancro em talhão comercial de <u>Eucalyptus urophylla</u>	63
5.5.1. Características gerais das parcelas representativas do talhão	63
5.5.2. Distribuição das plantas de <u>E. urophylla</u> na população, quanto aos padrões fenotípicos e classes de cancro	64
5.5.3. Caracterização botânica das plantas em laboratório	65
5.5.4. Distribuição das plantas de <u>E. urophylla</u> com relação à altura, diâmetro médio e retenção do tronco	67
5.5.5. Inoculações artificiais	68
5.6. Estudo do cancro em ensaios de introdução de espécies e procedências de eucalipto	70
6. CONCLUSÕES	72
7. RESUMO	73
8. SUMMARY	75
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
10. APÊNDICE	85

1. INTRODUÇÃO

No período de 1967 a 1973 foram reflorestados cerca de 1.310.053,78 ha em todo o País. Com relação aos Estados, em função da área de plantio, o Estado de São Paulo possui 31,23%, Paraná 22,14%, Minas Gerais 21,70%, Santa Catarina 10,67% e outros Estados 14,22%. Das espécies utilizadas predominam as do gênero Eucalyptus, atingindo 51,10% do total, ficando o restante para outras espécies (BERUTTI, 1974; INST. FLOR., SÃO PAULO, 1974).

O gênero Eucalyptus, introduzido no Brasil entre 1860 e 1865 (ANDRADE, 1961) tem sido amplamente utilizado como fonte de matéria prima para vários produtos da madeira e como carvão vegetal, contribuindo significativamente na solução de problemas florestais e industriais. Dentre as 144 espécies, introduzidas por Navarro de Andrade, das quais 110 permaneceram, somente algumas foram empregadas em grande escala (RIZZINI, 1971). As espécies predominantes em nosso País são Eucalyptus saligna Smith, E. urophylla (E. alba (Reinw)) e E. grandis Hill Ex Maiden.

Na expansão da cultura do eucalipto para outras áreas, consequência do elevado preço da terra, escassez de mão de obra e outros fatores interligados, foram utilizadas espécies selecionadas na região sul do País. Esse intenso desenvolvimento florestal em regiões ecológicas, às vezes bem diferentes das do Estado de São Paulo e do centro de origem na Austrália, resultou em problemas que podem comprometer o sucesso de reflorestamentos em certas regiões brasileiras, executados à base de E. saligna

e E. grandis.

No Estado do Espírito Santo foi verificada uma desfolha intensa das plantas em determinadas épocas do ano, ausência de florescimento e ocorrência de cancrios em troncos de eucalipto (FERREIRA, 1974). Os levantamentos conduzidos nas áreas reflorestadas demonstraram uma incidência de cancro em torno de 40-70%, em E. saligna e E. grandis com 4-6 anos de idade. O fungo pode causar a morte das plantas, quando o cancro envolve totalmente o tronco, ou pela exposição do lenho facilitar o ataque de insetos e outros fungos, resultando na quebra das árvores nos locais afetados, pela ação mecânica dos ventos. O fungo causa também uma redução na porcentagem de rebrota dos tocos de eucalipto após o corte.

Em vista da importância da doença, e considerando que em nossas condições, são poucos os conhecimentos sobre Dendropatologia, mais especificamente sobre o cancro do eucalipto, o presente trabalho teve como objetivos:

1. Identificar corretamente o agente causal do cancro do eucalipto, no Brasil.
2. Estudar alguns aspectos relacionados com a fisiologia do fungo.
3. Pesquisar os métodos de inoculação do patógeno e verificar a reação em espécies de eucalipto de importância comercial.
4. Estudar a incidência de cancro, em plantio comercial de E. urophylla (E. alba) para aplicação dos conhecimentos em programas de melhoramento genético.
5. Estudar a incidência de cancro em ensaios de introdução de espécies e procedências de eucalipto.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Ocorrência do gênero Diaporthe (Phomopsis) em essências lenhosas

A presença do gênero Diaporthe tem sido verificada em inúmeras essências lenhosas.

ARNOLD (1967) em 1965 descreveu Diaporthe alleghaniensis Arn. causando cancro e manchas foliares em Betula alleghaniensis Britt. em Ontário, Canadá. O patógeno difere morfológicamente das espécies conhecidas de Diaporthe por apresentar os ascos cilíndricos e estreitos, com as extremidades truncadas e ascosporos cilíndrico-elipsóides, nos quais a posição do septo é variável. Os sintomas da doença foram induzidos por ARNOLD (1970), através da inoculação de micélio e conídios do fungo em plantas de bétula em vários estágios de desenvolvimento. O murchamento das folhas mais novas, seguindo-se a morte rápida dos ponteiros das plântulas inoculadas, sugeriu a produção de toxinas por D. alleghaniensis. Essa hipótese foi confirmada, pelos sintomas de murcha e seca de ramos de plântulas de bétula, imersos em filtrado de culturas do fungo.

Realizando levantamentos em plantios de Betula alleghaniensis, com oito anos de idade, no Estado de Michigan, KAMENSKY e ERDMANN (1973) observaram severos prejuízos causados por D. alleghaniensis. Os autores obtiveram um significativo acréscimo nas porcentagens de infecção e mortalidade em terrenos com drenagem deficiente. Condições climáticas anormais - inverno rigoroso, seguido de primavera chuvosa e verão extremamente seco - foram consideradas como fatores de predisposição das plantas

ao fungo.

Estudando a ocorrência de cancrios e seca de ponteiros em bétula, no Estado de Michigan, KESSLER (1971) verificou uma maior frequência de D. alleghaniensis nos meses de verão do que no outono.

Por meio de levantamento feito através de plantas doentes de bétula, KESSLER (1970) concluiu que D. alleghaniensis foi o organismo mais comumente isolado. Considerando que o fungo coloniza o hospedeiro através de ferimentos, o autor sugeriu que as injúrias causadas por insetos e pelos ventos estão intimamente associadas com a ocorrência de epifitotias.

Na primeira década do século, foi assinalada por HAHN e HARTLEY (1917) uma nova doença em Juniperus virginiana L. e J. scopulorum Sarg. ocorrendo em várias regiões dos Estados Unidos. O agente causal descrito inicialmente como Phoma sp, afetava o câmbio de plantas com 4 anos de idade causando cancro e severos sintomas de murcha. Em trabalho posterior, HAHN (1920) estudou detalhes do fungo, redescrivendo como Phomopsis juniperovora Hahn, gênero este estreitamente relacionado com Dia-porthe.

Novas investigações sobre P. juniperovora conduzidas por HAHN (1926) estenderam a zona de ocorrência do patógeno para novos estados americanos. Além de Juniperus, foram descritos como hospedeiros Cupressus, Thuja, Sequoia, Taxus e outros. Foram determinados dois "strains" do fungo, induzindo reações diferenciais nas plantas inoculadas. Dentre os fatores favoráveis à doença, são considerados como principais umidade e injúrias.

DAVIS e LATHAM (1939) observaram no Estado da Carolina do Norte, que plantas de Juniperus virginiana, com intenso desenvolvimento pela adubação com sulfato de amônio, foram severamente afetadas por P. juni-

perovora, quando comparadas com plantas não adubadas.

Hahn, em 1943, realizou estudos comparativos entre P. juniperovora e P. occulta Trav., organismos semelhantes quanto ao aspecto morfológico e frequentemente isolados de Juniperus. Através de inoculações, P. occulta não se mostrou hábil em infectar as plantas testes, ao contrário de P. juniperovora, que reproduziu os sintomas da doença. Em meio de cultura de malte-ágar, o organismo patogênico produziu cristais alaranjados brilhantes, os quais se constituem, também, em característica diferencial entre as duas espécies.

Em Michigan, o desenvolvimento de Juniperus sadios e afetados por P. juniperovora foi acompanhado durante 5 anos, por PETERSON (1965) o qual observou uma maior taxa de mortalidade, principalmente nas três últimas estações de crescimento. Com relação ao desenvolvimento-diâmetro e altura - não foram observadas diferenças entre as plantas afetadas e sadias.

Estudos epidemiológicos foram realizados por PETERSON (1973) utilizando Juniperus virginiana e J. scopulorum. Plantas das duas espécies foram infectadas por pulverizações com suspensão de esporos de P. juniperovora. A 24°C, os sintomas somente foram notados em condições de 100% de umidade relativa. Em valores de 91 e 82% de umidade relativa não foram observadas lesões do fungo. A maior intensidade de infecção foi obtida na faixa de 24-28°C, do que a outras temperaturas. PERO e HOWARD (1970), estudando o efeito de substâncias difusíveis em água e presentes em folhas, sobre esporos de P. juniperovora, concluíram que a germinação e o comprimento do tubo germinativo eram estimulados na espécie suscetível - J. virginiana - não ocorrendo esse efeito na espécie resistente - J. chinensis L.

Uma nova espécie, Phomopsis lokoyae Hahn, foi assinalada por HAHN (1933) em 1930, causando cancrios em Pseudotsuga taxifolia Lam., nos

Estados da Califórnia e Oregon. As características do patógeno foram comparadas com as de outros Phomopsis que afetam coníferas, como P. juniperovora, P. occulta, P. pseudotsugae Wilson e P. strobil Sydow., sendo distinto dessas espécies, não só quanto ao aspecto da cultura como também morfológicamente.

BOYCE (1933, 1938) estudou a sintomatologia e ocorrência de P. lokoyae, relacionando as abundantes chuvas de junho de 1932, seguidas de um período prolongado de seca, em Oregon, como responsáveis pela epifitotia em P. taxifolia.

O estágio perfeito de Phomopsis lokoyae, Diaporthe lokoyae Funk, foi descrito por FUNK (1968), em Pseudotsuga menziesii Mirb. O patógeno causou cancos e morte de ponteiros, em níveis bastante severos, em plantios de Pseudotsuga estabelecidos em Vancouver, Canadá. O autor considerou a alta incidência da doença resultante de condições climáticas anormais - primavera relativamente seca e excesso de neve no inverno - prolongando o período de dormência das plantas.

RICHMOND (1934) no Estado de Massachusetts diagnosticou Diaporthe eres Nke. em plantas de Ulmus americana L. A doença era caracterizada por cancos típicos, cuja superfície era coberta por pequenas pústulas, com inúmeros corpos de frutificação do fungo. Os sintomas foram observados em plantas de várias idades ocorrendo, em alguns casos, a hipertrofia dos tecidos afetados. HEPTING (1971) assinalou D. eres em Cupressus sempervirens L. na Itália, Malus pumila Mill e Ostrya virginiana (Mill.) K. Koch nos Estados Unidos.

Segundo BOYCE (1927), Phomopsis pseudotsugae foi descrito pela primeira vez, por WILSON, em 1925, sobre Pseudotsuga taxifolia e P. douglasii Carr. O fungo causa morte dos ponteiros em plantas e ramos jovens, depressão dos tecidos lignificados e cancro típico em plantas desenvolvidas. O patógeno encontrava-se disseminado por vários países da Euro

pa, não tendo sido assinalado na América do Norte. Na Europa sua distribuição foi estudada por WILSON e HAHN (1929).

METCALF (1954) assinalou P. pseudotsugae em plantios de Pseudotsugae taxifolia na Grã-Bretanha. Segundo o autor, a doença se manifestou em níveis epidêmicos, tornando-se fator limitante para o cultivo da espécie em algumas regiões do país. Foi observado em Pinus strobus L., Larix decidua Mill. e Abies fraseri (Pursh) Poir na Europa e Estados Unidos (HEPTING, 1971).

SPAULDING (1961), em sua revisão sobre doenças que afetam espécies florestais, relata Diaporthe aristata (Fr.) Karst. associado com cancos de árvores jovens e adultas de Betula spp em várias regiões da Europa; Diaporthe oncostoma Duby. associado a seca de ponteiros em Toona sinensis Harms e Robinia sp na Europa e América do Norte; Diaporthe taleola (Fr.) Sacc. associado com cancos em Quercus sp na Europa; Phomopsis abietina Hartig. associado com cancos em Abies alba Mill. na Europa; Phomopsis cinerescens (Sacc.) Trav. associado com cancro em Ficus sp na América do Sul e Europa e Phomopsis salicina (Westd.) Died. associado com morte de ramos desenvolvidos de Salix spp, na América do Norte e Europa.

O fungo Diaporthe vaccinii Shear. foi descrito por SHEAR e colaboradores, em 1931, parasitando plantas de Vaccinium macrocarpum L., segundo citação de WILCOX (1940). Estudos sobre a inoculação em V. macrocarpum e V. corymbosum L. foram realizados por WILCOX (1939).

FRIENO e BOONE (1968) obtiveram alta frequência de D. vaccinii em isolamentos a partir de tecidos afetados de V. macrocarpum, coletados durante o outono em Wisconsin. Os autores não isolaram o patógeno na primavera seguinte, concluindo que sua sobrevivência é afetada durante o inverno. Condições de tempo excepcionais são consideradas como importantes na predisposição do hospedeiro e ocorrência de doença.

BRUNER (1917), em Cuba, relatou a presença de um fungo do gênero Diaporthe, causando cancro em tronco e ramos desenvolvidos de eucalipto. O autor estudou os sintomas da doença, aspectos relacionados com a classificação e disseminação do fungo, e realizou alguns testes de inoculação com a finalidade de verificar a patogenicidade dos isolados. O patógeno foi identificado como pertencente a uma espécie nova, a que denominou Diaporthe cubensis Bruner. Recomendou, para as condições cubanas, a erradicação da doença através da destruição das árvores afetadas. A introdução de novas espécies de eucalipto da Austrália, provenientes de regiões semelhantes às de Cuba, foi considerada pelo autor como medida aconselhável para obtenção de fontes de resistência ao fungo.

2.2. Considerações sobre alguns aspectos da fisiologia de fungos do gênero Diaporthe

Na literatura consultada, foram encontrados inúmeros trabalhos, relacionados com a fisiologia de fungos do gênero Diaporthe, muitos dos quais associados com doenças em essências florestais.

PETERSON (1973), estudando Phomopsis juniperovora, concluiu que a temperatura ótima para o crescimento micelial, em quatro diferentes meios de cultura, estava entre 24-26°C. O fungo apresentou melhor desenvolvimento em meio de batata-dextrose-água e fubá de milho-sacarose-água, sendo que a taxa de crescimento foi linear entre o 3º e 10º dia de incubação. Os esporos de P. juniperovora germinaram na faixa de temperatura de 12 a 32°C, com o máximo de germinação em 24°C. Quando os esporos foram incubados a 24°C, em meio de água-água, o máximo de germinação ocorreu entre 16 e 24 horas. O tubo germinativo mostrou-se visível após 4 horas de incubação.

ARNOLD (1967) verificou que a temperatura ótima para o desenvolvimento micelial e produção de picnídios de Diaporthe alleghaniensis, em meio de batata-dextrose-água, estava em torno de 25°C. WILCOX (1939)

concluiu que a temperatura mais favorável para o crescimento e germinação de Diaporthe vaccinii estava situada entre 21 e 24°C.

Os ascosporos de Diaporthe lokoyae germinaram na faixa de 5 a 25°C. Para crescimento micelial, a melhor faixa de temperatura foi de 20 a 25°C (FUNK, 1968).

YAMADA e YAMAMOTO (1963) determinaram que a temperatura ótima para crescimento de Diaporthe citri (Fawc.) Wolf. foi de 24°C, para a produção de picnídios a faixa ideal foi de 20 a 24°C.

Com referência à influência da luz, na esporulação, PETERSON (1973) observou um efeito estimulante da iluminação fluorescente na produção de picnídios de Phomopsis juniperovora. Em condições de escuro, a formação de picnídios foi inibida, sendo a maioria constituída por frutificações inférteis. A germinação dos esporos, desenvolvimento do tubo germinativo e micélio do fungo não foram influenciados pela luz.

Dentre os fatores nutricionais estudados por TIMINIK, LILLY e BARNETT (1951), o inositol promoveu um estímulo inicial no desenvolvimento de Diaporthe phaseolorum var. batatatis. A adição de tiamina, no meio de cultura, diminuiu a taxa de crescimento do fungo. A adição de vitaminas causou significativo aumento na esporulação, somente quando foi utilizada a lactose como fonte de carbono. Um maior número de peritécios foram produzidos em meio de cultura com asparagina, em condições de luz alternada. A formação de picnídios foi estimulada em luz contínua e radiação ultravioleta, quando os isolados foram cultivados em meio de batata-dextrose-ágar. O escuro contínuo inibiu, consideravelmente, a produção de picnídios.

HAHN (1933) testou vários meios de cultura para a esporulação de Phomopsis pseudotsugae, concluindo que ramos autoclavados de Pseudotsuga foi o meio mais satisfatório.

Estudando o efeito da luz no crescimento e esporulação de Diaporthe citri, SMOOT (1962) obteve uma esporulação mais intensa em culturas mantidas sob luz fluorescente. Em condições de escuro o fungo não se mostrou capaz de esporular. A qualidade da luz influenciou a esporulação, sendo inibida sob luz vermelha.

*A formação de conídios de Diaporthe citri foi significativamente aumentada, quando as culturas foram mantidas em iluminação contínua, sob lâmpada fluorescente black night blue. O comprimento de onda mais efetivo foi de 325 a 355 nm (O MORI, 1973).

NAWAWI e SWINBURNE (1970) estudando o efeito de fontes de carbono e luminosidade no desenvolvimento e esporulação de Diaporthe perniciososa March, concluíram que, entre sete carboidratos testados, os melhores foram manitol, frutose e lactose. A luz contínua e ultravioleta estimularam a produção de conídios, sendo que a escuridão contínua inibiu.

Segundo HARADA e col. (1973), a esporulação de Diaporthe perniciososa é dependente da temperatura e luminosidade. As culturas mantidas sob luz fluorescente produziram picnídios, no período de 5-8 dias, na faixa de temperatura de 13 a 30°C. A luz azul e a situada próxima da radiação ultravioleta foram mais eficientes na indução de picnídios. O desenvolvimento da cultura foi inibido sob luz verde.

2.3. Considerações sobre o gênero Endothia e Diaporthe como agentes causais de cancro em eucalipto no Brasil

A ocorrência de um cancro do eucalipto, no Brasil, foi relatada por vários pesquisadores. HODGES, REIS e MAY (1973) descreveram o agente causal do cancro, a partir de observações realizadas nos estados de São Paulo, Espírito Santo e Minas Gerais. O fungo, isolado de várias es-

pécies de eucalipto, foi identificado como Endothia havanensis.

MAY (197) relata o agente causal do cancro ou gomose em Eucalyptus saligna e E. grandis. Através de estudos das estruturas do fungo, produzidas em meio de cultura e cascas de eucalipto, a autora concluiu tratar-se de Endothia havanensis.

KRUGNER, CANEVA e CARDOSO (1973) também citam a ocorrência de um cancro do eucalipto em plantios de Eucalyptus saligna e E. grandis em Aracruz (E.S.) e em várias regiões do Estado de São Paulo, sendo a patogenicidade do isolado verificada através de inoculação em plantas enxertadas de E. saligna.

No Brasil o patógeno foi identificado, com base nos trabalhos de BRUNER (1916) em Cuba, CANKER (1970) e BOERBOOM e MAAS (1970) no Surinam e KOBAYASHI e ITO (1956) no Japão.

Entretanto, TOMAZELLO (1974.a,b), estudando as estruturas de reprodução do fungo verificou que o patógeno presente em nosso meio estava mais próximo de Diaporthe cubensis, também descrito por BRUNER (1917) do que Endothia havanensis. No mesmo ano, HODGES e REIS (1974) corrigiram a identificação anteriormente feita como E. havanensis (HODGES, REIS e MAY, 1973) para Diaporthe cubensis sem, todavia, tecer maiores considerações sobre as diferenças morfológicas encontradas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Métodos de isolamento, isolados utilizados e manutenção

Foram utilizados 2 tipos de isolamento do agente causal do cancro. Pelo primeiro processo, proposto por BRUNER (1917), o fungo foi isolado de cascas de eucalipto, mantidas em câmara úmida por 5 a 7 dias. Durante esse período, o patógeno frutificou abundantemente, produzindo picnídios e peritécios. Transferiu-se, assepticamente, ascósporos e conídios, para placas de Petri com meio de batata-dextrose-ágar. No segundo procedimento, utilizado por KESSLER (1970), o fungo foi isolado a partir de tecidos de casca e lenho de eucaliptos afetados, previamente desinfectados com hipoclorito de sódio 3:1 (produto comercial G-Boa) que eram transferidos, para meio de BDA contendo 30 ppm de estreptomicina.

Por esses processos foram obtidos os diversos isolados, apresentados na Tabela 1.

As culturas foram mantidas em tubos de ensaio contendo meio inclinado de BDA, dos quais foram periodicamente repicadas durante a condução dos trabalhos.

TABELA 1. Culturas isoladas de eucaliptos apresentando cancro

Nº da cultura	Hospedeiro	Procedência do material
MF 30	<u>E. grandis</u>	Aracruz, E.S.
MF 31	<u>E. grandis</u>	Mogi Guaçu, S.P.
MF 32	<u>E. saligna</u>	Aracruz, E.S.
MF 33	<u>E. saligna</u>	Jundiaí, S.P.
MF 34	<u>E. saligna</u>	Linhares, E.S.

3.2. Identificação do agente causal do cancro do eucalipto

Na identificação do agente causal do cancro, foram realizadas observações dos sintomas da doença em condições de campo e estudos das estruturas do fungo em laboratório. Para o estudo das características das culturas os isolados foram cultivados em meio de BDA e aveia-ágar.

As estruturas de reprodução examinadas foram obtidas a partir do fungo desenvolvido em meio de cultura e de cascas de eucaliptos infectados natural e artificialmente. Para a obtenção da fase ascógena, em condições artificiais, foi empregado o método sugerido por BRUNER (1917). Assim, ramos sadios de E. grandis, coletados no campo, com aproximadamente 1,0 cm de diâmetro foram trazidos ao laboratório, e seccionados em segmentos de 8 a 10 cm de comprimento. Dez seções assim obtidas foram transferidas para tubos de ensaio de 200 x 25 mm, contendo 2 ml de água destilada. Em seguida, os tubos foram tampados com algodão e autoclavados por 15 minutos a 120°C e 1 atmosfera de pressão. Em outra série, dez ramos igualmente obtidos, foram esterilizados superficialmente pela flambagem rápida, em chama produzida por um bico de Bunsen, e transferidos para tubos de ensaio com mesmas dimensões, contendo água, previamente esterilizada. Em

cada um dos tubos de ensaio foram adicionadas alíquotas de 2 ml de suspensão de conídios do fungo em água destilada esterilizada. Essa suspensão foi obtida a partir de frutificações do fungo, desenvolvidas em meio de aveia-ágar contido em tubos de ensaios, os quais se acrescentou água esterilizada.

As estruturas de reprodução = peritécios, picnídios e outras = foram examinadas detalhadamente, considerando as características enumeradas por BRUNER (1916, 1917), KOBAYASHI e ITO (1956) e BOERBOOM e MAAS (1970), para Diaporthe cubensis e Endothia havanensis, patógenos que mais comumente induzem cancrios no gênero Eucalyptus.

Para complementação dos estudos, cascas de eucalipto com peritécios e picnídios, bem como, culturas puras do fungo isolado no Brasil, foram enviadas ao Dr. J.A. von Arx, do Centraalbureau voor Schimmelcultures (Holanda).

3.3. Estudos sobre alguns aspectos da fisiologia do agente causal do cancro

3.3.1. Influência de meios de cultura e regimes de luz na esporulação

O isolado utilizado no ensaio foi o MF 32. Foram usados sete meios de cultura: a) batata-dextrose-ágar (extrato de batata, 200 g ; dextrose, 20 g; ágar, 15 g; água, q.s.p. 1000 ml); b) V-8 ágar (Suco V-8, 300 ml; CaCO₃, 4,5 g; Ágar, 15 g; água, q.s.p. 1000 ml); c) aveia-ágar (flocos de aveia, 60 g; ágar, 15 g; água, q.s.p. 100 ml); d) aveia-ágar com superposição de papel de filtro; e) Lilly e Barnett (Glucose, 10 g; KH₂PO₄, 1 g; MgSO₄.7H₂O, 0,5 g; micronutrientes, 1 ml; Tiamina, 1 ml. Biotina, 1 ml; ágar, 15 g; água, q.s.p. 1000 ml); f) meio de casca de eucalipto (casca de eucalipto, 300 g; ágar, 15 g; água, q.s.p. 1000 ml); g) meio

de casca de eucalipto-dextrose (casca de eucalipto, 300 g; Dextrose, 20 g; Ágar, 15 g; água q.s.p. 1000 ml).

O meio de batata-dextrose-ágar, V-8 ágar e aveia-ágar foram preparados segundo TUIITE (1969) e o meio de Lilly e Barnett segundo LILLY e BARNETT (1951). O meio de casca de eucalipto foi preparado fervendo-se a casca em 500 ml de água durante 30 minutos. Em seguida o meio foi filtrado, completando-se o volume a 1000 ml.

Após esterilização em autoclave (15 minutos, 1 atmosfera de pressão), os meios de cultura foram vertidos em placas de Petri, tomando -se 3 repetições por tratamento.

Para obtenção de inóculo, o isolado MF 30 foi incubado em meio de BDA, no escuro a 28°C, durante 4 dias. Em seguida, repicado para placas de Petri, contendo os diferentes meios de cultura, padronizando o inóculo pela retirada de um cilindro de micélio, da periferia da cultura, onde o crescimento é mais vigoroso e ativo, com auxílio de um furador de rolha de 0,80 cm de diâmetro. As placas antes de serem levadas para a biotronete foram mantidas em escuridão por 36 horas, a 28°C.

O regime luminoso foi obtido em Biotronete Mark III, tendo como fonte luminosa, dois tubos fluorescentes General Electric de 40 watts. A distância entre os tubos luminosos foi de 40 cm, e a da fonte à superfície de crescimento ao redor de 27 cm. Foram utilizados os seguintes tratamentos: luz contínua, 12 horas de luz e alternadas com 12 horas de escuro e escuridão contínua. O regime de escuridão contínua foi obtido pelo envolvimento das placas de Petri com papel de alumínio. Durante o experimento a temperatura no interior da biotronete oscilou de 28 a 32°C.

A leitura foi realizada após 13 dias, pela contagem do número de picnídios, presentes em 4 campos centrais e 4 campos na periferia das culturas, escolhidos ao acaso, num total de 8 contagens por placa de

Petri. Para isso foi empregada uma lupa binocular Wild, regulada para um aumento de 25 vezes.

3.3.2. Influência da temperatura no crescimento micelial

As culturas usadas no ensaio foram: MF 30, MF 31, MF 32, MF 33 e MF 34.

O preparo do inóculo e método de plaqueamento foi semelhante ao descrito no ensaio anterior. As temperaturas empregadas foram 14,0 ; 18,0; 22,0; 25,0; 28,0; 30,0; 32,5; 34,0 e 35,0°C. Para cada temperatura foram utilizadas 3 placas de Petri, contendo meio de batata-dextrose-ágar.

As leituras foram feitas diariamente, pelo cálculo do diâmetro médio das culturas mantidas à mesma temperatura. O ensaio foi encerrado quando, à temperatura de melhor crescimento, o fungo cobriu inteiramente a superfície das placas.

3.4. Métodos de inoculação e avaliação da resistência de espécies de eucalipto

No ensaio, foram avaliadas em condições de campo, as seguintes espécies de eucalipto: E. decaisneana BLUNE, E. grandis e E. saligna, com dois anos de idade.

Para a inoculação do agente causal do cancro, MF 33, foram empregados três métodos de inoculação, relatados a seguir:

a) inoculação com cilindros de casca recobertos com o fungo

Para a obtenção dos cilindros de casca, utilizados na inoculação das plantas de eucalipto, foi empregado um "martetele de metal". Esse instrumento era constituído por um cilindro de aço, oco, com as extremidades cortantes. O cilindro, com 1 cm de diâmetro interno e 17,0 cm de comprimento, foi soldado a uma haste, também de metal, com 20,0 cm de comprimento, a qual constituiu o cabo da peça. Os cilindros de casca eram conseguidos, pela pressão exercida, através da batida da extremidade cortante do martetele, sobre o tronco de plantas de Eucalyptus grandis. O cilindro de casca assim obtido, alojava-se no interior do cilindro oco do martetele, do qual era retirado, com auxílio de uma haste de metal.

Em erlenmeyers de 250 ml, contendo 20 ml de meio líquido de batata-dextrose foram colocados 15 cilindros de casca, sendo em seguida esterilizados em autoclave durante 15 minutos, a 120°C e 1 atmosfera de pressão. Em cada um dos erlenmeyers, assim preparados, foram repicados 6 cilindros de micélio do fungo, retirados da periferia da cultura com 5 dias de idade, cultivada em placas de Petri com BDA, utilizando-se um furador de rolha de 0,8 cm de diâmetro.

Os erlenmeyers foram mantidos por 15 dias em condições normais de laboratório, propiciando bom desenvolvimento do isolado, o qual cobriu totalmente a superfície dos cilindros de casca.

Após esse período, os cilindros foram levados ao campo, e inoculados nas diversas espécies de eucalipto. A inoculação consistiu em retirar-se da árvore, um cilindro de casca sadio, com auxílio do martetele de metal e inserir no local do ferimento o cilindro de casca, de mesmas dimensões, recoberto pelo fungo.

b) inoculação com palitos de madeira recobertos com o fungo

Em erlenmeyers de 250 ml, contendo 20 ml de meio líquido de batata-dextrose, foram colocados 15 palitos de madeira de 65,0 x 0,3 mm. Os palitos de madeira, embebidos em meio líquido foram esterilizados em autoclave, durante 15 minutos, a 120°C e 1 atmosfera de pressão. Nos erlenmeyers assim preparados, foram transferidos 6 cilindros de micélio do fungo, de modo semelhante ao descrito no item anterior. O fungo se desenvolveu no interior dos erlenmeyers durante 15 dias, cobrindo a superfície externa dos palitos de madeira.

Em condições de campo, a inoculação foi feita, inserindo-se o palito de madeira recoberto com o fungo, em um orifício no tronco das diversas espécies de eucalipto. O orifício foi realizado com auxílio de um estilete de metal esterilizado.

c) inoculação com cilindros de micélio do fungo

O método de inoculação consistiu em retirar da árvore, com auxílio do martetele de metal, um cilindro de casca. No local da perfuração, foi inserido 1 cilindro de micélio do isolado, de mesmas dimensões do ferimento.

O cilindro de micélio, com 1 cm de diâmetro, foi retirado da periferia de cultura do fungo em meio de BDA utilizando-se um furador de rolha. Em seguida, o local da inoculação foi vedado com o mesmo disco de casca sadio, retirado no ato da perfuração.

Feitas as inoculações pelos três métodos descritos (a, b, c), os ferimentos foram recobertos com algodão hidrófilo umedecido em água, e o tronco das plantas envolvido com uma fita de plástico, com o propósito

de manter a umidade por um período de 21 dias. Para isso houve necessidade de se acrescentar água ao algodão a cada 2 dias. Nas inoculações testemunha procedeu-se da mesma forma, substituindo-se o inóculo por discos de casca sadia, .. palitos de madeira, previamente imersos em meio líquido de batata-dextrose, e cilindros de meio de cultura sem o fungo.

Foram inoculadas 10 árvores de cada espécie, na altura aproximada de 1,30 m do solo. Foi escolhida a altura de 1,30 m do solo, por corresponder ao DAP (diâmetro na altura do peito), padronização utilizada em Silvicultura, para estudos de diversas naturezas. Cada uma das árvores foi inoculada pelos 3 métodos de inoculação.

A leitura foi realizada 60 dias após, através da medição do maior e do menor diâmetro das lesões.

3.5. Estudo do cancro em talhão comercial de *Eucalyptus urophylla* (*E. alba*)

3.5.1. Dados gerais do talhão estudado

O talhão comercial de *Eucalyptus urophylla* selecionado para o estudo foi instalado pela Rio Doce Madeiras SA, em 1970, no espaçamento 3 x 2 m, ocupando uma área de 176,4 ha, no município de Linhares - E.S.

Através de um levantamento preliminar, foi observada a ocorrência de árvores afetadas naturalmente pelo agente causal do cancro do eucalipto e árvores sadias, com boas características de desenvolvimento e alto potencial para seleção de resistência ao cancro, razão pela qual foi conduzido o presente estudo.

3.5.2. Origem do talhão

Em 1919, a espécie E. urophylla foi introduzida no Brasil, por Navarro de Andrade, sob a denominação de E. alba, constituindo a parcela nº 129, do então Horto de Rio Claro-S.P. Essas sementes foram coletadas de uma árvore de E. urophylla, denominada de E. alba pelos holandeses, localizada no Jardim Botânico de Bogor na ilha de Java. Desde a introdução do material, E. urophylla tem sido denominada em nossas condições de E. alba (MARTIN e COSSALTER, 1976; PRYOR, 1971). Dessas árvores de E. urophylla do Horto "Navarro de Andrade", da Ferrovia Paulista S.A., foram coletadas sementes e utilizadas na formação de um povoamento no município de Santa Bárbara-M.G. A partir de sementes obtidas nesse talhão, da Cia Belgo Mineira, foi instalado um plantio de E. urophylla em Linhares-E.S., no qual foi conduzido o levantamento.

Considerando que em Rio Claro existem diversas espécies de eucalipto (E. tereticornis, E. grandis e outras), ao redor do talhão de E. urophylla, e em Santa Bárbara encontravam-se também próximos talhões de E. tereticornis e E. robusta, é de se esperar que o material utilizado na instalação do plantio em Linhares não tenha sido geneticamente puro, e sim resultado da hibridação de E. urophylla com as citadas espécies.

3.5.3. Delineamento

Foi realizado um levantamento, compreendendo 15 parcelas de 50 árvores. O número de plantas por parcela foi acima do recomendado por SPURR (1952), o qual sugere que o tamanho da parcela deva ser tal, que inclua de 20 a 30 árvores mensuráveis.

As parcelas foram de forma retangular, constituídas por 2 linhas de 25 plantas. Com relação à forma da parcela, optou-se pela retan-

gular, como sugere GALVÃO e col. (1968), pelas facilidades apresentadas na sua demarcação em plantios feitos sob alinhamentos.

Dentre os métodos fundamentais de distribuição de parcelas em levantamentos florestais, definidos por MACKAY (1964), foi escolhido o método casualizado. De posse do mapa detalhado do povoamento foram distribuídas as parcelas ao acaso, sendo em seguida numeradas e localizadas no campo.

3.5.4. Parâmetros avaliados

No levantamento avaliou-se as seguintes características da população:

3.5.4.1. Padrões fenotípicos

Para determinação dos padrões fenotípicos, utilizou-se um critério de classificação baseado nas características do tronco, casca e folhas das árvores. Adotou-se a simbologia A, B e C, sendo que o padrão fenotípico A incluiu árvores com características de casca, tronco e folhas semelhantes às de E. urophylla, com casca rugosa e fissurada no sentido vertical, espessa, a qual se destaca do tronco a diferentes alturas e folhas largas (Figura 1 A; 2). O padrão fenotípico B incluiu as árvores com algumas características próximas a E. urophylla, com casca rugosa fissurada persistente no tronco ou casca lisa que se desprendia do tronco a diferentes alturas e folhas largas (Figura 1 B). O padrão fenotípico C incluiu árvores, sem qualquer semelhança com padrão típico de E. urophylla, apresentando casca fina e lisa, sem fissuras, persistente no tronco e folhas estreitas (MARTIN e COSSALTER, 1975; PASZTOR, 1975; BLAKELY, 1955; PENFOLD e WILLIS, 1961).

3.5.4.2. Caracterização botânica das plantas em laboratório

Durante o levantamento, foram coletados materiais botânicos das plantas de eucalipto, com florescimento e frutificação, anotando-se o padrão fenotípico e classe de cancro dessas árvores. Dado às condições de cultivo e idade do talhão, observou-se um pequeno número de árvores com florescimento, possibilitando a coleta de material em apenas 69 plantas.

O material constituído por frutos, botões florais e folhas foi estudado em condições de laboratório, sendo comparados com os dados fornecidos por BLAKELY (1955) e PENFOLD e WILLIS (1961), MARTIM e COSSALTER (1975). Segundo esse critério, os materiais foram classificados botanicamente em típicos, com características peculiares de E. urophylla; comerciais, com algumas características de E. urophylla e não típicos sem quaisquer características de E. urophylla.

Os materiais definidos botanicamente foram relacionados com as árvores de E. urophylla, das quais foram coletados, principalmente quanto aos aspectos de cancro.

Os materiais enquadrados como não típicos de E. urophylla foram analisados em seu aspecto morfológico, com o propósito de determinar quais as espécies que cruzaram com E. urophylla. Esse material não típico foi comparado com as espécies que foram plantadas junto ao E. urophylla, E. grandis, E. saligna, E. tereticornis, E. robusta e outras.

3.5.4.3. Classes de cancro

No estabelecimento das classes de cancro, foi adotado um critério de notas, de 0 a 3. Árvores com nota 0 eram árvores sadias, sem a presença de cancro; com nota 1 eram árvores com entumescimento na casca, com fendilhamentos longitudinais até 8-10 cm (Figura 3 A); com nota 2 as que apresentavam cancro típico, até 25-30 cm de comprimento, com exposição do lenho (Figura 3 B); com nota 3 as árvores com 1 ou mais cancros típicos, medindo acima de 30 cm de comprimento, com exposição do lenho e presença de grande número de corpos de frutificação do fungo (Figura 3 C).

3.5.4.4. Diâmetro e altura das árvores

O diâmetro na altura do peito (DAP) foi obtido com auxílio de um compasso florestal e a altura das árvores com o dendrometro de Blume Leiss.

3.5.4.5. Falhas e mortes

Foi considerada falha, quando não se observou a presença da planta na cova correspondente. Considerou-se como morta a planta já inteiramente seca, em diferentes estágios de decomposição, que estivesse tombada ou em pé.



Figura 1. Padrões fenotípicos determinados durante o levantamento. A) Padrão típico de Eucalyptus urophylla; B) Padrão comercial, ;) Padrão não típico de Eucalyptus urophylla



Figura 2. Detalhe do padrão fenotípico A. Observe-se a casca fissurada e destacada do tronco



Figura 3. Classes de cancro determinadas durante o levantamento. A) Árvores apresentando cancro 1; B) Árvore apresentando cancro 2; C) Árvore apresentando cancro 3.

3.5.4.6. Retidão do tronco

Para a avaliação do parâmetro retidão do tronco das árvores, utilizou-se o critério de notas de 5 a 10, na ordem crescente de qualidade. Árvores com nota 5 eram caracterizadas por uma tortuosidade ou espiralização excessiva do tronco, e as com nota 10, por uma perfeita retidão do tronco. As árvores com notas intermediárias 6 e 7, apresentaram características mais próximas às de 5, e as com notas 8 e 9 mais próximas às de nota 10, em uma escala contínua de retidão.

3.5.5. Inoculações artificiais

Em condições de campo, foram inoculadas plantas do talhão comercial de E. urophylla, com o fungo causador do cancro, isolado MF 34.

O método de inoculação empregado foi o de cilindros de casca de eucalipto, infectados com o fungo, descrito detalhadamente no item 3.4.a.

Foram inoculadas 80 árvores, compreendendo as várias categorias botânicas (típicas, comerciais, não típicas) e que apresentavam diferentes níveis de cancro (0, 1, 2 e 3).

Para a inoculação foi escolhida, igualmente, a altura do DAP, sendo a leitura realizada após 60 dias, através da medição do maior e menor diâmetro das lesões.

3.6. Estudo do cancro em ensaios de introdução de espécies e procedências de eucalipto

Foi conduzido um estudo em dois ensaios de introdução de espécies e procedências de eucalipto da Austrália. Os experimentos foram instalados no município de São Mateus (E.S.), pela Florestas Rio Doce S.A., antiga Rio Doce Madeiras, através do convênio com o Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais e Departamento de Silvicultura da ESALQ/USP. O Ensaio I, com 34 espécies e procedências, foi instalado em 15/9/1972, obedecendo o esquema de blocos casualizados com 4 repetições. O Ensaio II, com 30 espécies e procedências, foi instalado em 24/11/1972, com o mesmo número de repetições que o anterior. Para ambos os ensaios, das 100 plantas que compunham cada parcela, apenas as 36 centrais foram utilizadas para a coleta de dados, tendo sido deixada bordadura dupla. Em razão do espaçamento adotado, foi de 600 m² a área da parcela, de 18.000 - 20.400 m² a área dos blocos e de 72.000 - 81.600 m² a área total dos Ensaios I e II respectivamente.

O crescimento em altura, em diâmetro e a sobrevivência das plantas foram obtidos aos 15 e 26 meses de idade, para o Ensaio I e aos 13 meses para o Ensaio II. A incidência de cancro, o padrão fenotípico, a uniformidade de crescimento, o florescimento e a frutificação das diferentes espécies e procedências foram avaliados aos 15 e 43 meses. As espécies e procedências de eucalipto foram selecionadas em a) promissoras: com resistência ao cancro, bom crescimento, forma boa a regular, boa sobrevivência, ausência de problemas fisiológicos; b) promissoras com restrições com presença de cancro no tronco, bom crescimento, forma boa a ruim, sobrevivência boa a regular, com problemas fisiológicos; c) inadequadas: com cancro no tronco, sobrevivência média a baixa, crescimento reduzido, forma média a ruim e com problemas fisiológicos.

A relação das espécies e procedências, juntamente com as características do local de coleta das sementes na Austrália, encontram-se na Tabela 2.

TABELA 2. Relação das espécies e procedências de eucalipto pertencentes ao ensaio de introdução e características dos locais de origem **

	Localidade *	Latitudes(S)	Longitudes(E)	Altitude(m)
1. <i>E. acmenioides</i>	Karuah Dist. N.S.W.	32°40'	151°58'	-
2. <i>E. andrewsi</i>	E.Gleen Innes N.S.W.	29°44'	152°05'	1050
3. <i>E. benthami</i>	Gox's River	-	-	-
4. <i>E. camaldulensis</i>	Maaquario River N.S.W.	-	-	-
5. <i>E. camaldulensis</i>	S.W. Duaringa Q.L.D.	23°55'	149°15'	240
6. <i>E. camparulata</i>	E.Gleen Innes N.S.W.	29°44'	152°05'	1050
7. <i>E. cloeziana</i>	S.W. Duaringa Q.L.D.	23°55'	149°15'	240
8. <i>E. crebra</i>	Gilgandra N.S.W.	31°43'	148°40'	310
9. <i>E. deanei</i>	Colo River N.S.W.	-	-	-
10. <i>E. deanei</i>	Windsor N.S.W.	32°55'	150°33'	305
11. <i>E. deglupta</i>	T.P. New Guinea	-	-	-
12. <i>E. deglupta</i>	-	-	-	-
13. <i>E. dunnii</i>	Moleton N.S.W.	30°10'	153°00'	305
14. <i>E. dunnii</i>	-	-	-	-
15. <i>E. exserta</i>	Maryborough Q.L.D.	26°00'	152°00'	60
16. <i>E. grandis</i>	E. Rylestone N.S.W.	33°00'	150°00'	1350
17. <i>E. laevopinea</i>	E. Rylestone N.S.W.	33°00'	150°00'	1350
18. <i>E. moluccana</i>	Modgea N.S.W.	-	-	-
19. <i>E. nesophylla</i>	Melville Island N.T.	11°30'	130°00'	220
20. <i>E. nitans</i>	Nimilabel N.S.W.	37°00'	149°00'	900
21. <i>E. phaeotricha</i>	S.W. Atherton Q.L.D.	17°15'	145°42'	650
22. <i>E. pilularis</i>	Fraser Island	26°02'	153°06'	180
23. <i>E. propinqua</i>	S.W. Casino N.S.W.	28°37'	152°41'	450
24. <i>E. propinqua</i>	Jimma Dist. Q.L.D.	26°40'	152°28'	-
25. <i>E. quadrangulata</i>	Tongarra Sth. Coast N.S.W.	34°35'	150°41'	150
26. <i>E. quadrangulata</i>	Fraser Island	26°02'	153°06'	180
27. <i>E. resinifera</i>	Nth. Woolgoolda N.S.W.	30°00'	153°00'	30
28. <i>E. saligna</i>	Yabba S.F. N.S.W.	30°00'-35°00'	-	200-1200
29. <i>E. saligna</i>	Watagan S.F. N.S.W.	30°00'-35°00'	-	200-1200
30. <i>E. siderophloia</i>	Cessnock N.S.W.	32°54'	151°24'	305
31. <i>E. tereticornis</i>	Karuah Dist. N.S.W.	32°40'	151°58'	-
32. <i>E. tessellaris</i>	Q.L.D.	-	-	-
33. <i>E. torelliana</i>	Bulolo New Guinea	-	-	-
34. <i>E. torelliana</i>	Bulolo New Guinea	-	-	-
35. <i>E. torelliana</i>	Timor Port.	8°20'-8°45'	-	-
36. <i>E. trachyphloia</i>	N.R. Coonabarabran N.S.W.	31°16'	149°18'	550
37. <i>E. trachyphloia</i>	N.W. Slopes N.S.W.	-	-	-
38. <i>E. urophylla</i>	Boborano Timor Port.	8°20'-8°45'	126°00'-127°00'	400-1100
39. <i>E. urophylla</i>	Timor Port.	8°20'-8°45'	126°00'-127°00'	400-1100
40. <i>E. urophylla</i>	Timor Port.	8°20'-8°45'	126°00'-127°00'	400-1100

* N.S.W. = New South Wales; Q.L.D. = Queensland; N.T. = Northern Territory

** Dados colhidos a partir de trabalhos publicados por HALL, JOHNSTON e CHIPPENDALE (1970), COMMONWEALTH OF AUSTRALIA (1966), BLAKELY (1955).

4. RESULTADOS

4.1. Isolamento e características das culturas

Culturas puras do agente causal do cancro foram obtidos pelos dois métodos de isolamento. Em meio de BDA e aveia-ágar os isolados mostraram no início um crescimento vigoroso, com micélio rasteiro esbranquiçado, passando depois para amarelo castanho, próximo a tawny (plata XV) de acordo com RIDGWAY (1912) e com abundante micélio aéreo. Nas culturas mantidas em condições normais de laboratório, cerca de 8-10 dias após a repicagem, observou-se o aparecimento de picnídios do fungo.

4.2. Identificação do agente causal do cancro do eucalipto

Estudos microscópicos detalhados das estruturas de reprodução do fungo, evidenciaram as seguintes características:

Picnídios periformes a cónicos, marrom escuros a negros, forma e tamanhos variáveis, dependendo das condições ambientais; conídios hialinos, elípticos, com extremidades arredondadas, unicelulares, pequenas, medindo $3,35 \times 1,66$ u $2,50 - 4,15 \times 1,66$ u, evidenciam um grande núcleo quando coradas com hematoxilina, exsudam dos picnídios, como uma massa contínua em forma de cirrus de coloração amarelada. Peritécios globosos, com longos rostros, negros, um a oito por pústula, imersos em um estrôma pouco

desenvolvido; ascos evanescentes, cilíndrico-fusóides, medindo 23,24 - 26,56 u de comprimento, por 6,64 - 4,15 u de largura, com dados médios de 24,76 x 5,71 u; ascosporos transparentes, bicelulares, longo ovalados, irregularmente subdísticos, sem constrição perceptível no septo, em número de oito por asco, paredes espessas, medindo 7,47 - 4,98 x 1,66 - 2,49 u, com dados médios de 6,27 x 2,39 u (Figuras 4A, B; 5A, B, C, D).

Os estados conidial e ascógeno do fungo foram observados em meio de cultura e em cascas de eucalipto. Em ramos de eucalipto flambados, foram notados numerosos peritécios do fungo, após a evaporação da água no interior dos tubos de ensaio. Somente em alguns ramos de eucalipto autoclavados houve formação de um número reduzido de peritécios, mesmo após a perda de água dos tubos de ensaio.

As principais características morfológicas de Diaporthe cubensis e Endothia havanensis, obtidas através da literatura, foram comparadas com as obtidas para o agente causal do cancro do eucalipto no Brasil, constituindo os dados da Tabela 3.

Pela comparação dos elementos da tabela verificou-se que o fungo isolado no Brasil apresentou características mais próximas às descritas para Diaporthe cubensis. Esses resultados foram confirmados pelo Dr. J.A. von Arx do Centraalbureau voor Schimmelcultures (Holanda), tendo o fungo sido por ele identificado como Diaporthe cubensis.

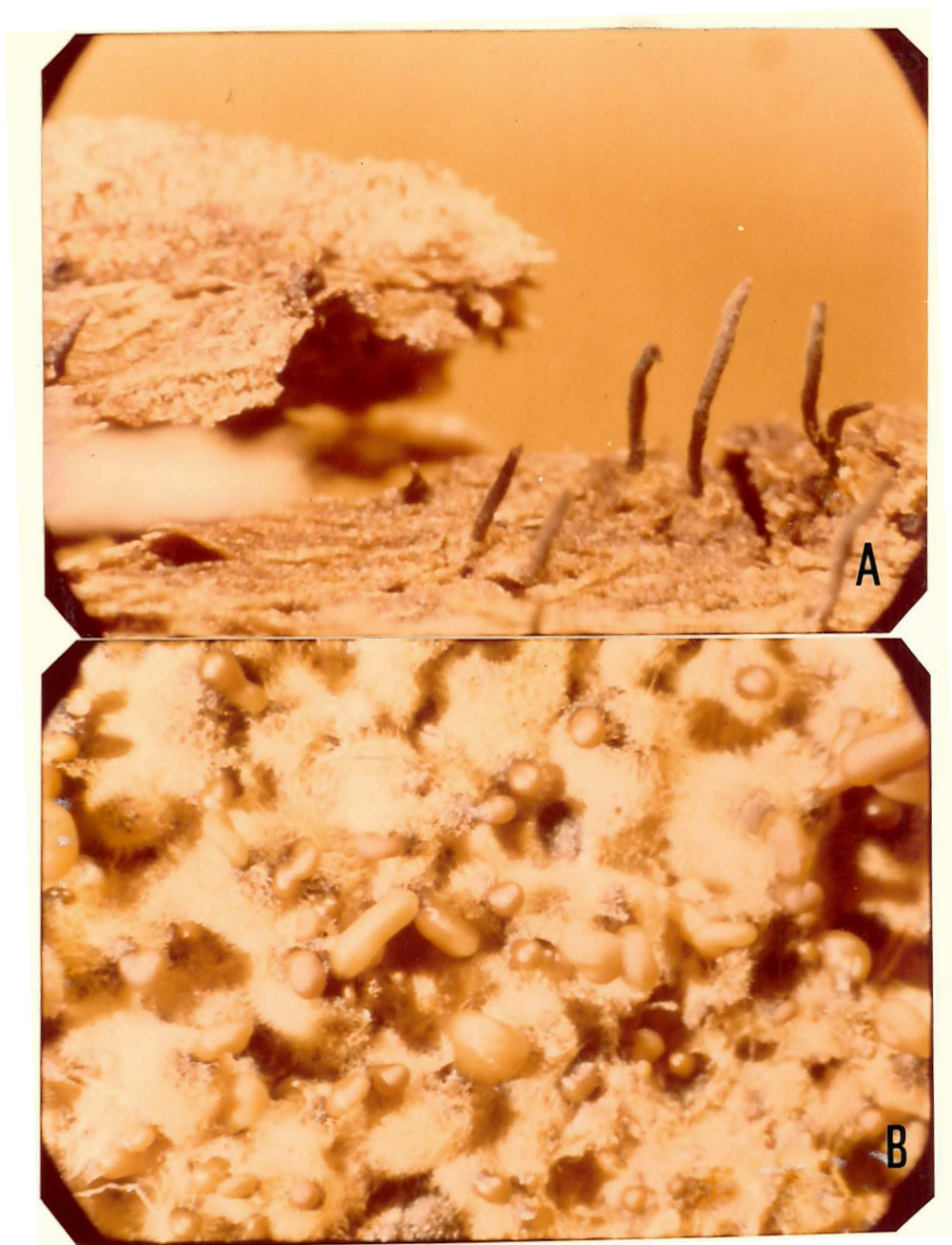


Figura 4. Estruturas de reprodução do agente causal do cancro do eucalipto. A) Estado de peritécio; B) Estado de picnídio.

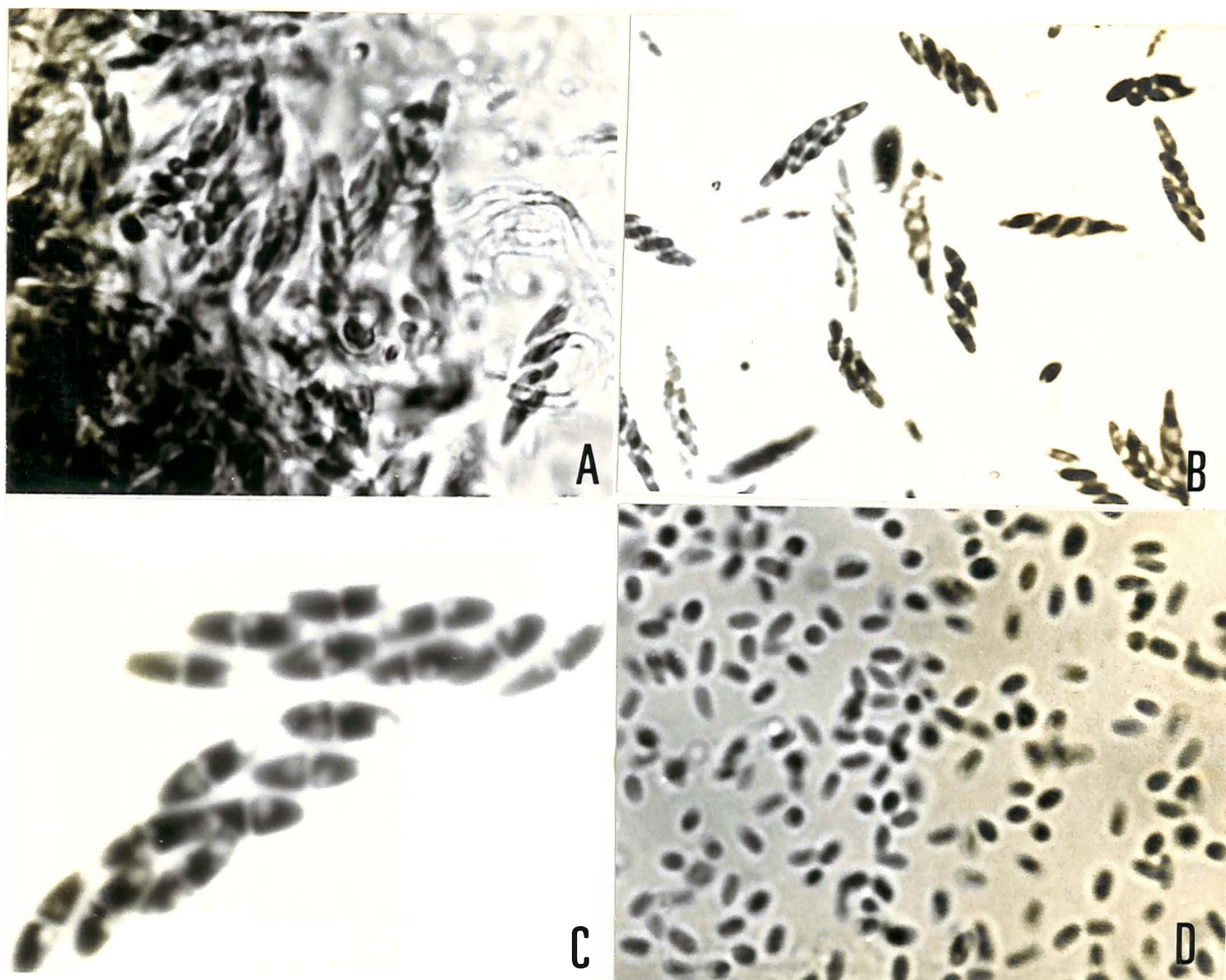


Figura 5. Estruturas de reprodução do agente causal do cancro do eucalipto. A) Concentração de ascos resultantes de um peritécio; B) Ascosporos e ascosporos isolados; C) Detalhe de ascosporos, com setas indicando a presença de septos; D) Concentração de conídios resultantes de um picnídio.

TABELA 3. Principais características morfológicas de *Diaporthe cubensis*, *Endothia havanensis* ** e do agente causal do cancro

Características	<i>Diaporthe cubensis</i>	<i>Endothia havanensis</i>	Agente causal do cancro no Brasil
Estroma	-Inato, erumpente, gregário -Bem pequeno: 425-875x350-525 u * -Nunca se torna carnoso, nem muito visível, de difícil percepção * -Moreno amarelo brilhante, quando jovem e amarelo escuro (adulto)	-Inato, gregário -Bem desenvolvido: 2-15x2-4 mm * -Facilmente distinto * -Amarelo claro (jovem), após amarelo alaranjado e finalmente amarelo-castanho	-Erumpente, gregário -Bem pequeno -Não é muito visível, de difícil percepção * -Amarelado
Peritécios	-Escuros, globosos -Pescoços: atravessam o estroma, c/200 a 1000 u de compr. e 80-150 de diâmetro * -Medem 175-420 u de diâmetro na base -Superficiais, paredes grossas -Um a nove de peritécios/pústula	-Escuros, globosos -Pescoços: profundamente imersos no estroma * -Medem 274-420 u de diâmetro na base -	-Escuros, globosos -Pescoços: atravessam o estroma, com 100-1100 u de comprimento.* - -Superficiais, paredes grossas -Um a oito peritécios/pústula
Ascospores	-Forma: cilíndricos a fusóides -Sub-clavados -Aparafisados, transparentes -Com oito esporos bicelulares -Com anel no extremo superior do lúmen -Medem 29,96x5,13 u (24,90-34,03x4,15-6,64 u) *	-Forma: oblongos a fusóides -Clavados -Aparafisados -Com oito esporos bicelulares - -Medem 37,00x6,25 u (33,00-41,00x5,00-7,50 u)*	-Forma: cilíndricos a fusóides -Sub-clavados -Aparafisados, transparentes -Com oito esporos bicelulares -Com anel no extremo superior do lúmen -Medem 24,76x5,71 (23,24-26,56x4,15-6,64 u) *
Ascospores	-Ascospores fusiformes a ovais -Duas células com 1 a 4 núcleos por célula -Hialinos, gutulados -Sem constrição no septo * -Medem 6,85-2,30 u (5,81-8,30x2,07-2,49 u) * -Irregularmente subdistícos *	-Ascospores fusóides -Duas células -Hialinos, gutulados -Constrictos no septo * -Medem 8,55x3,53 u (7,47-9,54x2,92-4,15 u) * -Subdistícos *	-Ascospores ovais -Duas células -Hialinos, gutulados -Sem constrição no septo * -Medem 6,27-2,39 u (7,47-4,98x1,66-2,49 u) * -Irregularmente sub-distícos *
Picnídios	-Forma de pera ou cônicos -Moreno escuros a quase negros -Medem 200 a 600 u de diâmetro -Conidióforos simples ou ramificados	-Forma de pera -Escuros - -Conidióforos simples ou ramificados	-Forma de pera ou cônicos -Escuros, quase negros - -Conidióforos simples ou ramificados
Conídios	-Piconspores pequenos, hialinos, com paredes delgadas -Unicelulares -Com forma elíptica com extremidades arredondadas -Exsudam em cirrus -Medem 3,32x1,66 u (2,49-4,15x1,66-2,07 u)	-Piconspores pequenos, hialinos com paredes delgadas -Unicelulares -Com forma de bastão, com extremidades arredondadas -Exsudam em cirrus -Medem 3,70x1,24 u (2,9-4,5x0,83-1,66 u)	-Piconspores pequenos, hialinos com paredes delgadas -Unicelulares -Com forma elíptica, com extremidades arredondadas -Exsudam em cirrus. -Medem 3,35x1,66 u (2,50-4,15x1,66 u)
Hopledetros	<i>Eucalyptus</i> spp	<i>Eucalyptus</i> spp	<i>Eucalyptus</i> spp

* Características diferenciais entre os dois gêneros

** Dados colhidos a partir de trabalhos publicados por BRUNER (1916, 1917), KOBAYASHI e ITO (1956), BOERBOOM e MAAS (1970).

4.3. Estudo sobre alguns aspectos da fisiologia do agente causal do cancro

4.3.1. Influência de meios de cultura e regime de luz na esporulação

As médias dos resultados obtidos para a esporulação de D. cubensis em diferentes meios de cultura e regime de luz são apresentados na Tabela 4. Os resultados originais do ensaio e a análise estatística constituem os dados do Apêndice 1.

Na análise da Tabela 4, verifica-se que houve acentuada inibição da esporulação do fungo, quando mantido em condições de escuridão contínua. Nos meios de casca e casca + dextrose, a esporulação foi inibida totalmente e nos demais, a esporulação foi bastante reduzida, chegando quase a inibição total. À medida que o período de iluminação foi iniciado, a esporulação aumentou, em todos os meios de cultura.

Realmente, o número médio de picnídios obtidos em condições de escuro contínuo, diferiu estatisticamente dos valores obtidos em condições de luz alternada e contínua, tanto no centro quanto na periferia das culturas. Os resultados obtidos com luz contínua (86,22 picnídios) foram significativamente superiores aos de luz alternada (32,24 picnídios), somente no centro das culturas. De um modo geral, o melhor meio de cultura foi o BDA. Considerando o centro da cultura, o BDA apresentou um número médio de picnídios (78,02) estatisticamente superior aos valores obtidos com os outros meios. A análise da periferia das culturas não detectou diferenças significativas entre o número médio de picnídios obtidos pelo BDA (34,01) e aveia (27,93). Dessa forma, pode-se verificar que as melhores condições para a esporulação do fungo, no centro da cultura, compreendem o meio de BDA e regime de luz contínua.

Tabela 4. Média do número de picnídios, obtida nos diferentes meios de cultura e regimes de luz.

Tratamentos	Número de picnídios/campo											
	Centro da cultura						Periferia da cultura					
	E.C.	L.A.	L.C.	Média	E.C.	L.A.	L.C.	Média	E.C.	L.A.	L.C.	Média
Aveia	0,87	55,83	111,17	55,95 ^b	1,55	42,33	39,92	27,93 ^{X,Y}				
Aveia + P.F.	0,88	37,66	85,53	41,36 ^{b,c}	1,65	36,83	34,33	24,27 ^{Y,Z}				
BDA	0,41	73,25	160,33	78,02 ^a	0,29	47,58	53,66	34,01 ^X				
CASCA	0,00	7,92	66,50	24,80 ^{d,e}	0,00	2,75	3,58	2,11 ^W				
CASCA + DEXTROSE	0,00	7,00	66,90	24,25 ^{d,e}	0,00	7,33	10,50	5,97 ^W				
V-8	0,88	31,83	73,07	35,38 ^{c,d}	0,78	8,08	9,67	6,18 ^W				
LILLY & BARNETT	0,38	12,00	40,67	17,68 ^e	0,40	29,17	18,08	15,88 ^Z				
MÉDIAS	0,45 ^Z	32,24 ^Y	86,22 ^X		0,64 ^b	24,88 ^a	24,34 ^a					

E.C. = escuro contínuo; L.A. = luz alternada; L.C. = luz contínua
Média não seguida pela mesma letra difere significativamente ao nível de 5% (Tukey)

4.3.2. Influência da temperatura no crescimento micelial

Os resultados obtidos para o crescimento micelial dos isolados em meio de BDA, mantidos em diferentes temperaturas são apresentados na Tabela 5. Os resultados totais do ensaio e a análise estatística constituem os dados do Apêndice 2.

Pelos resultados do experimento verifica-se que os diferentes isolados se desenvolvem significativamente melhor na faixa de temperatura entre 28 e 30°C. Nas temperaturas extremas, 14 e 36°C, não foi observado qualquer desenvolvimento dos isolados. Quando as placas de Petri mantidas a 14°C foram transferidas para uma temperatura favorável (28°C) os isolados se desenvolveram normalmente, indicando que não houve perda da viabilidade do fungo. O retorno das placas de Petri mantidas em temperatura de 36°C para uma favorável, não propiciou o desenvolvimento do fungo, sugerindo a perda de viabilidade nessa temperatura. Com relação às características das culturas, observou-se a influência da temperatura na coloração do micélio dos isolados. Em temperaturas mais baixas (18-22°C) as culturas apresentaram coloração esbranquiçada, sendo gradualmente escurecida com o aumento da temperatura, até 34°C, na qual possuíam coloração cinza escuro, e com coloração típica em torno de 26-30°C. Dentre os isolados testados, os de número 30 e 34 apresentam um ótimo de crescimento em torno de 28°C, e os demais em torno de 30°C. O isolado 32 apresentou um valor médio de crescimento (63,86 mm) estatisticamente superior aos valores dos demais isolados. Na Tabela 5, é possível notar que alguns isolados apresentam certas particularidades no crescimento. Os isolados 30 e 34 foram os que apresentaram menor crescimento a temperatura de 18°C, e o 31 apresentou crescimento reduzido a 34°C. Estas diferenças no crescimento dos isolados das diversas temperaturas podem ter levado à interação significativa entre os efeitos de isolados e temperaturas (Apêndice 2).

Tabela 5. Diâmetro médio das culturas de *D. cubensis*, expresso em mm, obtido em meio de batata-dextrose-água a diferentes temperaturas

Isolados	Temperatura (°C)											Médias
	14	18	22	25	28	30	32,5	34	36	36	36	
30	0,0	11,67	43,33	46,33	66,00	65,33	62,33	36,67	0,0	0,0	0,0	47,38 ^Z
31	0,0	19,00	52,67	67,33	80,67	88,00	35,00	15,33	0,0	0,0	0,0	51,14 ^Z
32	0,0	25,67	60,00	78,33	87,67	90,00	68,67	37,00	0,0	0,0	0,0	63,86 ^X
33	0,0	25,67	66,33	78,67	87,33	90,00	40,67	34,00	0,0	0,0	0,0	60,38 ^Y
34	0,0	13,67	39,33	53,67	80,33	78,67	46,67	25,00	0,0	0,0	0,0	48,19 ^Z
Médias	-	19,07 ^e	52,33 ^c	64,87 ^b	80,40 ^a	82,40 ^a	50,67 ^c	29,60 ^d	-	-	-	-

Média não seguida pela mesma letra difere significativamente ao nível de 1% (Tukey)

4.4. Métodos de inoculação e avaliação da resistência de espécies de eucalipto

Os resultados obtidos para os três métodos de inoculação de D. cubensis, em Eucalyptus saligna, E. grandis e E. decaisneana são apresentados na Tabela 6. Os resultados originais do ensaio e a análise estatística constituem os dados do Apêndice 3.

Tabela 6. Valores médios das lesões, em troncos de eucaliptos, obtidos para os três métodos de inoculação de D. cubensis.

Espécie	Método de inoculação *		
	cilindros de casca	palitos de madeira	cilindros de micélio
<u>E. grandis</u>	77,42 ^a	49,28 ^p	62,62 ^x
<u>E. saligna</u>	57,37 ^a	31,45 ^p	47,33 ^x
<u>E. decaisneana</u>	8,55 ^b	4,77 ^q	7,22 ^y
Médias **	47,78 ^r	28,50 ^t	39,06 ^s

Média não seguida pela mesma letra difere significativamente ao nível de 1% (Tukey)

* Os resultados das medições são expressos em cm², para os três métodos de inoculação.

Pela Tabela 6, verifica-se que os 3 métodos de inoculação foram eficientes para induzir lesões em troncos sadios de eucalipto. A inoculação com cilindros de casca infectados com D. cubensis provocou lesões maiores (47,78 cm²), seguindo-se a inoculação com cilindros de micélio (39,06 cm²) e palitos de madeira (28,50 cm²), sendo tais diferenças estatisticamente significativas.

Das espécies inoculadas com D. cubensis, o E. decaisneana apresentou lesões menores, seguindo-se E. saligna e E. grandis com médias de lesões maiores, pelos três métodos de inoculação. A comparação estatística das médias mostrou que a área de lesão em E. decaisneana é estatisticamente inferior às áreas de lesão em E. saligna e em E. grandis. Os valores médios das áreas de lesão entre as duas últimas espécies não diferem estatisticamente em nenhum dos métodos de inoculação.

4.5. Estudo do cancro em talhão comercial de Eucalyptus urophylla

4.5.1. Características gerais das parcelas representativas do talhão

Os resultados do levantamento, referentes às características do talhão escolhido são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7. Características gerais do talhão de E. urophylla

	Número	%	
Plantas vivas	sem cancro típico	222	29,60
	com cancro típico	259	34,53
Plantas mortas	114	15,20	
Falhas	155	20,67	
Total	750	100 %	

Pela análise da Tabela 7 verifica-se que foram avaliadas 481 árvores, compreendendo 64,13%. Desse valor, cerca de 29,60% são representados por plantas sem cancro típico (classes de cancro 0 e 1), enquanto

que os 34,53% restantes, por plantas com cancro típico (classes 2 e 3) Os 35,87% são representados por plantas mortas e por falhas, com dados percentuais de 15,20 e 20,67% respectivamente.

4.5.2. Distribuição das plantas de E. urophylla na população quanto aos padrões fenotípicos e classes de cancro

A distribuição da população pela avaliação dos padrões fenotípicos e classes de cancro em condições de campo, encontra-se relacionada na Tabela 8. Os resultados da análise estatística encontram-se no Apêndice 4.

Pelos dados apresentados na Tabela 8, observa-se uma maior concentração de indivíduos no padrão fenotípico C (não típico de E. urophylla), compreendendo 218 árvores (45,3% do total), seguido pelo padrão B (comercial) com 190 árvores (39,5% do total) e pelo padrão A (típico de E. urophylla) com 73 árvores (15,2% do total).

O valor significativo do χ^2 (69,45**) da Tabela 9 mostra uma dependência entre os padrões fenotípicos e as classes de cancro consideradas. A mesma relação de dependência pode ser verificada quando se considera os padrões fenotípicos agrupados dois a dois, bem como quando se compara as classes de cancro isentas: desintomas (classe 0) e com sintomas (classes 1, 2 e 3 reunidas) com os diferentes padrões fenotípicos (Apêndice 4).

Esta dependência entre padrões fenotípicos e classes de cancro pode ser visualizada pelas porcentagens fornecidas na Tabela 8. Nota-se que o padrão fenotípico A se caracteriza por apresentar uma maior concentração de indivíduos na classe 0 (60,28%). De modo inverso, o padrão fenotípico C, se caracteriza por apresentar maior concentração de indiví -

duos na classe 3 (48,17%). Finalmente, o padrão B apresenta uma distribuição mais ou menos equivalente de representantes nas quatro classes de cancro.

Tabela 8. Distribuição das plantas de *E. urophylla* na população, quanto aos padrões fenotípicos e classes de cancro

Padrões fenotípicos	Classes de cancro	Número de indivíduos	Porcentagem
A	0	44	60,28
	1	17	23,29
	2	3	4,11
	3	9	12,32
Sub-total		73	100,00
B	0	52	27,37
	1	38	20,00
	2	37	19,47
	3	63	33,16
Sub-total		190	100,00
C	0	35	16,05
	1	36	16,52
	2	42	19,26
	3	105	48,17
Sub-total		218	100,00
Total		481	

$$\chi^2 = 69,45 \text{ ** com } (3-1)(4-1) = 6 \text{ graus de liberdade}$$

** : Significativo a 1% de probabilidade

4.5.3. Caracterização botânica das plantas em laboratório

Os resultados da classificação botânica das plantas de Euca - lyptus urophylla, através da análise dos botões, florais, frutos e folhas, em condições de laboratório, são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Caracterização botânica das plantas de E. urophylla, em condições de laboratório

Caracterização botânica	Classes de cancro	Número de indivíduos	Porcentagem
Típica	0 - 1	11	64,70
	2 - 3	6	35,30
Sub-total		17	100,00
Comercial	0 - 1	12	57,15
	2 - 3	9	42,85
Sub-total		21	100,00
Não Típica	0 - 1	10	32,25
	2 - 3	21	67,75
Sub-total		31	100,00
Total		69	

Pela análise da Tabela 9, verificou-se que dentre as plantas classificadas como típicas de E. urophylla, um maior número de indivíduos está agrupado nas classes 0 - 1, representando 64,70%, enquanto que 35,30% estão compreendidos nas classes 2 - 3.

Com relação às plantas classificadas como não típicas de E.

urophylla, observou-se que 67,75% das mesmas pertenciam às classes 2 - 3 de cancro, enquanto que 32,25% estavam agrupadas nas classes 0 - 1 de cancro.

Na categoria comercial de E. urophylla, os indivíduos estão distribuídos em número intermediário, considerando as classes de cancro.

Os resultados do estudo dos híbridos de eucalipto, agrupados na categoria "não típicos" de E. urophylla, são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Espécies de eucalipto, pertencentes à caracterização não típica de E. urophylla, definidas botanicamente em laboratório.

Classes de cancro	<u>E. grandis</u> nº	<u>E. saligna</u> nº	<u>E. robusta</u> nº	<u>E. tereticornis</u> nº	Não Iden. nº	total
0 - 1	4	0	4	1	1	10
2 - 3	12	2	6	0	1	21
Total	16	2	10	1	2	31
	51,62%	6,45%	32,25%	3,23%	6,45%	100%

Pelos dados da Tabela 10, verificou-se que os híbridos analisados, ou seja, os pertencentes aos não típicos de E. urophylla, se enquadram nas características de E. grandis, E. saligna, E. robusta e E. tereticornis, com predominância de E. grandis atingindo 51,62% do total. Com respeito às classes de cancro, os híbridos de E. saligna e E. grandis estão agrupados em sua maioria nos níveis 2 - 3 de cancro.

4.5.4. Distribuição das plantas de *E. urophylla*, com relação à altura média, diâmetro médio e retidão do tronco.

Os resultados do levantamento, referentes ao DAP, H e retidão do tronco das plantas de *E. urophylla*, dentro das classes de cancro e padrões fenotípicos, estão relacionados na Tabela 11. Os resultados da análise estatística encontram-se no Apêndice 5.

Tabela 11. Altura média, diâmetro médio e retidão do tronco de *E. urophylla*, dentro das classes de cancro e padrões fenotípicos

Padrões Fenotípicos	Classes de cancro	DAP (cm)	H (cm)	Retidão do tronco
Típico	0	14,87 ^m	19,36 ^a	7,49
	1	14,66 ^m	19,41 ^a	7,40
	2	15,20 ^m	-	6,50
	3	17,58 ^m	22,00 ^a	7,29
Comercial	0	12,72 ^q	17,67 ⁱ	6,95
	1	13,64 ^{p,q}	18,09 ⁱ	7,30
	2	13,63 ^{p,q}	18,50 ⁱ	7,33
	3	14,40 ^p	18,71 ⁱ	7,27
Não Típico	0	9,33 ^h	13,18 ^w	6,69
	1	11,68 ^g	16,15 ^y	6,78
	2	11,74 ^g	16,63 ^y	6,91
	3	14,11 ^f	18,39 ^x	7,12

Média não seguida pela mesma letra difere significativamente ao nível de 5% (Tukey)

Pela Tabela 11 observou-se que no padrão não típico de E. urophylla as árvores menos desenvolvidas estão compreendidas na classe 0 de cancro, sendo significativamente maiores aquelas compreendidas nas classes 1, 2 e 3. No padrão típico de E. urophylla não foram observadas diferenças significativas, com respeito ao diâmetro e altura média e no padrão comercial somente houve significância nas comparações de diâmetro médio das classes 0 e 3 de cancro. Com referência à retidão do tronco não foram observadas diferenças marcantes nas árvores dos três padrões fenotípicos.

4.5.5. Inoculações artificiais

Os resultados obtidos nas inoculações artificiais de D. cubensis, em árvores do talhão comercial de E. urophylla, são apresentadas na Tabela 12, e Figuras 6A, 6B, 7A, 7B e 7C. Os resultados originais do ensaio e a análise estatística constituem os dados do Apêndice 6.

Na Tabela 12, as áreas médias das lesões correspondentes às classes de cancro 0 e 1 não diferiram significativamente entre si, nos padrões típico e não típico de E. urophylla, sendo que no padrão comercial foi possível detectar diferenças significativas entre as quatro classes (0, 1, 2, 3) de cancro.

No geral, sem estratificar em padrões fenotípicos, também se discriminaram diferenças significativas entre as lesões médias das quatro classes de cancro. Realmente, as árvores pertencentes à classe de cancro 0 tiveram seus tecidos levemente afetados pelo fungo causador do cancro. O grau de infestação aumentou gradualmente e significativamente nas plantas compreendidas nas classes 1, 2 e 3. Dessa maneira, as plantas mais afetadas pelo fungo pertencem às classes de cancro 2 e 3.

Tabela 12. Resultados das inoculações do fungo *D. cubensis*, em plantas do talhão comercial de *E. urophylla*

Caracterização botânica	Classes de cancro	Nº de plantas inoculadas	Inoculação com disco de casca (área média afetada em cm ²)
Típica	0	10	7,50 ^c
	1	5	14,54 ^c
	2	5	30,04 ^b
	3	5	52,46 ^a
Comercial	0	10	8,94 ⁱ
	1	5	16,96 ^h
	2	5	33,52 ^g
	3	5	55,12 ^f
Não típica	0	10	6,63 ^o
	1	5	18,21 ^{n,o}
	2	5	26,30 ⁿ
	3	10	57,03 ^m
Médias para os 3 padrões	0	30	7,70 ^w
	1	15	16,54 ^z
	2	15	29,96 ^y
	3	20	55,41 ^x

6

Média não seguida pela mesma letra difere significativamente ao nível de 1% (Tukey)



Figura 6 - Reação apresentada pelas plantas de eucalipto à inoculação de Diaporthe cubensis. A) Planta pertencente ao padrão comercial, nível de cancro 0; B) Planta pertencente ao padrão típico de E. urophylla, nível de cancro 0.

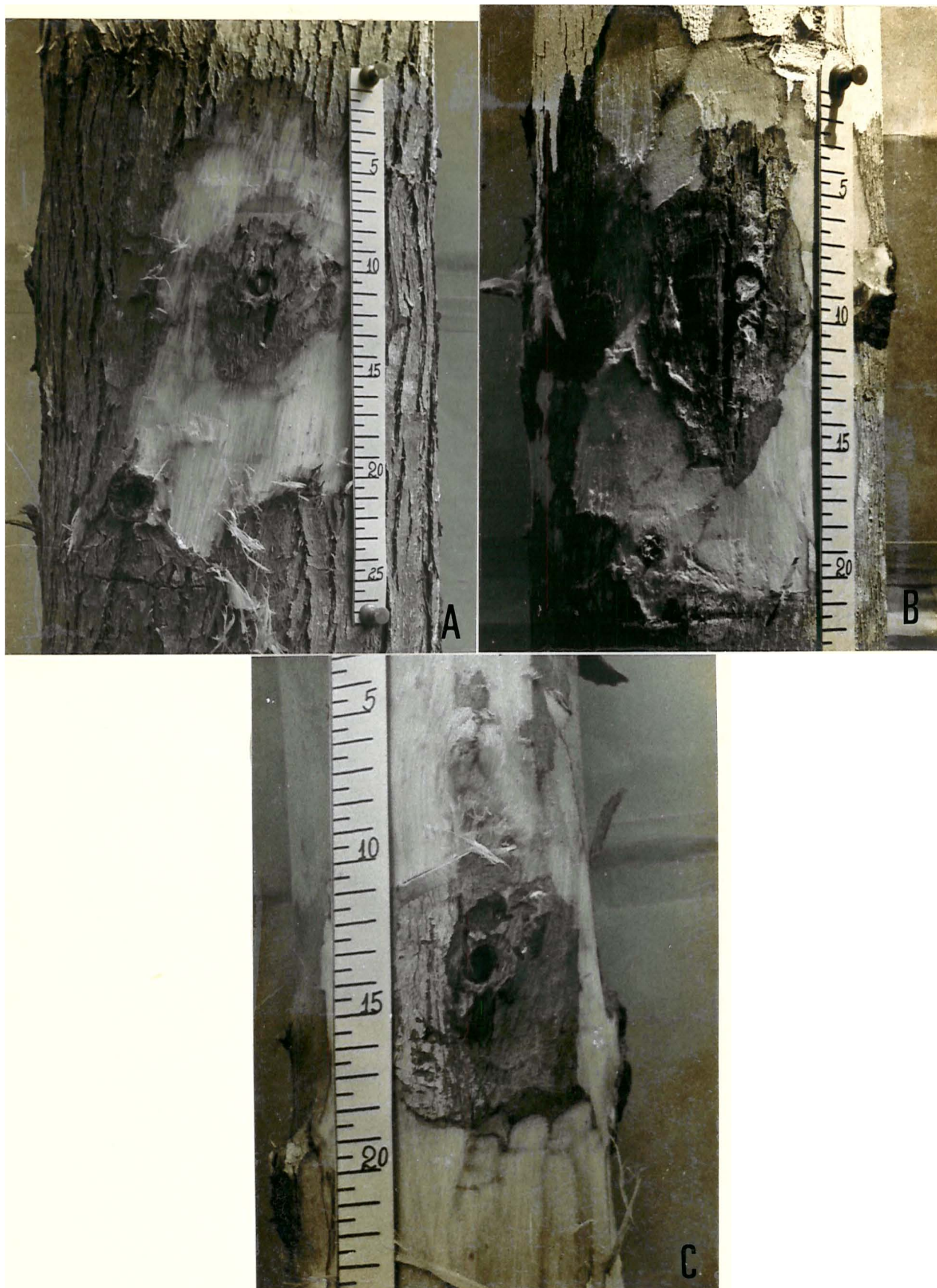


Figura 7.- Reação apresentada pelas plantas de eucalipto à inoculação de Diaporthe cubensis. A) Planta pertencente ao padrão comercial, nível de cancro 2; B e C) Planta do padrão não típico de E. urophylla, nível de cancro 3;

4.6. Estudo do cancro em ensaios de introdução de espécies e procedências de eucalipto

Os dados de medições e sobrevivência das árvores encontram-se na Tabela 13. O comportamento das espécies e procedências de eucalipto é apresentado na Tabela 14.

A análise das tabelas 13 e 14 permite apontar E. camaldulensis (Figura 8A), E. cloeziana, E. torrelliana (Figura 8B), E. tereticornis (Figura 8C) e E. urophylla como espécies promissoras; E. deanei, E. dunnii, E. exserta, E. grandis, E. pilularis, E. propinqua, E. resinifera, E. saligna e E. tessellaris como espécies promissoras com restrições; E. acmeoides, E. andrewsi, E. benthani, E. campanulata, E. crebra, E. laevopinea, E. molucana, E. nesophylla, E. nitens, E. phaeotricha, E. quadrangulata, E. siderophloia e E. trachyphloia como espécies inadequadas.

TABELA 1A: Valores de altura, DAP e porcentagem de falhas, obtidos nos ensaios de introdução de espécies e procedências de eucalipto

	Ensaio I					Ensaio II	
	Introdução de 34 espécies e procedências *					Introdução de 30 espécies e procedências	
	1ª Avaliação - 15 meses		2ª Avaliação - 26 meses			1ª Avaliação - 13 meses	
	Altura Média (m)	% de Falhas	Altura Média (m)	DAP Médio (m)	% de Falhas	Altura Média (m)	% de Falhas
1. E. acmenicoides	2,82	11,11	5,94	6,16	15,27	3,21	2,78
2. E. andrewsi	2,74	36,11	5,48	6,48	54,65	-	-
3. E. benthami	3,06	58,33	5,70	6,89	63,19	3,81	30,55
4. E. camaldulensis	4,40	6,94	7,45	6,39	6,94	5,09	5,55
5. E. camaldulensis	-	-	-	-	-	5,02	2,78
6. E. campiculata	-	-	-	-	-	2,81	25,00
7. E. cloeziana	3,83	19,44	7,30	7,91	22,22	-	-
8. E. crebra	2,45	16,67	4,08	4,26	34,02	3,69	25,00
9. E. deanei	4,24	6,94	8,26	7,33	6,94	5,12	2,78
10. E. deanei	3,67	16,67	7,18	7,32	17,36	3,95	5,55
11. E. deglupta	2,13	29,16	4,62	4,88	29,16	-	-
12. E. deglupta	2,25	75,00	4,34	5,13	75,00	-	-
13. E. dunnii	4,50	2,78	8,54	7,59	3,47	5,31	2,78
14. E. dunnii	-	-	-	-	-	4,95	0,00
15. E. exserta	5,07	4,86	8,30	7,17	4,86	5,36	0,00
16. E. grandis	-	-	-	-	-	4,99	11,11
17. E. laevopinea	1,98	63,89	4,02	3,75	70,13	-	-
18. E. molucana	1,85	13,89	2,85	2,16	36,80	2,63	5,55
19. E. nesophylla	2,45	20,83	4,34	4,80	22,22	2,46	16,67
20. E. nitens	1,56	36,11	2,58	2,28	44,44	2,01	22,22
21. E. phaeotricha	2,82	22,22	5,92	6,53	25,69	3,26	16,67
22. E. pilularis	3,39	25,00	7,33	7,17	32,63	-	-
23. E. propinqua	5,56	1,38	9,03	7,95	1,38	4,73	0,00
24. E. propinqua	4,13	16,67	8,07	7,19	19,44	4,92	2,78
25. E. quadrangulata	3,55	11,11	6,95	6,20	12,50	3,83	8,33
26. E. quadrangulata	-	-	-	-	-	3,27	8,33
27. E. resinifera	3,76	11,11	6,93	6,23	13,19	3,41	2,78
28. E. saligna	4,89	2,55	8,48	7,75	7,63	4,36	8,33
29. E. saligna	4,11	8,33	8,75	7,56	11,11	5,74	2,78
30. E. siderophloia	2,79	11,11	5,23	5,24	18,05	3,06	5,55
31. E. tereticornis	4,71	8,33	8,31	7,69	8,33	3,65	5,55
32. E. tessellaris	4,04	3,47	6,36	7,73	3,47	3,97	5,55
33. E. torelliana	4,52	2,78	8,07	7,90	4,16	4,69	0,00
34. E. torelliana	4,47	2,78	7,66	7,78	2,77	4,29	0,00
35. E. torelliana	-	-	-	-	-	3,45	2,78
36. E. trachyphloia	2,72	10,41	5,61	5,27	10,41	3,56	11,11
37. E. trachyphloia	2,87	25,00	5,89	5,90	27,77	-	-
38. E. urophylla	4,58	2,78	7,77	7,34	7,63	-	-
39. E. urophylla	4,04	22,22	7,46	7,46	25,00	-	-
40. E. urophylla	3,98	11,11	6,53	6,71	13,19	-	-

* A procedência de cada espécie está relacionada na Tabela 2

TABELA 14. Principais características observadas para as espécies e procedências de eucalipto, pertencentes aos ensaios de introdução *

Espécies/Procedência	Crescimento	Uniformidade	Forma	Cancro	Sobrevivência	Observações
1. <i>E. acmerioides</i>	M	B	M	+	Ba-M	presença de cupins
2. <i>E. andrewsi</i>	M	R	M	+	Ba	com exsudações de goma
3. <i>E. benthami</i>	M	R-M	R	+	Ba	-
4. <i>E. camaldulensis</i>	B	M	M	-	A	troncos tortuosos, com algumas árvores boas
5. <i>E. camaldulensis</i>	M-B	M	M	-	A	troncos tortuosos
6. <i>E. campanulata</i>	R	R	M	+	Ba	-
7. <i>E. cloeziana</i>	B	B	B	-	M	com florescimento e frutificação
8. <i>E. crebra</i>	R-M	R	R	+	Ba	-
9. <i>E. deanei</i>	B	M-B	M	+	A	com exsudações de goma
10. <i>E. deanei</i>	B	M	M	+	M	com exsudações de goma
11. <i>E. deglupta</i>	M-B	M	R-M	+	Ba	troncos tortuosos
12. <i>E. deglupta</i>	M-B	R	R	+	Ba	-
13. <i>E. dunnii</i>	B	B	M	+	A	sintomas leves de cancro
14. <i>E. dunnii</i>	B	M-B	M	+	A	sintomas leves de cancro
15. <i>E. exserta</i>	B	R-M	R	-	A	com troncos sinuosos
16. <i>E. grandis</i>	B	B	B	+	M-A	-
17. <i>E. laevopinea</i>	R	R	R	+	Ba	-
18. <i>E. moluccana</i>	R	R	M	+	Ba	-
19. <i>E. nesophylla</i>	R-M	M	R	+	Ba	alta incidência de brotações basais e bifurcações
20. <i>E. nitens</i>	R	R	R	+	Ba	-
21. <i>E. phaeotricha</i>	M	B	M	+	B	-
22. <i>E. pilularis</i>	B	M-B	B	+	Ba	com algumas árvores boas
23. <i>E. propinqua</i>	B	M	B	+	A	com algumas árvores boas
24. <i>E. propinqua</i>	B	B	B	+	M-A	-
25. <i>E. quadrangulata</i>	M-B	R	M	+	M	-
26. <i>E. quadrangulata</i>	M	M	M	+	B	copa com ramos finos
27. <i>E. resinifera</i>	B	M	M	+	M	com bifurcações
28. <i>E. saligna</i>	B	B	M	+	A	-
29. <i>E. saligna</i>	B	B	B	+	M-A	-
30. <i>E. siderophloia</i>	M	R	R	+	M	alta porcentagem de bifurcações
31. <i>E. teraticornis</i>	B	M	M	-	A	sinuosidade no tronco
32. <i>E. tessellaris</i>	M-B	M	M-R	+	A	com algumas árvores boas
33. <i>E. torelliana</i>	B	B	B	-	A	com florescimento e frutificação
34. <i>E. torelliana</i>	B	B	B	-	A	com florescimento e frutificação
35. <i>E. torelliana</i>	B	B	B	-	A	com florescimento e frutificação
36. <i>E. trachyphloia</i>	M	R	R	+	M	-
37. <i>E. trachyphloia</i>	M	M	R	+	B	-
38. <i>E. urophylla</i>	B	B	M-B	-	A	presença de prováveis híbridos de <i>E. decalpsneana</i>
39. <i>E. urophylla</i>	B	B	B	-	M	procedência de altitude
40. <i>E. urophylla</i>	B	B	B	-	A	-

* A = alta; B = boa; Ba = baixa; M = média; R = ruim



Figura 8. Ensaio de introdução de espécies e procedências de eucalipto, aspectos das espécies com resistência ao agente causal do cancro. A) Eucalyptus camaldulensis; B) Eucalyptus torelliana; C) Eucalyptus tereticornis.



Figura 9 - Ensaio de introdução de espécies e procedências, aspecto de espécie suscetível - Eucalyptus saligna

5. DISCUSSÃO

5.1. Isolamento e características das culturas

Os dois métodos de isolamento foram eficientes para a obtenção de culturas puras do fungo. O isolamento direto, a partir de estruturas do fungo produzidas em casca de eucalipto, constituiu-se em técnica de fácil utilização e bastante eficiência, desde que mantidas as condições de assepsia do instrumental e da câmara de trabalho (KIRALY e col. 1974). A adição de sulfato de estreptomicina no meio de cultura evitou a contaminação bacteriana dos isolados. Esse antibiótico tem sido utilizado com sucesso por inúmeros pesquisadores (KUHLMAN, 1966; KUHLMAN e HENDRIX, 1962; TAYLOR, 1971; TSAO, 1970).

A técnica de isolamento a partir de tecidos afetados, embora eficiente, possibilitou o desenvolvimento de fungos contaminantes e também de colônias de bactérias. O tratamento prévio dos tecidos com hipoclorito de sódio teve efeito parcial na prevenção de contaminantes. Esse efeito foi também verificado por KESSLER (1970) nos trabalhos de isolamento de D. alleghaniensis a partir de tecidos de plantas de Betula. Entretanto, como o agente causal do cancro se desenvolve rapidamente em meio de BDA, característica observada para outras espécies desse gênero (ARNOLD, 1967; HAHN, 1920; PETERSON, 1973), foi possível a obtenção de isolados isentos de contaminantes, pela repicagem de fragmentos de micélio da periferia das culturas, para tubos de ensaios.

Pela simplicidade das técnicas e pelos resultados obtidos, foram utilizados indiferentemente os dois métodos de isolamentos para a obtenção de culturas puras do agente causal do cancro.

As culturas de D. cubensis apresentaram alguma variabilidade na coloração, mas, sempre tendendo a amarelo-castanho. Os isolados MF 30, 31 e 33 possuíam vigoroso micélio aéreo, enquanto que os isolados MF 32 e 34 eram caracterizados por micélio aéreo pouco desenvolvido. Comparando com as demais espécies de Diaporthe, com respeito às características da cultura, D. cubensis mostrou-se próxima a D. alleghaniensis (ARNOLD 1967). Não foram observados os "cristais alaranjados" presentes em culturas de Diaporthe lokoyae (FUNK, 1968), Diaporthe vaccinii (WILCOX, 1940) e Phomopsis juniperovora (HAHN, 1926). A coloração do micélio e alguns aspectos das culturas de D. cubensis estavam, também, bastante próximos aos de E. havanensis, segundo a descrição da literatura (BRUNER, 1916), não possibilitando uma separação segura dos dois gêneros apenas através dessas características.

5.2. Identificação do agente causal do cancro do eucalipto

Pelos resultados obtidos no estudo da etiologia da doença, pode-se afirmar que Diaporthe cubensis Bruner, constitui-se no agente causal do cancro do eucalipto no Brasil. Esse resultado foi confirmado, posteriormente, pelo Dr. J.A. von Arx, através da análise das estruturas do patógeno em meio de cultura e em casca de eucalipto.

Entretanto, os trabalhos iniciais sobre a doença em nossas condições, descreveram o patógeno como pertencente ao gênero Endothia. HODGES, REIS e MAY (1973) e MAY (1973) identificaram o fungo como Endothia havanensis, com base em doença similar existente no Surinam (BOERBOOM e MAAS, 1970). O fungo Diaporthe cubensis é distinto de Endothia havanensis.

sis por apresentar a) peritécios que atravessam um estroma pouco desenvolvido e de difícil reconhecimento, b) ascos e ascosporos menores, com dimensões médias de 29,96 x 5,13 u, e 6,85 x 2,30 u, respectivamente, c) ascosporos bicelulares, sem constricção no septo, (Tabela 3, Figuras 4A, 5C).

Pesquisando a fase perfeita do agente causal do cancro, KRUGNER, CANEVA e CARDOSO (1973), verificaram a presença de ascosporos unicelulares, sem septos, característica esta considerada de importância na identificação correta do patógeno. Como Diaporthe cubensis possui ascosporos bicelulares, tipicamente septados (Figura 5C), provavelmente os autores tiraram suas observações de ascosporos jovens ou imaturos, os quais nessa fase de desenvolvimento não apresentam septos.

O gênero Diaporthe, conforme revisão apresentada, provoca cancos e seca de ponteiros de plantas lenhosas, em sua maioria essências florestais. No gênero Eucalyptus, diversos agentes podem induzir sintomas de cancro, entre os quais, D. cubensis, E. havanensis e Cytospora eucalypticola (WESTHUIZEN, 1965). Considerando que a doença no Brasil foi denominada vulgarmente de cancro de eucalipto e, que os tipos de cancro e seus processos de formação são os mesmos (BOYCE, 1938), há necessidade de relacionar sempre os sintomas com o agente causal. Para este caso, sugerimos que a doença em questão seja denominada de cancro do eucalipto causado por Diaporthe cubensis. Dessa maneira, são evitadas confusões na literatura, como bem afirma COSTA (1975), resultantes da má escolha de nomes para doenças de plantas quando interações entre patógenos e hospedeiros resultam em sintomas semelhantes.

5.3. Estudo sobre alguns aspectos da fisiologia do agente causal do cancro do eucalipto.

5.3.1. Influência de meios de cultura e regimes de luz na esporulação

Com relação à influência do substrato sobre a esporulação de D. cubensis os resultados indicaram que o BDA, aveia e aveia + papel de filtro foram os melhores meios de cultura, quando analisou-se o centro das culturas, em todos os regimes de luz.

O BDA, estatisticamente superior aos demais, considerando o centro da colônia, já teve sua eficiência comprovada como substrato para esporulação de D. perniciosa e crescimento micelial de D. phaseolorum batatis (HARADA e col., 1973; TIMINICK, LILLY e BARNETT, 1951). O meio de aveia apresentou boa eficiência na esporulação e embora não fossem encontradas referências para Diaporthe, são inúmeros os relatos sobre a potencialidade do meio na esporulação de fungos. Utilizado com sucesso na esporulação de fungos o meio de aveia + papel de filtro (LUKENS, 1960; McDONALD e MARTENS, 1963; BEAN e WILCOXSON, 1964) apresentou razoável eficiência na produção de picnídios de D. cubensis. O efeito positivo do papel de filtro, observado para inúmeros fungos, o qual parece ser devido ao aumento da superfície esporulante conferida pelo papel (REIS, 1973) não foi observado para Diaporthe cubensis. O meio V-8 empregado na indução de esporulação de várias espécies de fungos (TUIE, 1969) mostrou baixa eficiência nesse particular para Diaporthe cubensis. O meio de casca de eucalipto e o meio de casca + dextrose, que deveriam ser eficientes na esporulação, justamente por serem constituídos de extrativos do hospedeiro, não demonstraram boa capacidade na produção de picnídios. A esporulação deficiente do fungo poderia ser consequência da alteração dos componentes da casca durante a autoclavagem ou de um abaixamento significativo do pH durante o processo de esterilização (Tabela 4).

As reações dos fungos para a luz visível e ultravioleta podem ser agrupadas em efeito indutivo, efeito inibidor e outros (COCHRANE, 1958). Nessa classificação, segundo os resultados obtidos no ensaio, Diaporthe cubensis enquadra-se entre os organismos que respondem positivamente à iluminação contínua, ou seja, a esporulação é estimulada pela luz fluorescente contínua.

Esse estímulo da esporulação já foi observado para a maioria das espécies de Diaporthe, sendo conhecido em alguns casos, as faixas ideais de comprimento de onda. Para Diaporthe citri o comprimento de onda mais efetivo está compreendido entre 325-365 nm, correspondendo ao ultravioleta (OHMORI, 1973), enquanto que a faixa da luz vermelha foi inibitória para a esporulação (SMOOT, 1962). Para Diaporthe phaseolorum batatas a esporulação foi estimulada em luz fluorescente e ultravioleta (TIMINICK, LILLY e BARNETT, 1951). A luz azul e ultravioleta induziram a esporulação de Diaporthe perniciosa (NAWAWI e SWINBURNE, 1970) e a luz fluorescente foi indutora da esporulação de Diaporthe sojae (HARTER, 1917).

Esses dados estão de acordo com LEACH (1962, 1971), o qual afirma que o efeito indutor da esporulação da luz fluorescente, em muitos fungos fotosensíveis, é devida ao espectro de ultravioleta de 300-400 nm, presente em pequena mas significativa quantidade. Considerando que o efeito do ultravioleta foi observado para muitas espécies de Diaporthe, é possível que o mesmo fenômeno se repita para Diaporthe cubensis.

Na transferência das placas de Petri para a luz contínua, o micélio inicial do fungo ao receber o choque de luz foi induzido a esporular abundantemente. Esse resultado indica que o micélio produzido no escuro, conforme explicado em 3.3.1., promove uma significativa esporulação, no centro da cultura, após receber o choque de luz.

Esse efeito não foi observado tão intensamente quando o micélio desenvolvido inicialmente no escuro sofria períodos alternados de 12

horas de luz e escuro. Nesse regime, somente as faixas de micélio produzidas nas 12 horas de escuro, produzem picnídios em quantidade, ao receber sucessivos períodos de luz. Esse fato pode explicar a não significância da análise estatística realizada na periferia da colônia.

5.3.2. Influência da temperatura no crescimento micelial

Conforme resultados obtidos no ensaio 4.3.2., os isolados de Diaporthe cubensis tiveram seu ótimo de desenvolvimento entre 28 e 30°C. Essa faixa de temperatura está acima da encontrada, por diversos autores, para outras espécies de Diaporthe. Dessa maneira, o ótimo de temperatura para Phomopsis juniperovora estava entre 24-26°C, para Diaporthe alleghaniensis em torno de 25°C, para Diaporthe vaccini em torno de 21-24°C (PETERSON, 1973; ARNOLD, 1967; WILCOX, 1940; FUNK, 1968). Para inibir o crescimento micelial de Diaporthe cubensis foi suficiente a temperatura de 14°C, enquanto que para outras espécies - D. lokoyae, D. alleghaniensis, P. juniperovora - esta inibição ocorreu somente ao redor de 5°C (Tabela 5). Não encontramos na literatura referências à D. cubensis.

O escurecimento progressivo do micélio de D. cubensis, em função do aumento de temperatura, foi coincidente com os resultados obtidos por ARNOLD (1967) para Diaporthe alleghaniensis.

5.4. Métodos de inoculação e avaliação da resistência de espécies de eucalipto

Em função da natureza etiológica dos cancrios e do grau de parasitismo caracterizado por McNEW (1960) torna-se necessária a procura de fontes de resistência para o controle desse grupo de patógenos.

Em que pese o intenso desenvolvimento de novos defensivos agrícolas, com a descoberta de fungicidas mais eficientes no controle das doenças, o controle químico em Silvicultura somente é viável em condições de viveiro (VAARTAJA, 1964, 1967). Mesmo considerando a possibilidade de aplicação de fungicidas em plantios estabelecidos no campo, outros aspectos importantes, além do econômico, tais como a poluição ambiental e desequilíbrio biológico, precisam ser levados em conta.

Segundo esse raciocínio, torna-se fundamental a pesquisa sobre fontes de resistência, principalmente através de inoculações artificiais. Considerando que os agentes causais de cancro penetram nos hospedeiros através de aberturas naturais (provocadas pela desrama natural e rachaduras na base do tronco) e através de ferimentos (provocados por insetos, e condições climáticas extremas) (KESSLER, 1970; FUNK, 1968), é fundamental a pesquisa de resistência cujos mecanismos atuem após a penetração dos patógenos.

Nas inoculações dos agentes causais de cancro tem sido empregado comumente fragmentos de micélio desenvolvido em meio de cultura. Esse método foi utilizado para Diaporthe alleghaniensis, D. vaccinii, D. cubensis, P. juniperovora, Ceratostomella ulmi e outros (ARNOLD, 1970; WILCOX, 1940; HAHN, 1926; CAROSELLI e FELDMAN, 1961 ; KRUGNER, CANEVA e CARDOSO, 1973). Na literatura consultada, não foram encontradas referências sobre a utilização de cilindros de casca recobertos com o fungo e palitos de madeira também recobertos pelo fungo.

Os três métodos de inoculação de Diaporthe cubensis foram eficientes na indução de lesões em troncos sadios de eucaliptos, sendo que entre os 3 empregados o de cilindros de casca constitui-se no método mais eficiente e mais drástico. Das espécies inoculadas com o isolado MF 33, os resultados do ensaio 3.4. indicaram que Eucalyptus decaisneana comportou-se como resistente e E. saligna e E. grandis como suscetíveis (Tabela 6).

A suscetibilidade de E. saligna e E. grandis tem sido observada em plantas afetadas naturalmente e através de inoculações artificiais (HODGES e REIS, 1974; HODGES, REIS e MAY, 1973; KRUGNER, CANEVA e CARDOSO, 1973). Apesar dessas conclusões, convém salientar que temos observado em plantios comerciais dessas espécies, árvores sadias ao lado de árvores afetadas pelo fungo, sugerindo a existência de fontes de resistência.

Embora não existam estudos aprofundados sobre a resistência no gênero Eucalyptus, certos autores, baseados em observações de campo, apontam como E. robusta, E. urophylla e E. tereticornis como resistentes (BRUNER, 1916; HODGES e REIS, 1973; MAY, 1973).

Dentre os mecanismos de resistência de essências florestais aos patógenos que causam cancro, é bastante importante a resistência fisiológica, caracterizada pela presença de polifenóis (BINGHAM, HOFF e McDONALD, 1971). Da casca de Populus sp foi isolado o pirocatecol, responsável pela inibição de Hypoxylon pruinaatum (Klot.) Cke., agente causal de cancro nesse gênero (HUBBES, 1962). Um composto fenólico foi também associado com a resistência de Pinus monticola Lamb. ao fungo Cronartium ribicola (HARE, 1966).

Espécies de Castanea resistentes a Endothia parasitica apresentaram na casca uma maior quantidade de taninos solúveis em água. Através de bioensaios o tanino isolado dessas espécies foi mais tóxico ao fungo do que o extraído de espécies suscetíveis. Os resultados indicam

que essa resistência é devida a diferenças quantitativas como qualitativas (NIENSTAEDT, 1953).

Outro tipo de resistência foi determinado em plantas de Ulmus americana, nas quais observou-se uma relação entre resistência ao fungo Ceratocystis ulmi com a diminuição do diâmetro dos vasos do xilema (ELGERSON, 1970; McNABB, HEYBROEK e McDONALD, 1970). É possível que esses mecanismos de resistência estejam também presentes em espécies de eucalipto resistentes ao fungo Diaporthe cubensis, o que sugere a necessidade de maiores pesquisas a respeito.

5.5. Estudo do cancro em talhão comercial de Eucalyptus urophylla

5.5.1. Características gerais das parcelas representativas do talhão

Em termos gerais, o desenvolvimento das plantas de E. urophylla foi relativamente bom, quando comparado com o de outros plantios da espécie, na idade de 4 anos. A causa da morte das plantas adultas (15,20%) não foi determinado, visto que se encontravam em adiantado estado de decomposição. Como a incidência do fungo foi observada na maioria dessas plantas, supõe-se que morreram em consequência do cancro (Tabela 7). Verificou-se, também, o ataque de cupins em plantas afetadas pelo Diaporthe cubensis. Como na literatura florestal são inúmeros os relatos de penetração de fungos através de ferimentos provocados no hospedeiro por insetos (KESSLER, 1971) e associação de insetos com fungos (CARTER, 1962), sugerem-se estudos sobre uma eventual relação entre o ataque de cupins e (ou) outros insetos com a incidência do fungo D. cubensis.

A incidência de cancro no plantio de E. urophylla foi elevada, com cerca de 53,85% das plantas vivas apresentando cancras típicos (níveis

2 e 3). Valores bastante próximos foram obtidos por HODGES e REIS (1974) em plantios de E. saligna com 6 anos de idade. Outros trabalhos citam talhões de eucalipto com 20% das árvores afetadas, e alguns plantios com 2 anos de idade, um valor de 40% das árvores com cancrios (HODGES, REIS e MAY, 1973).

5.5.2. Distribuição das plantas de E. urophylla na população, quanto aos padrões fenotípicos e classes de cancro

O estudo da população, através da análise da casca e folhas das árvores, evidenciou a presença de três tipos fenotípicos distintos. A variação botânica das plantas do talhão comercial de E. urophylla foi resultante da alta potencialidade de cruzamentos entre as espécies do gênero (PRYOR, 1971). Os híbridos constatados nos talhões, são resultados dos cruzamentos havidos desde a coleta de sementes das matrizes de Rio Claro, até o estabelecimento do plantio em Linhares. Convém salientar que a análise das progênes de E. urophylla (de Rio Claro), obtidas através de autofecundação e polinização aberta, leva a crer que as sementes de E. urophylla, introduzidas por Navarro de Andrade, não eram geneticamente puras, mas, resultado da polinização com E. alba (GUIMARÃES e KERR, 1961; PASTZOR, 1975; FERREIRA, M. 1975, comunicação pessoal). Essa variação já foi observada em plantas de E. urophylla, E. saligna e E. grandis em Itupeva e Mogi Guaçu (SP), instalados a partir de sementes obtidas igualmente em Rio Claro (FREITAS, FERREIRA e BORGES, 1972).

Em termos gerais, as árvores não típicas de E. urophylla (Figura 1C) constituíram a maioria da população (45,32%), seguindo-se as comerciais (Figura 1B) (39,51%) e as típicas de E. urophylla (Figura 1A) em menor número (15,17%). Essa tendência de concentração maior de indivíduos nas classes não típica e comercial, parece ser uma característica comum em plantios comerciais de eucalipto (FREITAS, FERREIRA e BORGES, 1972).

Isso é compreensível, considerando a já citada polinização abundante e eficiente entre as várias espécies e híbridos de eucalipto.

Em resposta à grande variabilidade botânica, consequência da utilização de sementes colhidas de plantas selecionadas, mas sem o devido controle da polinização, observaram-se diferentes reações ao fungo Diaporthe cubensis através de inoculações naturais. Assim no padrão fenotípico compreendido pelas plantas típicas de E. urophylla constatou-se um maior número de indivíduos (83,57%) nas classes de cancro 0 e 1. Ao contrário, dentro do padrão não típico de E. urophylla um maior número de indivíduos (67,43%) concentrou-se nas classes de cancro 2 e 3. Esses dados, comprovados pela análise estatística demonstram uma clara associação entre a tipicidade da espécie e resistência ao fungo, ou seja, as plantas típicas de E. urophylla comportaram-se como resistentes e as não típicas como suscetíveis (Tabela 8).

Essa metodologia de seleção, através do emprego do padrão casca, apresenta vantagens, quer seja aplicada à Dendropatologia, como em outros trabalhos de Melhoramento. Desde que familiarizado com o padrão das espécies, o método de seleção é bastante rápido e eficiente, justificando plenamente a sua utilização.

5.5.3. Caracterização botânica das plantas em laboratório

A caracterização botânica das plantas em laboratório, através da análise dos botões florais, frutos e folhas, utilizada comumente em Silvicultura (PENFOLD e HILLIS, 1961; BLAKELY, 1955) levou a resultados próximos aos obtidos pela análise da casca. Apesar do pequeno número de árvores com frutificação, obteve-se igualmente uma relação entre a tipicidade das plantas com a resistência a Diaporthe cubensis. Um maior número de plantas classificadas como típicas de E. urophylla (64,70%) estavam agrupa

das nas classes de cancro 0 e 1, sendo que na categoria das não típicas a maioria dos indivíduos (67,75%) estava compreendida nas classes de cancro 2 e 3 (Tabela 9).

Os resultados indicam que tanto a análise da casca, como o exame dos botões florais e outros, podem ser considerados na caracterização botânica da população, embora, sempre que possível, devam ser utilizados conjuntamente. Entretanto, existem diferenças, principalmente de natureza prática, que necessitam ser levadas em conta. A obtenção de botões florais e frutos de árvores adultas é bastante difícil, sendo possível somente com o auxílio de pessoal treinado para a coleta de sementes. O rendimento dessa operação é baixo, resultando na coleta de poucas plantas por jornada de trabalho, sem considerar os riscos a que estão sujeitos o operador, desde que não sejam tomadas as medidas de segurança necessárias.

As diferentes épocas de florescimento e frutificação das espécies e híbridos de eucaliptos (PRYOR, 1971) podem constituir-se também, em fator limitante para a utilização desse material, pelo fato de que somente um levantamento não é suficiente para o estudo botânico de toda a população.

O levantamento das espécies de eucalipto que constituíam o padrão não típico de E. urophylla, levou a resultados bastante interessantes, apesar do pequeno número de plantas. Dentre as espécies presentes, a mais frequente foi E. grandis (51,62%), compreendida principalmente nas classes de cancro 2 e 3 (Tabela 10). Esses resultados confirmam os dados da literatura (HODGES e REIS, 1973) e do presente trabalho, salientando a suscetibilidade dessa espécie ao fungo Diaporthe cubensis. Foi também observado no padrão não típico de E. urophylla, a presença de indivíduos em pequena porcentagem (16,05% - Tabela 8), bastante próximos a E. tereticornis (Figura 9C), caracterizados pela ausência de sintomas de cancro.

O plantio de sementes híbridas de espécies resistentes (E. urophylla, E. tereticornis) e suscetíveis (E. saligna, E. grandis) poderão fornecer maiores subsídios para os dados obtidos no trabalho. Esse material está sendo sintetizado pelo Departamento de Silvicultura da ESALQ (PRODUÇ., 1975), sendo que futuramente poderá ser utilizado nos trabalhos de resistência a D. cubensis.

5.5.4. Distribuição das plantas de E. urophylla com relação à altura, diâmetro médio e retidão do tronco

Os resultados do levantamento demonstraram que as plantas típicas de E. urophylla apresentaram bom desenvolvimento, sem considerar a incidência de cancro, indicando a boa adaptação da espécie para as condições de Linhares. Os dados de crescimento e sobrevivência de outros plantios de E. urophylla (sementes do pomar da Champion Celulose e Papel S.A. - Mogi Guaçu) reforçam essas observações, sendo a espécie considerada de relevante importância para a região (FERREIRA, 1974).

Somente dentro do padrão não típico de E. urophylla as árvores com níveis de cancro 1, 2 e 3 (com características de E. grandis e E. saligna) apresentaram diâmetro e altura significativamente maiores do que as árvores com cancro 0 (com características de E. tereticornis) (Tabela 11).

A presença de indivíduos vigorosos, embora suscetíveis ao fungo, parece ser resultante de hibridações entre diferentes espécies de eucaliptos. Os resultados demonstraram que até a idade de 4 anos, a incidência de cancro não afetou o crescimento desses híbridos. Em Juniperus virginiana foi verificada da mesma forma, que as plantas afetadas por P. juniperovora apresentaram taxas de crescimento iguais às das plantas saudáveis (PETERSON, 1965). O Diaporthe cubensis pode causar prejuízos signifi-

ficativos na fase inicial de crescimento, em plantas com até 12 meses de idade (HODGES, REIS e MAY, 1973). Nos tocos afetados pelo cancro observa-se uma significativa redução na porcentagem de rebrota, sendo necessário o replantio da área em alguns casos (HODGES e REIS, 1974). Com relação à retidão do tronco, a análise de campo não detectou influência negativa do cancro sobre a retidão do tronco, ou seja, não houve variação das notas atribuídas às árvores com níveis de cancro 0, 1, 2 e 3 nos três padrões fenotípicos.

5.5.5. Inoculações artificiais

As inoculações das árvores com cancro 0 (Figuras 6A, 6B) e 1 nos vários padrões fenotípicos, resultaram em lesões menores do que aquelas verificadas nos indivíduos com cancro 2 (Figura 7A) e 3 (Figura 7B, 7C). Concluindo, os resultados das inoculações artificiais, comprovaram a resistência de campo observada para as plantas típicas de E. urophylla e a suscetibilidade das plantas não típicas da espécie (Tabela 12).

Essa resistência do E. urophylla tem sido citada por alguns autores (HODGES e REIS, 1973; MAY, 1973), através de inspeções realizadas nas áreas de ocorrência da doença. Tornou-se necessária, entretanto, a comprovação dessa resistência, por meio de inoculações artificiais, tendo em vista os exemplos de plantas escape citados com certa frequência na literatura.

Dentro do padrão não típico de E. urophylla, considerando ainda o que foi discutido no item 5.5.2. foi comprovada a suscetibilidade das plantas pelas inoculações artificiais.

Interessante notar a variação constatada no padrão não típico de E. urophylla, caracterizada pela presença de indivíduos bastante de-

desenvolvidos apresentando cancrios típicos, e indivíduos menos desenvolvidos sem sintomas de cancro. Pela análise botânica da população determinou-se que a primeira categoria de indivíduos era constituída por plantas com características de E. grandis e E. saligna, espécies suscetíveis ao fungo, enquanto que a segunda compreendia plantas com características de E. tereticornis (Tabelas 8 e 10, Figura 8C). A resistência de E. tereticornis tem sido verificada em talhões da espécie, nos locais de incidência da doença (MAY, 1973).

Como método de inoculação, optou-se pelos cilindros de casca recobertos com micélio e corpos de frutificação de D. cubensis, pelos eficientes resultados apresentados nos ensaios de inoculação em três espécies de eucalipto (Tabela 6), recomendando sua utilização nos trabalhos rotineiros de seleção de fontes de resistência a patógenos que causam cancrios.

A realização do estudo no plantio comercial de E. urophylla teve como um dos objetivos principais, a seleção de árvores superiores e resistentes ao cancro, visando a instalação de uma área de produção de sementes. Essa área de produção de sementes será implantada eliminando-se as árvores inferiores e suscetíveis ao fungo, através de um programa de desbastes sucessivos. Apesar dos resultados de desbastes rigorosos, conduzidos em plantios de E. grandis, permitirem a aplicação de uma intensidade de desbaste em torno de 80% (INST., 1974), optou-se pela derrubada das árvores inferiores em duas etapas. A condução adequada dessas áreas possibilitará o fornecimento de sementes melhoradas, quanto à resistência ao cancro, padrões fenotípicos e crescimento, obtidas de plantas de E. urophylla adaptadas às condições ecológicas locais. Entretanto, deverão ser conduzidos testes de progênies das árvores superiores selecionadas na área, de acordo com o esquema geral dos ensaios de progênies em essências florestais (GODDARD, 1965). Somente através desses testes, pode-se determinar o valor genético das sementes e a herdabilidade da resistência ao cancro (TOOLE, 1966; JEWELL, 1963, 1966).

5.6. Estudo do cancro em ensaio de introdução de espécies e procedências de eucalipto

Os programas florestais originalmente baseados em espécies utilizadas na região sul do país, objetivando atender às necessidades básicas dos empreendimentos, esbarraram em problemas de inadaptação de determinadas espécies, ocorrência de doenças, etc. indicando a necessidade de pesquisas com espécies tropicais. Nos últimos anos, numerosas espécies e procedências de eucalipto de origem tropical, foram introduzidas pelas companhias no Espírito Santo, através do Convênio firmado com o IPEF e Departamento de Silvicultura da ESALQ-USP (FERREIRA, 1974).

Como no Espírito Santo os reflorestamentos são implantados entre as latitudes de 18°00' a 19°50', com um clima predominantemente tropical, espera-se que as espécies de eucalipto mais aptas ecologicamente devam proceder de regiões de latitudes próximas. Realmente, pelos resultados apresentados nas Tabelas 2 e 16, observa-se que as espécies promissoras, com exceção de E. tereticornis, ocorrem naturalmente em regiões de latitude sul que variam de 8°20' até 23°55' na Austrália, Timor e Nova Guiné. As condições climáticas e edáficas dessas regiões de ocorrência natural de espécies tropicais de eucalipto, apresentam inúmeras características comuns com as condições do Espírito Santo, propiciando um ótimo crescimento para as plantas e ausência de sintomas de cancro.

As espécies promissoras com restrição ocorrem na Austrália, em latitudes de 25°00' a 32°00', sendo caracterizadas por um clima temperado a sub-tropical moderado, com temperaturas médias anuais entre 16 e 21°C, chuvas de verão com distribuição regular e solos relativamente profundos. As diferenças climáticas e edáficas entre as regiões do Espírito Santo e as zonas de ocorrência natural das espécies promissoras com restrições, são consideradas como responsáveis pela predisposição ao ataque do fungo Dia-porthe cubensis, embora essas espécies e procedências apresentem bom crescimento nas áreas experimentais e plantios comerciais.

As espécies inadequadas ocorrem na Austrália, em latitudes acima de 31°00' até 37°00', com exceção de E. nesophylla e E. phaeotricha, não apresentam condição de desenvolvimento devido às significativas diferenças ecológicas da região de introdução no Espírito Santo. Essas espécies e procedências apresentam reduzida taxa de crescimento, baixa porcentagem de sobrevivência e alta incidência de cancro no tronco.

Esses resultados recomendam que sejam intensificados os testes de introdução de espécies e procedências de latitudes inferiores a 23°00' - 26°00', considerando ainda, segundo FERREIRA (INSET., 1973) que as procedências de E. grandis de Atherton (lat. 17°08', long. 145 m, alt. 840 m) tem se destacado das procedências de Kempsey (lat. 31°04', long. 152 m) Coffs-Harbour (lat. 30°, long. 152°) e Kyogle (lat. 28°37', long. 153°, alt. 152 m) por apresentar início de frutificação e razoável resistência ao cancro.

6. CONCLUSÕES

a. O cancro do eucalipto no Brasil é causado pelo fungo Dia-
porthe cubensis Bruner.

b. As melhores condições para a esporulação de D. cubensis compreendem o meio de BDA e luz contínua. Para o crescimento micelial do fungo a faixa de temperatura ideal situa-se entre 28-30°C.

c. A inoculação com cilindros de casca recobertos com D. cu-
bensis foi o método mais eficiente dos três utilizados no ensaio, no qual E. decaisneana comportou-se como resistente e E. saligna e E. grandis como suscetíveis.

d. Existe uma relação de dependência entre tipicidade da planta e resistência de campo, comprovada através de inoculações artifi -
ciais.

e. Para as condições do experimento, a caracterização botâni -
ca das plantas pode ser realizada tanto pela análise da casca (em condi -
ções de campo), como pelo exame de botões florais e frutos (em condições
de laboratório).

f. Das 40 espécies/procedências de eucalipto, E. camaldulen -
sis, E. cloeziana, E. tereticornis, E. torelliana e E. urophylla comporta -
ram-se como resistentes, verificando-se uma relação entre a origem geográ -
fica da semente com a incidência de D. cubensis, sendo verificado que as
espécies procedentes de latitudes maiores foram as mais suscetíveis.

7. RESUMO

No presente trabalho, foram conduzidos estudos sobre a identificação e fisiologia do agente casual do cancro e resistência em Eucalyptus spp. O fungo identificado inicialmente como Endothia havanensis Bruner, teve, através de estudos micológicos, sua posição taxonômica alterada para Diaporthe cubensis Bruner. Diaporthe cubensis caracteriza-se por apresentar peritécios imersos em estroma pouco desenvolvido, com longos rostros que atravessam a casca, ascos e ascosporos medindo $29,96 \times 5,13$ u e $6,85 \times 2,30$ u, respectivamente, e ascosporos bicelulares sem constrições no septo. Dos meios de cultura e regimes de luz utilizados no ensaio de esporulação, o BDA e iluminação fluorescente contínua foram as melhores condições para a indução de picnídios do fungo. O isolado foi induzido a esporular mais intensamente, quando o micélio desenvolvido inicialmente no escuro era mantido sob regime de luz contínua. A melhor faixa de temperatura para o crescimento vegetativo de cinco isolados do fungo situa-se entre $28-30^{\circ}\text{C}$. O crescimento é paralizado a 14°C e o patógeno perde a viabilidade a 36°C , sendo que ocorrem modificações no aspecto das culturas com a variação da temperatura.

Em condições de campo, foi avaliada a resistência de três espécies de eucalipto, através de três métodos de inoculação de Diaporthe cubensis. Dentre os métodos de inoculação, o de cilindro de casca recoberto com o fungo foi o mais eficiente. Os resultados das inoculações indicaram que Eucalyptus decaisneana comportou-se como resistente e E. saligna e E. grandis como suscetíveis.

Em um talhão comercial de E. urophylla, localizado no município de Linhares (E.S.), foi conduzido um levantamento, considerando os padrões fenotípicos e crescimento das árvores, níveis de cancro e número de falhas e plantas mortas. Os resultados indicaram que as árvores não típicas de E. urophylla constituíram a maioria da população (45,32%), seguindo as comerciais (39,51%) e finalmente, em menor número, as típicas de E. urophylla (15,17%). Foi verificada uma associação entre a tipicidade da espécie e resistência natural ao fungo, ou seja, as plantas típicas de E. urophylla comportaram-se como resistentes e as não típicas como suscetíveis. Através de inoculações artificiais de D. cubensis comprovou-se a resistência de campo observada para as plantas típicas e a suscetibilidade das plantas não típicas. Em dois ensaios de introdução de espécies e procedências de eucalipto foi conduzido um estudo visando verificar a potencialidade dos materiais, principalmente com respeito à resistência ao cancro e crescimento. Das 40 espécies/procedências de eucalipto, E. camaldulensis, E. cloeziana, E. tereticornis, E. torelliana e E. urophylla comportaram-se como resistentes, sendo verificado que as espécies procedentes de latitudes maiores foram as mais suscetíveis.

8. SUMMARY

The objectives of this work were to identify and study the physiology of the causal agent of the canker and its resistance in Eucalyptus spp. The fungus initially identified as Endothia havanensis Bruner, which had its taxonomic position changed to Diaporthe cubensis Bruner, through mycological studies. Diaporthe cubensis is characterized by having a somewhat developed stroma with long rostra that cross the bark, ascus and ascospores measuring 29.96×5.13 u and 6.85×2.30 u, respectively, and bicellular ascospores without constriction in the septum.

The PDA culture medium and the continuous fluorescent light regime were the best conditions for the induction of the formation of the fungus pycnidium. The isolate was induced to intensely sporulate when the mycelium was initially developed in the darkness and then kept under continuous light regime. The best temperature range for the vegetative growth of five fungus isolate is 28-30°C. The growth is halted at 14°C and the pathogen loses its viability at 36°C when modifications occur in the cultural aspects with the temperature variation.

The resistance to the fungus of three eucalypt species was evaluated under the field conditions using three methods of Diaporthe cubensis inoculation. Among the inoculation methods, that one which had a cylinder of the bark well covered with the fungus was the most efficient. Indications from the inoculation are that Eucalyptus decaisneana behaved as a resistance species while E. saligna and E. grandis as susceptible species.

In a commercial plantation of E. urophylla in Linhares country (E.E.), a survey was made considering the phenotypical standards and the growth of trees, levels of canker infestation and numbers of failure and dead trees. Indications from the results are that non typical trees of E. urophylla constitutes the majority of the population (45.32%), followed by the (comerciais) trees (39.51%) and typical E. urophylla trees (15.17%); and it was observed an association between the typicality of the specie and natural resistance to the fungus. The use of artificial inoculations of D. cubensis proved the field resistance observed in the typical trees and the susceptibility of the non typical trees of E. urophylla. In two tests of eucalypt species introduction and provenances, a study was made to verify the potenciality of the genetical material, mainly concerning the resistance to the canker and the growth of the trees. From 40 eucalypt species and provenances, E. camaldulensis, E. cloeziana, E. tereticornis, E. torelliana and E. urophylla behaved as resistant species, and that species coming from larger latitudes were the most susceptible.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, E.N. DE - O Eucalipto. 2ª ed. Jundiaí, Companhia Paulista de Estradas de Ferro, 1961. 667 p.
- ARNOLD, R.H. - A canker and foliage disease of yellow birch: 1 - Description of the causal fungus, Diaporthe alleghaniensis sp. nov., and the symptoms on the host. Canadian journal of botany, Ottawa, 45 (6):783-801, june, 1967.
- ARNOLD, R.H. - A canker and foliage disease of yellow birch: 2 - Artificial studies with Diaporthe alleghaniensis. Canadian journal of botany, Ottawa, 48(9):1525-40, set. 1970.
- BEAN, G.A. & WILCOXSON, R.D. - Helminthosporium leaf-spot of bluegrass. Phytopathology, Saint Paul, 54(9):1065-71, set. 1964.
- BERUTTI, P.A. - O reflorestamento e a pesquisa florestal do IBDF. Brasil florestal, Rio de Janeiro, 5(19):3-13, jul/set. 1974.
- BINGHAM, R.T.; HOFF, R.J. & Mc DONALD, G.I. - Disease resistance in forest trees. Annual review of phytopathology, Palo Alto 9:433-52, 1971.
- BLAKELY, W.F. - A key of Eucalyptus. Canberra, Forestry and Timber Bureau, 1955.
- BOERBOOM, J.H.A. & MAAS, P.W.J. - Canker of Eucalyptus grandis and E. saligna in Surinam caused by Endothia havanensis. Turrialba, Turrialba, 20(1):94-9, jan/mar. 1970.

- BOYCE, J.S. - Observations on forest pathology in Great Britain and Denmark. Phytopathology, Saint Paul, 17(1):1-18, jan. 1927.
- BOYCE, J.S. - A canker of douglas-fir associated with Phomopsis lokoyae. Journal of forestry, Washington, 31(6):664-72, jun. 1933.
- BOYCE, J.S. - Forest pathology. New York, McGraw Hill, 1938. 600 p.
- BRUNER, S.C. - A new species of Endothia. Mycologia, Bronx, 8(5):239-42, set. 1916.
- BRUNER, S.C. - Una enfermedad gangrenosa de los eucaliptos. Santiago de Las Vegas, Estacion Experimental Agronomica, 1917. 33 p. (Boletin, 37).
- CANKER of Eucalyptus grandis e E. saligna. Celos bulletins, Suriname (5), 1968. In: Forestry Abstracts, Oxford, 31(1):909, 1970.
- CAROSELLI, N.E. & FELDMAN, A.W. - Dutch elm diseases in young elm seedlings. Phytopathology, Saint Paul, 41(1):46-51, jan. 1951.
- CARTER, W. - Insects in relation to plant diseases, New York, Interscience Publishers, 1962. 705 p.
- COMMONWEALTH OF AUSTRALIA. Bureau of meteorology - climate averages Australia. Melbourne, 1956. 107 p.
- COSTA, A.S. - Escolha de nomes para moléstias de plantas. Summa phytopathologica, Piracicaba, 1(2):125-31. mai/jun., 1975.
- DAVIS, W.C. & LATHAM, D.H. - Cedar blight on wilding and forest tree nursery stock. Phytopathology, Saint Paul, 29(11):991-2, nov. 1939.
- ELGERSMA, D.M. - Length and diameter of xylem vessels as factor in resistance to elm to Ceratocystis ulmi. Netherlands journal of plant pathology, Wageningen, 76(5):179-82, 1970.
- FERREIRA, M. - Relatório de visita e dos trabalhos de melhoramento que vem sendo conduzidos na Rio Doce Madeiras-DOCEMADE. Piracicaba, IPEF, 1974. 55 p.
- FREITAS, E.R., FERREIRA, M. & BORGES, C.P. - Estudos das variações botânicas em povoamentos de Eucalyptus alba Reinw, Eucalyptus saligna Smith, E. grandis Hill ex. Maiden e E. propinqua Deane and Maiden. IPEF, Piracicaba, (4):117-34, 1972.
- FRIEND, R.J. & BOONE, D.M. - Diaporthe vaccinii associated with dieback of cranberry in Wisconsin. Plant disease reporter, Washington, 52 (5): 341-3, mai. 1968.

- FUNK, A. - Diaporthe lokoyae n. sp., the perfect stage of Phomopsis loko - yae. Canadian journal of botany, Ottawa, 45(5):601-3, mai. 1968.
- GALVÃO, A.P.M. et alii - Dendrometria e inventário florestal. Piracicaba, ESALQ-USP, 1968. 117 p.
- GODDARD, R.E. - Manual of progeny test procedures. Gainesville, University of Florida Cooperative Forest Genetics, 1965. 15 p.
- GOMES, F.P. - Curso de estatística experimental. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1970. 430 p.
- GUIMARÃES, R.F. & KERR, W. - Híbridaçãõ e autofecundaçãõ artificial em eucaliptos. In: CONFERÊNCIA MUNDIAL DO EUCALIPTO, 2ª , São Paulo, 1961 - Relatório e Documentos. V.1, p. 362-3.
- HALL, N.; JOHNSTON, R.D. & CHIPPENDALE, G.M. - Forest trees of Australia. Canberra, Australian Government Publishing Service, 1970. 334 p.
- HANN, G.G. - Phomopsis juniperovora, a new species causing blight of nursery cedars. Phytopathology, Saint Paul, 10(4):249-53, abr. 1920.
- HANN, G.G. - Phomopsis juniperovora and closely related strains on conifers. Phytopathology, Saint Paul, 16(11):899-914, dez., 1926.
- HANN, G.G. - An undescribed Phomopsis from douglas-fir on the Pacific Coast. Mycologia, Bronx, 25(5):369-75, set/out. 1933.
- HANN, G.G. - Taxonomy, distribution, and pathology of Phomopsis occulta, and P. juniperovora. Mycologia, Bronx, 35(1):112-29, jan/fev. 1943.
- HANN, G.G. & HARTLEY, C. - A nursery blight of cedars. Journal agricultural research, Washington, 10(10):533-9, set. 1917.
- HARADA, Y. et alii - Effect of blight and temperature on picnidial and piconspore formation in Phomopsis mali. Bulletin. Faculty of Agriculture, Hirasaki, 18:140-51, 1972. In: Review of applied mycology, Surrey, 52:202, 1973.
- HARE, R.C. - Physiology of resistance to fungal diseases in plants. Botanical review, New Haven, 32(2):95-137, abr/jun. 1966.
- HARTER, L.L. - Podblight of Lima been caused by Diaporthe phaseolorum. Journal agricultural research, 11(5):473-504. 1917.
- HEPTING, G.H. - Disease of forest and shade trees of the United States Washington, USDA, Forest Service, 1971. 658 p. (Agriculture handbook, 386).

- HODGES, C.S. & REIS, M.S. Influência do cancro do eucalipto sobre a rebrota de tocos. Congresso da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 7, Brasília, 3-8 fev. 1974.
- HODGES, C.S. & REIS, M.S. Identificação do fungo causador do cancro de Eucalyptus spp no Brasil. Brasil florestal, Rio de Janeiro, 5 (19): 14, jul./set. 1974.
- HODGES, C.S.; REIS, M.S. & MAY, L. C. - Duas enfermidades em plantações de essências florestais exóticas no Brasil. Brasil florestal, Rio de Janeiro, 4(15):5-12, jul./set. 1973.
- HUBBES, M. - Inhibition of Hypoxylon pruinautum by pyrocatechol isolated from bark of aspen. Science, Washington, 136(3511):156, abr. 1962.
- INSTITUTO DE Pesquisas e Estudos Florestais. Relatório de visita a Rio Doce Madeiras S.A. Piracicaba, 1973. 21 p. (mimeografado).
- INSTITUTO de Pesquisas e Estudos Florestais. Aspectos gerais do programa de pesquisa em desenvolvimento. Piracicaba, 1974. 54 p. (mimeografado).
- JEWELL, F.F. - Disease and insect resistance research in Southern United States. BREEDING PEST-RESISTANCE TREES - N.S.F. SYMPOSIUM, 1964 - Proceedings, 1966. p. 59-62.
- JEWELL, F.F. - How can genetic control of diseases aid the forest manager. SOUTHERN CONFERENCE ON FOREST TREES IMPROVEMENT, 7, 1973 - Proceedings. p. 25-6.
- KAMENSKY, S.A. & ERDEMANN, G.G. - Diaporthe outbreak in yellow birch. Plant disease reporter, Washington, 57(3):230-3, mar. 1973.
- KESSLER, K.J. - Stem abnormalities of yellow birch seedlings in Michigan and Wisconsin. Plant disease reporter, Washington, 55(9):788-90. set. 1971.
- KESSLER, K.J. - A survey of diseases affecting yellow birch seedlings. Plant disease reporter, Washington, 54(1):16-8, jan. 1970.
- KIRALY, Z. et alii - Methods in plant pathology. Amsterdam, Elsevier Scientific Publishing Company, 1974. 509 p.
- KOBAYASHI, J. & ITO, K. - Notes on the genus Endothia collected in Japan. Bulletin. Government Forest Experiment Station, Tokyo, (92):81-98, 1956.

- KRUGNER, T.L.; CANEVA, R.A. & CARDOSO, C.O.N. - Nota sobre a ocorrência do cancro do tronco em eucalipto. IPEF, Piracicaba, (6):61-3, 1973.
- KUHLMAN, E.G. & HENDRIX, F.F. - A selective medium for the isolation of Fomes annosus. Phytopathology, Saint Paul, 52(12):1310-2, dez. 1962.
- KUHLMAN, E.G. - Recovery of Fomes annosus spores from soil. Phytopathology, Saint Paul, 56(8):866, ago. 1966.
- LEACH, C.M. - The quantitative and qualitative relationship of ultravioleta and visible radiation to the induction of reproduction in Ascochyta pisi. Canadian journal of botany, Ottawa, 40(12):1577-602, dez. 1962.
- LEACH, C.M. - A practical guide to the effects to visible and ultraviolet light on fungi. In: NORRIS, J.R. & RIBBONS, D.W., eds. Methods in Microbiology, New York, Academic Press, 1971. v. 4, cap. 23. p. 609-63.
- LILLY, V.G. & BARNETT, H.L. - Physiology of fungi. New York, McGraw-Hill, 1951. 464 p.
- LUKENS, R.J. - Conidial production from filter paper cultures of Helminthosporium vagens and Alternaria solani. Phytopathology, Saint Paul, 50(11):867-8, nov. 1960.
- MACKAY, E. - Dasometria. Madri, Escola Nacional de Ingenieros de Montes, 1964. 759 p.
- Mc DONALD, W.C. & MARTENS, J.W. - Leaf and stem spot of sunflower caused by Alternaria zinniae. Phytopathology, Saint Paul, 53(1):93-6, jan. 1963.
- Mc NABB, H.S.; HEYBROECK, H.M. & Mc DONALD, W.L. - Anatomical factors in resistance to dutch elm disease. Netherlands journal of plant pathology, Wageningen. 76(5):196-204, 1970.
- Mc NEW, G.L. - The nature, origin and evolution of parasitism. In: HORSFALL, J.G. & DIMOND, A.F. Plant pathology. Academic Press, New York, 1960. V. 2, p. 20-66.

- MARTIN, B. & COSSALTER, C. - Les Eucalyptus des Iles de la Sonde. Bois et forets des tropiques, Paris, (163):3-25, set/out., 1975.
- MAY, L.C. - A gomose do eucalipto no Brasil. São Paulo, Instituto Florestal, 1973. 10 p. (Publicação IF, 2).
- METCALF, H. - Observations in douglas-fir canker (Phomopsis pseudotsugae Wilson) in Great Britain. Phytopathology, Saint Paul, 14(1): 52, jan., 1954.
- NAWAWI, B.H.A. & SWINBURNE, J.R. - Observations on the infections and rooting of apples seedlings by Diaporthe perniciosa. Annals of applied biology, Ne York, 66(2):245-55, out., 1970.
- NIENSTAEDT, H. - Tannin as a factor in the resistance of chestnut blight fungus, Endothia parasitica (Murr.). Phytopathology, Saint Paul, 43(1):32-8, jan. 1953.
- OHMORI, K. - Effect of light on pycnospore formation of Diaporthe citri. Annals of phytopathology society of Japan, Saitama, 39(2):127-9, 1973. In: Review of plant pathology, Survey, 52(12):4077.
- PÁSTZOR, Y.P. de C. - Estudo comparativo do comportamento das espécies Eucalyptus alba Beinv. e E. decaisneana Blune, na região de São Paulo. IPEF, Piracicaba, (11):1-16, 1975.
- PENFOLD, A.R. & WILLIS, J.L. The Eucalyptus. New York, Interscience Publishers, 1961. 551 p.
- PERO, R.W. & HOWARD, F.L. - Activity of juniper diffusates on spores of Phomopsis juniperovora. Phytopathology, Saint Paul, 60(3):491-5, mar. 1970.
- PETERSON, G.W. - Field survival and growth of Phomopsis blighted and non-blighted eastern redcedar planting stock. Plant disease reporter. Washington, 49(2):121-3, fev. 1965.
- PETERSON, G.W. - Injection of Juniperus virginiana and J. scopulorum by Phomopsis juniperovora. Phytopathology, Saint Paul, 63(2):246-51, fev. 1973.
- PRODUÇÃO DE híbridos de Eucalyptus spp através de polinização controlada. Circular Técnica. Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais, Piracicaba (9):1-4, 1975.
- PRYOR, L.D. - Aspectos da cultura do eucalipto no Brasil. IPEF, Piracicaba, (2/3):53-9, 1971.

- REIS, E.M. - Efeito da concentração de inóculo de Colletotrichum dematium f. truncata (Schw) von Arx na reação de variedades de soja Glycine max (L.) Merr. Piracicaba, ESALQ-USP, 1973. 48 p. (Dissertação - mestrado).
- RICHMOND, B.G. - A Diaporthe canker of american elm. Science, Washington, 75(1934):110, jan. 1932.
- RIDGWAY, R. - Color standards and nomenclature. 1912. 42 p.
- RIZZINI, C.J. - Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira. São Paulo, EDUSP, 1971. 295 p.
- SÃO PAULO (Estado). INSTITUTO FLORESTAL - Programação plurianual de re-florestamento de São Paulo. São Paulo, 1974. 20 p.
- SMOOT, J.J. - Effect of light of growth and sporulation of stem and rot fungi. Phytopathology, Saint Paul, 52(1):28, jan. 1962.
- SPAULDING, F. - Foreign diseases of forest trees of the world. Washington, USDA, Forest Service, 1961, 361 p. (Agriculture handbook, 197)
- SPURR, S.H. - Forestry inventory. New York, Ronald Press, 1952. 476 p.
- TAYLOR, J.B. - A selective medium for the isolation of basidiomycetes from diseased roots, mycorrhizae and soil. Transactions british mycological society, 56(2):313-4. 1971.
- TIMNICK, M.B.; LILLY, V.G. & BARNETT, H.L. - Factors affecting sporulation of Diaporthe phaseolorum var. batatatis from soybean. Phytopathology, Saint Paul, 41(4):327-36, 1951.
- TOMAZELLO Fº, M. - Estudo do cancro do eucalipto. Programa de pesquisa em desenvolvimento. Boletim informativo do IPEF, Piracicaba, 2(6): 1-7, mai, 1974a.
- TOMAZELLO Fº, M. - O problema do cancro do eucalipto e outras doenças. Boletim informativo do IPEF. Piracicaba 2(8):3-11, dez. 1974b.
- TSAO, P.H. - Selective media for isolation of pathogenic fungi. Annual Review of phytopathology, Palo Alto, 8:157-86, 1970.
- TUITE, J. - Plant pathological methods: fungi and bacteria. Minneapolis, Burgess, 1969. 239 p.
- VAARTAJA, O. - Chemical treatment of seedbeds to control nursery diseases. Botanical review, 30:1-91, 1964.

- VAARTAJA, O. - Reinfestation of sterilized nursery seedbeds by fungi. Canadian journal microbiology, 13(3):771-6, 1967.
- WESTHUIZEN, G.C.A. - Cytospora eucalypticola on Eucalyptus saligna from Northern Transvaal. South african journal, Johannesburg, 54(1):8-11, 1965.
- WILCOX, M.S. - Phomopsis twig blight of blueberry. Phytopathology, Saint Paul, 29(1):136-42, jan. 1939.
- WILCOX, M.S. - Diaporthe vaccinii, the ascigerous stage of Phomopsis causing a twig blight of blueberry. Phytopathology, Saint Paul, 30(5):441-3, mai. 1940.
- WILSON, M. & HANN, G.G. - The history and distribution of Phomopsis pseudotsugae in Europe. Phytopathology, Saint Paul, 19(11):979-92, nov. 1929.
- YAMADA, S. & YAMAMOTO, S. - Studies on the epidemiology of Citrus melanose and stem end rot caused by Diaporthe citri. Bulletin. Horticulture Station Tokai-Kiuki, 6:108-16. 1962. In: Review of applied mycology, Surrey, 42:262-3, 1963.

10. APÊNDICE

APÊNDICE 1 - Dados experimentais do ensaio de meios de cultura e regime de luz na esporulação de Diaporthe cubensis

- NÚMERO DE PICNÍDIOS DE DIAPORTHE CUBENSIS NO CENTRO DAS COLÔNIAS -

Meio de cultura	Condições de luz	1ª R	2ª R	3ª R
Aveia	EC	0,69*	0,77	1,15
	LA	57,25	48,50	61,75
	LC	114,50	109,00	110,00
Aveia + P.F.	EC	0,80	1,15	0,69
	LA	42,50	39,00	31,50
	LC	61,60	93,00	102,00
BDA	EC	0,17	0,00	0,23
	LA	76,25	62,75	81,25
	LC	183,00	167,00	131,50
Casca	EC	0,00	0,00	0,00
	LA	7,75	6,75	9,25
	LC	56,25	70,50	72,75
Casca + D	EC	0,00	0,00	0,00
	LA	6,00	7,50	7,50
	LC	70,25	73,25	53,75
V-8	EC	0,63	0,86	1,15
	LA	39,25	23,25	33,00
	LC	96,00	58,50	65,75
LILLY e BARNETT	EC	0,51	0,28	0,34
	LA	16,75	11,75	7,50
	LC	45,50	36,00	40,50

* Média de 4 leituras

- ANÁLISE DA VARIÂNCIA -

Fonte de variação	G.L.	Q.M.
Tratamentos	20	5194,65 **
Meios de cultura (M.C.)	6	4048,86**
Condições de luz (C.L.)	2	39483,82**
M.C. x C.L.	12	1252,68**
Resíduo	42	96,16
Total	62	

Média geral = 39,64 picnídios

C.V. = 24,74%

Comparações de médias pelo teste de Tukey

	(1%)	(5%)
Entre médias de meios de cultura	17,16	14,32
Entre médias de condições de luz	9,33	7,36

- NÚMERO DE PICNÍDIOS DE DIAPORTHE CUBENSIS NA PERIFERIA DAS COLÔNIAS -

Meio de Cultura	Condições de luz	1ª R	2ª R	3ª R
Aveia	EC	0,46*	2,30	1,89
	LA	36,25	49,75	41,00
	LC	42,25	39,75	37,75
Aveia + P.F.	EC	2,07	1,26	1,61
	LA	47,50	35,00	28,00
	LC	33,75	37,00	32,25
BDA	EC	0,17	0,00	0,17
	LA	32,50	46,00	64,25
	LC	72,00	55,25	35,75
Casca	EC	0,00	0,00	0,00
	LA	3,00	2,00	3,25
	LC	3,50	4,75	2,50
Casca + D	EC	0,00	0,00	0,00
	LA	10,50	6,75	5,00
	LC	13,25	10,25	8,00
V-8	EC	0,80	0,75	0,80
	LA	11,50	5,75	7,00
	LC	9,50	10,00	9,50
LILLY e BARNETT	EC	0,38	0,29	0,52
	LA	27,75	30,00	29,75
	LC	25,00	18,75	10,50

* Média de 4 leituras

- ANÁLISE DA VARIÂNCIA -

Fonte de variação	g.L.	Q.M.
Tratamentos	20	1029,42**
Meios de cultura (M.C.)	6	1383,62**
Condições de luz (C.L.)	2	4023,99**
M.C. x C.L.	12	353,22**
Resíduo	42	39,04
Total	62	

Média geral = 16,62 picnídios C.V. = 36,79^d

Comparações de médias pelo teste de Tukey

	(1%)	(5%)
Entre médias de meios de cultura	10,93	9,12
Entre médias de condições de luz	5,94	4,69

- ANÁLISE CONJUNTA -

Fonte de variação	G.L.	Q.M.
Tratamentos (T)	20	5356,29**
Posição da colônia (P)	1	16681,90**
T x P	20	1587,77**
Resíduos	84	
Total	125	67,60

Média geral = 28,13 picnídios C.V. = 29,23%

APÊNDICE 2 - Dados experimentais do ensaio de temperaturas sobre o crescimento micelial de Diaporthe cubensis

- DIÂMETROS DAS COLÔNIAS DE DIAPORTHE CUBENSIS, EM MM, SOB VÁRIAS TEMPERATURAS

Isolados	Temperaturas									
	14	18	22	25	28	30	32,5	34	36	
30	I	12	41	49	65	65	65	40	-	
	II	-	11	46	45	67	64	30	-	
	III	-	12	43	45	66	58	40	-	
31	I	-	21	48	63	80	40	16	-	
	II	-	21	60	74	82	30	15	-	
	III	-	15	50	65	80	35	15	-	
32	I	-	26	62	80	88	78	45	-	
	II	-	25	58	75	88	63	35	-	
	III	-	25	60	80	87	65	31	-	
33	I	-	25	65	77	86	40	34	-	
	II	-	26	69	80	88	38	38	-	
	III	-	26	65	79	88	44	30	-	
34	I	-	13	40	52	80	40	27	-	
	II	-	13	38	54	80	50	25	-	
	III	-	15	40	55	81	50	23	-	

Média de 2 leituras

- ANÁLISE DA VARIÂNCIA -

Fonte de variação	G.L.	Q.M.
Tratamentos	34	1826,81**
Isolados (I)	4	1172,98**
Temperaturas (T)	6	8627,34**
I x T	24	235,65**
Resíduo	70	11,58
Total	104	

Média geral = 54,19 mm

C.V. = 6,28%

Comparações de médias pelo teste de Tukey

	(1%)	(5%)
Entre médias de isolados	3,84	3,10
Entre médias de temperaturas	4,87	3,99

APÊNDICE 3- Dados experimentais do ensaio de métodos de inoculação e avaliação da resistência de três espécies de eucalipto

- ÁREA DAS LESÕES EM TRONCOS DE EUCALIPTOS, EM CM², PARA OS TRÊS MÉTODOS DE INOCULAÇÃO -

Espécie	Árvore (nº)	Inoculação com		
		Disco de casca	Palito de madeira	Disco de micélio
<u>E. grandis</u>	1	94,38*	56,36	90,13
	2	86,00	43,88	59,72
	3	103,16	66,74	94,38
	4	66,74	32,95	70,40
	5	59,72	56,36	43,88
	6	90,14	63,18	59,72
	7	38,22	28,08	38,22
	8	70,40	38,22	49,92
	9	66,74	43,88	53,09
	10	98,72	63,18	66,74
<u>E. saligna</u>	1	43,88	15,80	28,08
	2	86,00	59,72	81,95
	3	38,22	10,97	23,60
	4	78,00	46,85	66,74
	5	53,09	41,00	49,92
	6	45,05	17,60	38,22
	7	59,72	35,54	46,85
	8	70,40	30,47	53,09
	9	52,45	32,96	43,88
	10	46,85	23,60	41,00
<u>E. decussata</u>	1	14,09	8,24	9,56
	2	10,97	7,02	9,56
	3	9,56	5,90	8,24
	4	7,02	3,95	5,90
	5	8,29	4,88	7,02
	6	9,56	5,90	8,24
	7	5,90	2,39	4,88
	8	8,29	3,95	5,90
	9	7,02	3,12	7,02
	10	4,88	2,39	5,90

* Média de 2 leituras

- ANÁLISE DA VARIÂNCIA -

Fonte de variação	G.L.	G.M.
Espécie (E)	2	24 818,70**
Resíduo a	27	504,57**
Métodos (M)	2	2 796,08**
E x M	4	464,76**
Resíduo b	54	37,71
Total	89	

Média geral = $38,45 \text{ cm}^2$

C.V. (a) = 58,42%

C.V. (b) = 15,97%

Comparações de médias pelo teste de Tukey:

	(1%)	(5%)
entre médias de espécies	18,46	14,15
entre médias de métodos	4,82	3,82
entre médias de espécies dentro de métodos	33,50	26,34
entre médias de métodos dentro de espécies	8,35	6,82

APÊNDICE 4 - Teste de dependência (χ^2) entre os padrões fenotípicos e as classes de cancro das plantas obtidas no levantamento do plantio comercial de E. urophylla

- PADRÕES FENOTÍPICOS TÍPICO (A), COMERCIAL (B) E NÃO TÍPICO (C) DE E. UROPHYLLA COM RELAÇÃO ÀS CLASSES DE CANCRO 0, 1, 2 e 3

Classes de cancro		Padrões fenotípicos			Totais
		A	B	C	
0	f.obs.	44	52	35	131
1	f.obs.	17	38	36	91
2	f.obs.	3	37	42	82
3	f.obs.	9	63	105	177
$\chi^2 = 69,45^{**}$ com $(3-1)(4-1) = 6$ G.L.					481

- PADRÕES FENOTÍPICOS TÍPICO (A), COMERCIAL (B) DE E. UROPHYLLA, COM RELAÇÃO ÀS CLASSES DE CANCRO 0, 1, 2, 3

Classes de cancro		Padrões fenotípicos		Totais
		A	B	
0	f.obs.	44	52	96
1	f.obs.	17	38	55
2	f.obs.	3	37	40
3	f.obs.	9	63	72
$\chi^2 = 32,44^{**}$ com $(4-1)(2-1) = 3$ G.L.				263

- PADRÕES FENOTÍPICOS TÍPICO (A), COMERCIAL (B) DE E. UROPHYLLA, COM RELAÇÃO ÀS CLASSES DE CANCRO 0, 1, 2 e 3

Classes de cancro		Padrões fenotípicos		Totais
		A	C	
0	f.obs.	44	35	79
1	f.obs.	17	36	53
2	f.obs.	3	42	45
3	f.obs.	9	105	114
$\chi^2 = 66,81^{**}$ com $(4-1)(2-1) = 3$ G.L.				291

- PADRÕES FENOTÍPICOS COMERCIAL (B) e NÃO TÍPICO (C) DE E. UROPHYLLA, COM RELAÇÃO ÀS CLASSES DE CANCRO 0,1, 2 e 3.

Classes de cancro		Padrões fenotípicos		Totais
		B	C	
0	f.obs.	52	35	87
1	f.obs.	38	36	74
2	f.obs.	37	42	79
3	f.obs.	63	105	168
$\chi^2 = 12,34^{**}$ com $(4-1)(2-1) = 3$ G.L.				408

- PADRÕES FENOTÍPICOS TÍPICO (A), COMERCIAL (B) E NÃO TÍPICO (C) DE E. UROPHYLLA, COM RELAÇÃO ÀS CLASSES DE CANCRO O E (1+2+3)

Classes de cancro		Padrões fenotípicos			Totais
		A	B	C	
0	f.obs.	44	52	35	131
(1+2+3)	f.obs.	29	138	183	350
$\chi^2 = 53,97^{***}$ com $(3-1)(2-1) = 2$ G.L.					481

- PADRÕES FENOTÍPICOS TÍPICO (A), COMERCIAL (B) DE E. UROPHYLLA, COM RELAÇÃO ÀS CLASSES DE CANCRO O E (1+2+3)

Classes de cancro		Padrões fenotípicos		Totais
		A	B	
0	f.obs.	44	52	96
(1+2+3)	f.obs.	29	138	167
$\chi^2 = 24,63^{**}$ com $(2-1)(2-1) = 1$ G.L.				263

- PADRÕES FENOTÍPICOS TÍPICO (A), NÃO TÍPICO (C) DE E. UROPHYLLA, COM RELAÇÃO ÀS CLASSES DE CANCRO O E (1+2+3)

Classes de cancro		Padrões fenotípicos		Totais
		A	C	
0	f.obs.	44	35	79
(1+2+3)	f.obs.	29	183	212
$\chi^2 = 54,05^{**}$ com $(2-1)(2-1) = 1$ G.L.				291

- PADRÕES FENOTÍPICOS COMERCIAL (B) E NÃO TÍPICO (C) DE E. UROPHYLLA, COM RELAÇÃO ÀS CLASSES DE CANCRO O E (1+2+3)

Classes de cancro		Padrões fenotípicos		Totais
		B	C	
0		52	35	87
(1+2+3)		138	183	321
$\chi^2 = 7,75^{**}$ com $(2-1)(2-1) = 1$ G.L.				408

** = significativo com 1% de probabilidade

APÊNDICE 5 - Análise da variância dos dados obtidos no talhão comercial de Eucalyptus urophylla

- ANÁLISE REFERENTE AO DIÂMETRO MÉDIO DAS PLANTAS NAS VÁRIAS CLASSES DE CANCRO E PADRÕES FENOTÍPICOS

Fonte de variação	G.L.	Q.M.
Entre classes/padrão A	3	20,2093 ^{ns}
Entre classes/padrão B	3	26,9279 *
Entre classes/padrão C	3	177,7797 **
Entre árvores/classes/padrões	422	10,4444
Total	433	

Média geral = 13,47

C.V. = 23,99%

Comparações de médias pelo teste de Tukey:

	1%	5%
C3 vs C2	2,16	1,78
C3 vs C1	2,16	1,78
C3 vs C0	2,24	1,85
C2 vs C1	2,64	2,17
C2 vs C0	2,73	2,25
C1 vs C0	2,73	2,25
B3 vs B1	2,11	1,74
B3 vs B2	2,07	1,71
B3 vs B0	1,56	1,89

- ANÁLISE REFERENTE À ALTURA MÉDIA DAS PLANTAS NAS VÁRIAS CLASSES DE CANCRO E PADRÕES FENOTÍPICOS -

Fonte de variação	G.L.	Q.M.
Entre classes/padrão A	2	17,9844 ^{ns}
Entre classes/padrão B	3	6,7712 ^{ns}
Entre classes/padrão C	3	142,8360 ^{**}
Entre árvores/classes/padrões	265	7,7068
Total	275	

Média geral = 17,81 cm

C.V. = 15,59%

Comparações de médias pelo teste de Tukey

	1%	5%
C3 vs C2	2,02	1,67
C3 vs C1	2,08	1,72
C3 vs C0	2,23	1,84
C1 vs C0	2,62	2,16

APÊNDICE 6 - Dados experimentais do ensaio de inoculação de Diaporthe cubensis em árvores de Eucalyptus urophylla

- ÁREA DAS LESÕES EM TRONCOS DE PLANTAS TÍPICAS DE E. UROPHYLLA, EM CM², RESULTANTE DA INOCULAÇÃO COM CILINDROS DE CASCA

Nº árvore	Padrão fenotípico	Cancro	Inoculação
1			8,24*
2			9,56
3			7,02
4			4,88
5	típicas	0	7,02
6			5,90
7			7,02
8			4,88
9			9,56
10			10,97
			7,50
1			12,48
2			17,60
3	típicas	1	14,09
4			10,97
5			17,60
			14,54
1			25,79
2			28,08
3	típicas	2	32,95
4			30,47
5			32,95
			30,04
1			70,39
2			63,18
3	típicas	3	43,87
4			40,99
5			43,87
			52,46

* Média de 2 leituras

- ANÁLISE DA VARIÂNCIA

Fonte de variação	G.L.	G.M.
Entre classes	3	2445,78**
Dentro classes	21	39,75
Total	24	

Média geral = 22,41 cm² C.V. = 28,03%

Comparações de médias pelo teste de Tukey

Comparações de classes de cancro	1%	5%
0-1, 0-2, 0-3	12,14	9,58
1-2, 1-3, 2-3	15,67	11,07

- ÁREA DAS LESÕES EM TRONCOS DE PLANTAS COMERCIAIS, EM CM², RESULTANTE DA INOCULAÇÃO COM CILINDROS DE CASCA -

Nº árvore	Carac. bot.	Cancro	Inoculação
1			5,90*
2			10,97
3			8,24
4			7,02
5			12,48
6	Comer.	0	8,29
7			5,90
8			9,56
9			14,09
10			7,02
			8,94
1			14,09
2			28,08
3	Comer.	1	14,09
4			17,06
5			10,97
			16,96
1			32,95
2			35,53
3	Comer.	2	30,47
4			38,22
5			30,47
			33,52
1			56,35
2			53,08
3	Comer.	3	63,18
4			49,92
5			53,08
			55,12

* Média de 2 leituras

- ANÁLISE DA VARIÂNCIA -

Fonte de variação	G.L.	Q.M.
Entre classes	3	2602,07**
Dentro classes	21	18,72
Total	24	

Média geral = $24,68 \text{ cm}^2$ C.V. = 17,53%

Comparações de médias pelo teste de Tukey

Comparações de classes de cancro	1%	5%
0-1, 0-2, 0-3	8,36	6,60
1-2, 1-3, 2-3	9,66	7,62

- ÁREA DAS LESÕES EM PLANTAS NAS TÍPICAS DE E. UROPHYLLA, EM CM² RESULTANTE DA INOCULAÇÃO COM CILINDROS DE CASCA

Nº árvore	Carac. bot.	Cancro	Inoculação
1			9,56*
2			5,90
3			7,02
4			5,90
5			4,88
6	Não típ.	0	7,02
7			8,29
8			4,88
9			5,90
10			7,02
			6,63
1			19,50
2			14,09
3	Não típ.	1	17,60
4			14,09
5			25,79
			18,21
1			25,79
2			30,47
3	Não típ.	2	23,60
4			28,08
5			23,60
			26,30
1			43,87
2			49,92 a
3			56,35
4			40,99 a
5			53,08
6	Não típ.	3	66,73 a
7			43,87
8			81,94 a
9			70,39
10			63,18 a
			57,03

* Média de 2 leituras ; a = médias não utilizadas para fins da análise conjunta agrupando os três padrões fenotípicos.

- ANÁLISE DA VARIÂNCIA -

Fonte de variação	G.L.	G.M.
Entre classes	3	4491,02**
Dentro classes	26	67,29
Total	29	

Média geral = 28,64 cm² C.V. = 28,64%

Comparações de médias pelo teste de Tukey

Comparações de classes de cancro	1%	5%
0-1, 0-2, 1-3, 2-3	15,54	12,36
0-3	12,68	10,09
1-2	17,93	14,27

- ANÁLISE CONJUNTA -

Fonte de variação	G.L.	G.M.
Classes (C)	3	7504,47**
Padrões (P)	2	43,65 ns
C x P	6	20,44 ns
Resíduo médio	68	43,70
Total	79	

Comparações de médias pelo teste de Tukey

Comparações de classes de cancro	1%	5%
0-1, 0-2	6,30	5,01
0-3	5,06	3,81
1-2	6,40	4,81
1-3, 2-3	6,80	5,41