

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Impactos da resistência ontogênica e da limitação hídrica nos  
componentes monocíclicos da ferrugem e nas trocas gasosas da  
goiabeira**

**Manoel Penachio Gonçalves**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

**Piracicaba  
2020**

**Manoel Penachio Gonçalves**  
**Engenheiro Agrônomo**

**Impactos da resistência ontogênica e da limitação hídrica nos componentes  
monocíclicos da ferrugem e nas trocas gasosas da goiabeira**

Orientadora:  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. **LILIAN AMORIM**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

**Piracicaba**  
**2020**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Gonçalves, Manoel Penachio

Impactos da resistência ontogênica e da limitação hídrica nos componentes monocíclicos da ferrugem e nas trocas gasosas da goiabeira / Manoel Penachio Gonçalves - - Piracicaba, 2020.

103 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Ferrugem das mirtáceas 2. *Austropuccinia psidii* 3. *Psidium guajava* 4. Epidemiologia de doenças de plantas 5. Mudanças climáticas I. Título

*Ao meu irmão, Fernando Penachio Gonçalves (in memoriam).  
Sem seu incentivo e perseverança, eu não teria chegado até aqui.*

Dedico



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e pela proteção durante minha caminhada.

À minha família, em especial aos meus pais, Manoel e Verônica, e meus irmãos, Fernando e Vanessa, por todo o amor e carinho.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lilian Amorim, por conduzir meus passos na vida acadêmica e por fazer isso com tanta paciência e dedicação.

À técnica do Laboratório de Epidemiologia, Silvia Lourenço, pelo companherismo e apoio durante a condução dos experimentos.

Ao Prof. Dr. Rafael Vasconcelos Ribeiro e ao Dr. Antonio Nogueira Júnior pelos ensinamentos e pela colaboração nos experimentos de fotossíntese.

À Profa. Dra. Beatriz Apezatto-da-Glória, por disponibilizar o Laboratório de Anatomia Vegetal, e à Júlia Rasesa pela ajuda nas análises histopatológicas.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima, onde foram realizadas as análises hispotatológicas.

Ao Prof. Dr. Quirijn de Jong van Lier e ao Prof. Dr. Fernando Campos Mendonça pela colaboração no estabelecimento da metodologia de estresse hídrico.

Ao Departamento de Fitopatologia e Nematologia da ESALQ-USP por concender o espaço físico e intelectual para a realização do curso de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro durante 13 meses do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro durante 11 meses do mestrado.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vivian Carré Missio e ao Prof. Dr. Roberto Luiz Portz da Universidade Federal do Paraná, por me introduzirem na área de fitopatologia durante a graduação.

Aos amigos de Piracicaba, em especial à Ana Laura Simões, André Pinheiro, Isabela Primiano, Sabrina Holz, Alexandre Lemes, Kelly Pazolini, Renata Linhares, Saulo de Castro, Marcos Busanello e Nyeppsson Souza, pelos momentos de alegria principalmente neste ano de 2020, assombrado pela pandemia da Covid-19.

Aos amigos distantes, Fabiana Wundrak, Wekislei Jordi, Alisson de Santana, Emanuelle Cajazeira, Maíra Luane, Érik Harada, Kamilla Carmo, Renan Cagol, Andressa Schirmer e André Waltrich, que apesar da distância sempre estiveram presentes.

Aos colegas da epidemiologia, Leonardo Mataram, Raquel Ribeiro, Jéssica Maria e Pamela Dutra, pelos momentos de descontração e de discussão na sala da pós-graduação.

Aos estagiários do Laboratório de Epidemiologia, em especial ao Gabriel Furlan, Henrique Soares e Lucas Salles, por auxiliarem na condução dos experimentos.

*“Eis o meu segredo. É muito simples: só se vê bem com o coração. O essencial é invisível aos olhos.”*

Antoine de Saint-Exupéry





## SUMÁRIO

RESUMO .....	11
ABSTRACT .....	13
1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1. Cultura da goiabeira.....	15
1.2. Ferrugem da goiabeira.....	15
1.3. Resistência ontogênica de plantas a patógenos .....	19
1.4. Respostas das plantas a estresses bióticos e abióticos simultâneos.....	20
1.5. Objetivos.....	22
REFERÊNCIAS .....	23
2. COMPONENTES MONOCÍCLICOS DA FERRUGEM E TROCAS GASOSAS EM FOLHAS JOVENS E MADURAS DE GOIABEIRA.....	31
Resumo .....	31
Abstract.....	32
2.1. Introdução.....	33
2.2. Material e métodos .....	35
2.2.1. Material vegetal .....	35
2.2.2. Obtenção e manutenção do isolado monopustular de <i>Austropuccinia psidii</i> .....	35
2.2.3. Caracterização molecular do isolado monopustular de <i>Austropuccinia psidii</i> .....	36
2.2.4. Determinação da área foliar de goiabeira .....	37
2.2.5. Componentes monocíclicos da ferrugem e trocas gasosas em folhas jovens e maduras de goiabeira .....	38
2.2.6. Germinação de urediniósporos de <i>Austropuccinia psidii</i> em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) .....	40
2.2.7. Relações entre a severidade da ferrugem, trocas gasosas e fluorescência de clorofila em folhas jovens de goiabeira .....	41
2.3. Resultados.....	42
2.3.1. Determinação da área foliar de goiabeira .....	42
2.3.2. Caracterização molecular do isolado monopustular de <i>Austropuccinia psidii</i> .....	44
2.3.3. Germinação de urediniósporos de <i>Austropuccinia psidii</i> em MEV .....	44
2.3.4. Componentes monocíclicos da ferrugem e trocas gasosas em folhas jovens e maduras de goiabeira .....	46
2.3.5. Relações entre a severidade da ferrugem, trocas gasosas e fluorescência de clorofila em folhas jovens e maduras de goiabeira .....	52
2.4. Discussão .....	53
Referências .....	59
3. IMPACTO DA LIMITAÇÃO HÍDRICA NOS COMPONENTES MONOCÍCLICOS DA FERRUGEM E NAS TROCAS GASOSAS DA GOIABEIRA .....	69
Resumo .....	69
Abstract.....	70
3.1. Introdução.....	70
3.2. Material e métodos .....	73
3.2.1. Material vegetal .....	74
3.2.2. Estresse abiótico .....	74

3.2.3. Estresse biótico .....	76
3.2.4. Componentes monocíclicos da ferrugem da goiabeira .....	77
3.2.5. Trocas gasosas em folhas de goiabeira .....	78
3.2.6. Área foliar de goiabeira.....	79
3.2.7. Crescimento dos ramos e massas secas da parte aérea e da raiz de goiabeira .....	79
3.3. Resultados .....	80
3.4. Discussão .....	90
Referências.....	94
APÊNDICES.....	101

## RESUMO

### **Impactos da resistência ontogênica e da limitação hídrica nos componentes monocíclicos da ferrugem e nas trocas gasosas da goiabeira**

A ferrugem das mirtáceas, causada por *Austropuccinia psidii*, tem sido alvo de vários estudos recentes, em função de sua distribuição global infectando uma ampla gama de mirtáceas. No Brasil, a maior parte dos estudos sobre a epidemiologia da ferrugem das mirtáceas se concentra no eucalipto, embora *A. psidii* tenha sido descrito pela primeira vez na goiabeira. Apesar da importância dessa doença, há poucas informações sobre sua epidemiologia em goiabeira e sobre o efeito de estresses abióticos no seu desenvolvimento. A resistência ontogênica a *A. psidii*, descrita em folhas maduras de espécies de mirtáceas, também não foi estudada na ferrugem da goiabeira. Nesse cenário, este estudo foi desenvolvido com os objetivos de quantificar os componentes monocíclicos e seu impacto em folhas jovens e maduras de goiabeira e também o efeito da limitação hídrica moderada no monociclo da doença. Para cumprir esses objetivos vários experimentos foram conduzidos, apresentados em dois capítulos nesta dissertação. No primeiro capítulo, os componentes monocíclicos da ferrugem e as trocas gasosas em folhas jovens e maduras, sadias ou inoculadas com *A. psidii*, foram quantificados ao longo do tempo. Adicionalmente, experimentos foram realizados para avaliar as limitações fotossintéticas impostas por *A. psidii* em folhas jovens de goiabeira. Folhas maduras de goiabeira foram completamente resistentes à infecção de *A. psidii* e essa resistência não esteve relacionada, exclusivamente, à inibição da germinação dos urediniosporos. Nas folhas jovens, altamente suscetíveis a *A. psidii*, houve elevada densidade de lesões, alta severidade da doença e elevada produção de urediniosporos. Folhas jovens inoculadas com *A. psidii* apresentaram redução na assimilação de CO<sub>2</sub> proporcional à severidade da doença. A redução fotossintética das folhas doentes não foi decorrente de limitações estomáticas, mas de limitações nas atividades bioquímica e fotoquímica. As variáveis de trocas gasosas mostraram valores semelhantes tanto nas folhas maduras inoculadas quanto nas não inoculadas com *A. psidii*. No segundo capítulo, plantas de goiabeira cv. Paluma envasadas foram expostas ou não a estresse biótico (*A. psidii*) e abiótico (limitação hídrica moderada), aplicados de maneira isolada e combinada. Para avaliar o comportamento da doença e os danos por ela causados, foram quantificados os componentes monocíclicos da ferrugem e as trocas gasosas da goiabeira. A densidade de lesões esporulantes foi maior em goiabeiras submetidas à combinação de limitação hídrica e inoculação com *A. psidii* do que em goiabeiras somente inoculadas com *A. psidii*. No entanto, em apenas um dos experimentos a severidade da ferrugem foi maior no tratamento com estresses combinados do que naquele em que não houve limitação hídrica. Em ambos os experimentos, os valores médios de áreas abaixo das curvas da assimilação de CO<sub>2</sub> e da transpiração foram significativamente menores nas plantas doentes submetidas à limitação hídrica do que naquelas expostas exclusivamente ao patógeno. Em conclusão, a elevada intensidade da doença nas folhas jovens parece compensar a marcante resistência ontogênica das folhas maduras de goiabeira, nas quais nenhum sintoma ocorre. A doença reduz significativamente a fotossíntese relativa em folhas jovens, enquanto

a resistência ontogênica não tem custo fotossintético às folhas. O efeito combinado de estresses biótico e abiótico nas variáveis de trocas gasosas da goiabeira supera os efeitos dos estresses aplicados isoladamente.

Palavras-chave: Ferrugem das mirtáceas; *Austropuccinia psidii*; *Psidium guajava*; Epidemiologia de doenças de plantas; Mudanças climáticas

## ABSTRACT

### **Impacts of ontogenic resistance and water deficit on monocyclic components of rust and on gas exchange in guava plants**

The myrtle rust, caused by *Austropuccinia psidii*, has recently received attention of the international plant pathology community, due to the global distribution of this pathogen on a wide range of Myrtaceae host species. In Brazil most epidemiological data on myrtle rust was obtained from *Eucalyptus*, although *A. psidii* had been described from guava plants at first time. Despite the importance of this disease, there is little information on its epidemiology in guava plants and on the effects of abiotic stresses on its development. Ontogenic resistance to *A. psidii*, described in old leaves of Myrtaceae species, has also not been studied in guava rust. The objectives of this study were to quantify monocyclic components and its impacts on young and old leaves of guava plants, and also the effects of moderate water deficit on the disease monocycle. In order to achieve these objectives a series of experiments were performed, presented in this dissertation in two chapters. In the first chapter the monocyclic components of rust and gas exchange in young and old leaves of guava plants, both healthy or inoculated with *A. psidii*, were quantified along the time. Experiments were also conducted to evaluate the photosynthetic limitations imposed by *A. psidii* on young guava leaves. Old guava leaves were completely resistant to *A. psidii* infection and this resistance was not only related to the inhibition of urediniospore germination. In the young leaves, highly susceptible to *A. psidii*, there was a high density of lesions, high disease severity and high production of urediniospores. Young leaves inoculated with *A. psidii* presented a reduction in CO<sub>2</sub> assimilation proportional to the disease severity. The photosynthetic reduction of diseased leaves was not due to stomatal limitations, but to limitations in biochemical and photochemical activities. The gas exchange presented similar values to both old leaves inoculated or not with *A. psidii*. In the second chapter, potted guava plants cv. Paluma were exposed or not to biotic stress (*A. psidii*) and abiotic stress (moderate water deficit), in a single or a combined situations. In order to evaluate the disease behavior and the damages caused to the guava plants, the monocyclic components of rust and gas exchange in guava plants were quantified. The density of lesions was higher in guava plants submitted to the combination of water deficit and inoculation with *A. psidii* than in guava plants inoculated with *A. psidii* only. However, only one experiment presented higher rust severity in the treatment with combined stresses than in the treatment without water deficit. In both experiments, the mean values of areas under the CO<sub>2</sub> assimilation and transpiration curves were significantly lower in diseased guava plants exposed to water deficit than in those exposed exclusively to the pathogen. In conclusion, the high disease intensity in young leaves seems to compensate for the marked ontogenic resistance of old guava leaves, in which symptoms do not occur. The disease significantly reduces the relative photosynthesis in young leaves, while ontogenic resistance has no photosynthetic cost to the leaves. The combined effects of biotic and abiotic stresses on gas exchange in guava plants surpassed the effects of stresses applied alone.

Keywords: Myrtle rust; *Austropuccinia psidii*; *Psidium guajava*; Plant Disease  
Epidemiology; Climate changes

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Cultura da goiabeira

Pertencente à família Myrtaceae, a goiabeira é originária da América tropical e amplamente distribuída nos trópicos e subtropicais (Lim & Manicom, 2003). Entre os frutos tropicais, a goiaba se destaca pelo elevado valor nutritivo, em virtude dos altos níveis de vitamina C, com valores de seis a sete vezes superiores aos frutos cítricos, fonte tradicional dessa vitamina. Além disso, o fruto apresenta excelentes propriedades organolépticas, alto rendimento e polpa de elevada qualidade industrial (Manica, 2000a).

A produção global de goiabas foi estimada em 6,5 milhões de toneladas em 2017, e seu consumo, assim como o cultivo da goiabeira, predomina na Ásia. A Índia é o principal produtor do fruto, respondendo por 56% da produção mundial em 2017. Outros produtores notáveis, embora em níveis significativamente inferiores, incluem Paquistão, Egito, China e Brasil (FAO, 2018). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019), o Brasil produziu 460.515 toneladas de goiaba em 2017. O maior produtor brasileiro do fruto é o Estado de São Paulo, responsável por 37% da produção nacional. O Nordeste também se destaca na produção de goiabas, produzindo 46% do total nacional, onde Pernambuco é o principal Estado produtor.

A cultivar mais plantada em grande escala em pomares comerciais do Brasil, principalmente no Estado de São Paulo, é a Paluma. Essa cultivar foi desenvolvida pelo Professor Fernando Mendes Pereira da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP, Jaboticabal, SP), a partir da seleção de sementes de plantas de polinização aberta de Ruby supreme. As plantas apresentam alto vigor, produtividade de 50 t ha<sup>-1</sup> e crescimento lateral. Os frutos são grandes (acima de 200 g), de formato piriforme, casca lisa e polpa vermelha, destinados tanto ao consumo *in natura* quanto à industrialização (Manica, 2000c; Fumis & Sampaio, 2011). Apesar desses e outros autores (Piccinin et al., 2016) considerarem que a cultivar Paluma apresenta boa tolerância à ferrugem, Martins et al. (2014) constataram que essa doença pode reduzir até 90% da produção de frutos dessa cultivar na ausência de controle químico.

### 1.2. Ferrugem da goiabeira



A ferrugem é uma das principais doenças da goiabeira, podendo ocasionar redução significativa na produção de frutos (Martins et al., 2014; Piccinin et al., 2016). Entre o final do século 19 e o início do século 21, *Austropuccinia psidii* (à época denominado *Puccinia psidii* Winter) foi descrito causando doença em vários hospedeiros na América do Sul (Ferreira, 1983; Coutinho et al., 1998), na América Central e Caribe (MacLachlan, 1938) e na América do Norte (Marlatt & Kimbrough, 1979; León Gallegos & Cummins, 1981 citado por Esperón-Rodríguez et al., 2018; Mellano, 2006; Uchida et al., 2006). Até então, a distribuição geográfica da ferrugem das mirtáceas estava limitada às Américas. No entanto, a detecção do patógeno no Havaí em 2005 (Uchida et al., 2006), expandindo as fronteiras geográficas da doença, trouxe preocupação para outros países fora do continente americano, particularmente para a Austrália, onde o eucalipto e outras mirtáceas são importantes para a economia e a biodiversidade. A ocorrência de *A. psidii* no Havaí foi uma demonstração da sua capacidade de dispersão e trouxe o patógeno mais próximo aos continentes Ásia e Oceania, aumentando o risco de invasão através das Ilhas do Pacífico (Glen et al., 2007).

Antes mesmo da expansão de *A. psidii* para fora das Américas, vários trabalhos já destacavam a necessidade de maior atenção internacional à doença, devido à grande ameaça que esse patógeno representava para outros países. Assim, pesquisas foram realizadas com a finalidade de restringir essa ameaça com ênfase nos gêneros de hospedeiros de maior importância econômica, como *Eucalyptus*. Os principais temas estudados foram: avaliação da suscetibilidade de espécies de mirtáceas nativas da Austrália à ferrugem por inoculação no Brasil; elaboração de mapas de risco com base na distribuição geográfica das mirtáceas e em condições climáticas favoráveis à doença; desenvolvimento de técnicas moleculares de diagnóstico para detecção de *A. psidii* em material vegetal. Os resultados mostraram clima favorável e ampla gama de hospedeiros na Austrália, além de condições ideais para o rápido estabelecimento da doença, caso o patógeno fosse introduzido naquele País (Coutinho et al., 1998; Booth et al., 2000; Tommerup et al., 2003; Glen et al., 2007).

Apesar dos esforços internacionais para o estabelecimento de medidas de exclusão, a partir de 2007 a ferrugem das mirtáceas foi detectada no Japão (Kawanishi et al., 2009), na Austrália (Carnegie et al., 2010; Carnegie & Cooper, 2011; Pegg et al., 2014), na China (Zhuang & Wei, 2011), na África do Sul (Roux et al., 2013), na Nova Caledônia (Giblin, 2013; Soewarto et al., 2018) e mais recentemente, na Indonésia (McTaggart et al., 2016), em Cingapura (du Plessis et al., 2017) e na Nova Zelândia (MPI, 2017). O fungo já foi descrito em 28 países distribuídos na América, Ásia, África e Oceania (Carnegie & Pegg, 2018). Na Austrália, a ferrugem é uma potencial ameaça à biodiversidade, em razão da presença,

predominante, de espécies de mirtáceas nos ecossistemas naturais (Carnegie et al., 2016; Pegg et al., 2017). Além disso, essa doença é uma grande ameaça à indústria florestal, um dos setores mais importantes para a economia do País (Lawson et al., 2018). Já foram relatados mais de 400 hospedeiros australianos distribuídos em 52 gêneros da família das mirtáceas (Berthon et al., 2018).

O início da doença é caracterizado pelo surgimento de pequenas pontuações amareladas e pulverulentas nos tecidos jovens de folhas, ramos, botões florais ou frutos. Nas folhas, a primeira evidência da doença é o aparecimento de pontos amarelos pálidos na face adaxial. Com o progresso da doença, as lesões evoluem e coalescem, ocupando grande proporção do tecido vegetal, podendo ocasionar o encarquilhamento de ramos e o surgimento de lesões corticosas, onde antes era observada a massa pulverulenta de coloração amarela (Piccinin et al., 2016). Ao final da esporulação, as lesões são circulares e de coloração marrom nas folhas, enquanto nos botões florais e frutos, onde os danos são mais acentuados, as lesões mostram-se necróticas e de coloração negra. A doença pode causar abortamento de flores e queda acentuada de botões e frutos. Nos pontos anteriormente cobertos pelos urediniósporos, pode-se observar a presença de fissuras que, por sua vez, permitem a infecção de patógenos secundários (Coutinho et al., 1998; Tommerup et al., 2003; Piccinin et al., 2016). Nas folhas de goiabeira, a esporulação do fungo é observada na face adaxial e, mais intensamente, na face abaxial.

Devido à natureza biotrófica do agente causal da ferrugem, à idade do material no qual a descrição original foi baseada e às más condições de seu DNA, não havia, até o momento, uma caracterização genética clara da espécie. Um epítipo foi, portanto, designado para o patógeno, obtido a partir do mesmo hospedeiro e localização geográfica do lectótipo, sendo aquele morfolologicamente idêntico ao espécime descrito por Winter, em 1884 (Machado et al., 2015). A epitipificação do patógeno, juntamente com vários trabalhos já mencionados que estudaram sua taxonomia, possibilitaram a reclassificação do agente causal da ferrugem das mirtáceas por Beenken (2017). Este, por sua vez, através de um estudo filogenético mostrou que o fungo não pertence ao gênero *Puccinia*, mas está intimamente relacionado com gêneros do clado da família Sphaerophragmiaceae, recentemente circunscrita. Assim, um novo gênero, *Austropuccinia*, e uma nova espécie, *Austropuccinia psidii*, foram apresentados como agente causal da ferrugem das mirtáceas. *A. psidii* é uma espécie indistinguível morfolologicamente do gênero *Puccinia*, mas é claramente distinta geneticamente.

O ciclo de vida de *A. psidii* ainda não foi totalmente esclarecido (Morin et al., 2014; Beenken, 2017). Vários autores acreditam que a ferrugem seja autoécia, com o patógeno

podendo completar seu ciclo de vida em apenas um hospedeiro (Figueiredo et al., 1984; Coutinho et al., 1998; Glen et al., 2007; McTaggart et al., 2018; McTaggart et al., 2020). Estudos demonstraram que basidiósporos são capazes de infectar o mesmo hospedeiro (jambeiro) no qual os télios e os uredínios são formados, sendo os soros resultantes, produtos da anastomose de basidiósporos. A ferrugem não forma espermogônios e a fase ecial tem morfologia semelhante ou idêntica à fase uredinial (Figueiredo et al., 1984; McTaggart et al., 2018). Há também a hipótese de que a ferrugem das mirtáceas seja heteroécia, com hospedeiro alternado desconhecido (Simpson et al., 2006; Morin et al., 2014), no entanto essa constatação parece ser duvidosa, haja vista as observações de infecção, sob condições controladas, do hospedeiro principal por basidiósporos.

A ferrugem da goiabeira é uma doença policíclica, com a sucessão de vários ciclos do patógeno em um único ciclo da cultura. A disseminação do patógeno é feita principalmente por meio de urediniósporos, sendo o vento seu principal agente de disseminação (Piccinin et al., 2016). Esses esporos são depositados na superfície do hospedeiro e, sob condições climáticas favoráveis, germinam, dando início ao processo de infecção. O tubo germinativo forma o apressório e este forma o *peg* de infecção que, por sua vez, penetra o hospedeiro entre as células epidérmicas e estabelece um micélio intercelular que emite haustório intracelular (Hunt, 1968), iniciando o processo de colonização. Em espécies de *Eucalyptus* suscetíveis a *A. psidii*, o processo de pré-penetração, desde a germinação do urediniósporo até a formação do apressório, ocorre nas primeiras 48 h após a inoculação. O patógeno é capaz de completar seu ciclo primário em aproximadamente 10 dias, através da formação de todos os componentes celulares envolvidos na infecção, colonização e reprodução (Yong et al., 2019).

Pouco se sabe sobre a epidemiologia da ferrugem da goiabeira, mas há um número significativo de trabalhos nos quais os componentes epidemiológicos da ferrugem do eucalipto e do jambeiro foram quantificados. Os urediniósporos de *A. psidii* são capazes de penetrar diretamente pela cutícula de folhas jovens de eucalipto (Xavier et al., 2001; Yong et al., 2019) e de jambeiro (Hunt, 1968), através da degradação da cutícula e da cera, contudo não conseguem penetrar folhas maduras. Nestas, foram observadas redução na germinação dos urediniósporos, na formação de apressórios e, conseqüentemente, penetração e esporulação (Xavier et al., 2015; Silva-Souza et al., 2017). Acredita-se que isso esteja associado a barreiras mecânicas ou químicas da cutícula (Hunt, 1968), devido ao aumento da espessura e da quantidade de cera nas folhas maduras (Xavier et al., 2015; Silva-Souza et al., 2017).

As condições favoráveis para a germinação de urediniósporos e para a infecção de *A. psidii* em folhas de eucalipto são temperatura entre 20 e 25 °C com temperatura ótima estimada em 23 °C, período de molhamento foliar de 24 horas e ausência de luz (Ruiz et al., 1989). Os períodos de incubação e latência para a ferrugem do eucalipto variam de 5 a 12 dias (Ferreira, 1981; Castro et al., 1983; Ruiz et al., 1989). Possivelmente essa variação esteja atrelada à metodologia adotada para avaliação desses componentes epidemiológicos. Em jambeiro, ensaios conduzidos em casa de vegetação sob temperatura ambiente, mostraram que temperaturas amenas (15 a 23 °C) favorecem todo ciclo de vida de *A. psidii*. Enquanto a temperatura de 19 °C é mais favorável à infecção, a produção de teliósporos e de basidiósporos é beneficiada por temperaturas de 23 e 21 °C, respectivamente (Aparecido et al., 2003b). Em estudos realizados em condições de campo, a ferrugem do jambeiro foi favorecida por temperaturas de 18 a 22 °C (Tessmann et al., 2001) e umidade relativa  $\geq 80\%$  (Blum & Dianese, 2001).

### **1.3. Resistência ontogênica de plantas a patógenos**

Em muitas interações patógeno-hospedeiro, a expressão da resistência depende do estágio de desenvolvimento em que a planta se encontra. O termo resistência relacionada à idade, também conhecido como resistência ontogênica, descreve a redução ou o aumento da resistência às doenças durante o processo de maturação do hospedeiro (Whalen, 2005; Hu & Yang, 2019). De modo geral, as plantas são mais suscetíveis às doenças nas fases iniciais do desenvolvimento. A resistência ontogênica já foi constatada para várias doenças de plantas (Develey-Rivière & Galiana, 2007; Hu & Yang, 2019), porém os mecanismos que governam essa resistência ainda são mal compreendidos (Beresford et al., 2020).

Folhas de macieira tornam-se progressivamente mais resistentes a *Venturia inaequalis* à medida que envelhecem (Gessler & Stumm, 1984; Li & Xu, 2002). A germinação de conídios e a formação de apressórios de *V. inaequalis* ocorre tanto em folhas jovens como em folhas mais velhas, mas a esporulação do patógeno é parcialmente inibida nestas (Gessler & Stumm, 1984). Assim, acredita-se que a resistência ontogênica à sarna da macieira esteja relacionada com a inibição do crescimento fúngico nos tecidos foliares mais velhos. Um estudo da expressão gênica, mostrou que genes são diferencialmente expressos durante a mudança da suscetibilidade de folhas jovens para a resistência de folhas velhas de macieira a *V. inaequalis* (Gusberty et al., 2013). De maneira semelhante, folhas maduras de videira também são mais resistentes ao míldio, em virtude da maior produção de peróxido de

hidrogênio, de fitoalexinas e de compostos fenólicos, em relação ao produzido pelas folhas jovens (Steimetz et al., 2012). Além da idade de folhas e frutos, o estágio fenológico da planta também pode determinar a suscetibilidade aos patógenos. Plantas de trigo adultas, por exemplo, são mais resistentes à ferrugem do colmo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) e ao oídio (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) (Herrera-Foessel et al., 2014). No milho, o estágio adulto também está associado à alta resistência à ferrugem comum (*Puccinia sorghi*) (Abedon & Tracy, 1996).

A resistência ontogênica à ferrugem já foi relatado para várias espécies de mirtáceas (Hunt, 1968; Xavier et al., 2015; Silva-Souza et al., 2017; Beresford et al., 2020), mas ainda não há estudos nesse sentido para a goiabeira. A resistência ontogênica de *Metrosideros excelsa*, *Lophomyrtus bullata* x *L. obcordata* e *Syzygium jambos* a *A. psidii* é observada em folhas maduras, onde o período de latência é mais longo e a densidade de lesões reduzida (Beresford et al., 2020). Folhas maduras de eucalipto também são resistentes à infecção por *A. psidii*. A taxa de germinação de urediniósporos e a formação de apressórios são reduzidos nas folhas maduras em relação às folhas jovens de *Eucalyptus grandis* e *E. urophylla* x *E. grandis*. Essa redução na germinação de urediniósporos de *A. psidii* em folhas maduras de eucalipto tem sido atribuída à maior quantidade de cera epicuticular presente nestas folhas em relação às folhas jovens (Xavier et al., 2015; Silva-Souza et al., 2017). Como *A. psidii* infecta por penetração direta através da cutícula, o desenvolvimento de uma barreira cuticular parece ser o mecanismo provável para o desenvolvimento da resistência ontogênica (Beresford et al., 2020). No entanto, não é consenso na literatura que a resistência em eucalipto esteja associada à inibição da germinação dos urediniósporos, pois em clone de eucalipto resistente a *A. psidii* (*Eucalyptus obliqua*) os urediniósporos germinam e formam apressórios sobre as folhas, mas a penetração do patógeno não ocorre (Yong et al., 2019). De modo geral, a resistência de hospedeiros e não hospedeiros a patógenos causadores de ferrugens tem sido relacionada a mecanismos estruturais e/ou bioquímicos pós-formados que atuam antes ou logo após a formação de haustórios (Niks & Dekens, 1991; Anker & Niks, 2001; Southerton & Deverall, 1989).

#### **1.4. Respostas das plantas a estresses bióticos e abióticos simultâneos**

As plantas crescem e se reproduzem em ambientes complexos, constituídos por uma ampla diversidade de fatores bióticos e abióticos. Os principais fatores abióticos que afetam o crescimento vegetal são luz, água, dióxido de carbono, oxigênio, disponibilidade de nutrientes

no solo, temperatura e toxinas (metais pesados e salinidade). De todos os recursos necessários para o desenvolvimento das plantas, a água é o mais abundante e, surpreendentemente, o mais limitante. Do montante de água absorvido pelas raízes, aproximadamente 97% é transportado pela planta e evaporado pelas superfícies foliares, fenômeno chamado de transpiração. Em contrapartida, apenas uma pequena parte desse montante permanece na planta com a finalidade de suprir seu crescimento (em torno de 2%) ou para ser utilizado na fotossíntese e em outros processos metabólicos (em torno de 1%) (Taiz et al., 2017).

A transpiração parece ser uma consequência inevitável do processo de fotossíntese, visto que a assimilação de  $\text{CO}_2$  está acoplada à perda de água por meio de uma rota difusional comum, onde à medida que o  $\text{CO}_2$  se difunde para dentro das folhas, o vapor de água difunde-se para fora. A fotossíntese exige que as plantas retirem dióxido de carbono da atmosfera e, ao mesmo tempo, as expõem à perda de água e, por conseguinte, ao risco de desidratação. Para evitar a dessecação celular, a planta absorve água pelas raízes e transporta ao longo do seu dossel. O desequilíbrio entre a absorção e o transporte de água e a transpiração podem causar estresses hídricos e, conseqüentemente, o mau funcionamento de inúmeros processos metabólicos, que repercute no decréscimo da produtividade das plantas. Portanto, equilibrar as relações hídricas é um grande desafio para as plantas terrestres (Taiz et al., 2017).

Quase não há informação sobre os impactos do estresse hídrico na cultura da goiabeira. Sabe-se que ela é considerada uma planta tolerante à seca, embora a falta de água disponível no solo nos estádios de elevada exigência hídrica pela planta, a saber, fase de crescimento vegetativo, florescimento e vingamento e desenvolvimento dos frutos, pode provocar intensa queda de flores e decréscimo na quantidade e no tamanho dos frutos, culminando em redução da produtividade (Manica, 2000b; Silva & Coelho, 2003). O fator de disponibilidade (fator  $f$ ) define a umidade mínima do solo, ou umidade crítica, à qual a cultura pode ser submetida sem afetar significativamente a sua produção. Quanto menor o valor do fator  $f$  maior a sensibilidade da cultura ao estresse hídrico. Outro aspecto a ser considerado é o desenvolvimento do sistema radicular da planta, que implica em menor ou maior tolerância desta a uma baixa disponibilidade hídrica. Em vista disso, esse fator deve ser determinado, por meio de pesquisas, para cada região (Silva & Coelho, 2003). Para a goiabeira, o fator de disponibilidade de água recomendado é de 0,5 (Coelho et al., 2000). Isso significa que a planta é capaz de absorver 50% da capacidade de água disponível no solo (*CAD*).

Os impactos dos estresses abióticos e bióticos na fisiologia e na produtividade das plantas vêm sendo estudados extensivamente, porém de maneira individual. Em contraste, os efeitos de diferentes estresses, bióticos e abióticos, ocorrendo simultaneamente como em

condições de campo, ainda são pouco explorados pelos pesquisadores. Vários estudos têm mostrado que doenças foliares reduzem as trocas gasosas das plantas (Roberts & Walters, 1988; Bastiaans, 1991; Shtienberg, 1992; Bastiaans & Roumen, 1993; Scholes & Rolfe, 1996; Chou et al., 2000; Bassanezi et al., 2001; Godoy et al., 2001; Robert et al., 2005; Pinkard & Mohammed, 2006; Berger et al., 2007; Kumudini et al., 2010; Alves et al., 2011; Debona et al., 2014; Silveira et al., 2015; Nogueira Júnior et al., 2017; Nogueira Júnior et al., 2019). Entretanto, não se sabe se os danos provocados pelas doenças são intensificados quando a infecção pelo patógeno é combinada com o estresse hídrico. As respostas a múltiplos estresses são complexas (Atkinson et al., 2013), como exemplo, alguns estudos mostraram que a associação de estresse hídrico e estresse biótico pode resultar no aumento da intensidade da doença (McElrone et al., 2001; Anderson et al., 2004; Prash & Sonnewald, 2013) ou no aumento da defesa da planta (Wiese et al., 2004). A resposta é, portanto, afetada de acordo com o tipo de estresse abiótico aplicado e o patógeno envolvido (Rejeb et al., 2014). Juntamente com os estresses bióticos causados por pragas e doenças, os estresses abióticos caracterizados por condições ambientais adversas como temperatura e disponibilidade hídrica, são os principais fatores limitantes da produção de goiabas.

### **1.5. Objetivos**

Os objetivos gerais deste estudo foram quantificar os componentes monocíclicos da ferrugem e seu impacto nas trocas gasosas de folhas jovens e maduras de goiabeira cv. Paluma e também o efeito da limitação hídrica moderada no monociclo da doença. Os objetivos específicos foram:

- (i) Quantificar os componentes monocíclicos da ferrugem em folhas jovens e maduras de goiabeira cv. Paluma;
- (ii) Avaliar as limitações fotossintéticas provocadas pela ferrugem em folhas jovens de goiabeira cv. Paluma;
- (iii) Avaliar se a resistência ontogênica impõe algum custo fotossintético para as folhas maduras de goiabeira cv. Paluma;
- (iv) Avaliar as implicações da limitação hídrica moderada no monociclo da ferrugem da goiabeira;
- (v) Avaliar os danos fotossintéticos causados pela associação de estresses abiótico e biótico em goiabeira cv. Paluma.

## REFERÊNCIAS

- Abedon, B.; Tracy, W. 1996. Corngrass 1 of maize (*Zea mays* L.) delays development of adult plant resistance to common rust (*Puccinia sorghi* Schw.) and European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hubner). *Journal of Heredity* 87: 219-223.
- Alves, A.A.; Guimarães, L.M.S.; Chaves, A.R.M.; DaMatta, F.M.; Alfenas, A.C. 2011. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence of *Eucalyptus urophylla* in response to *Puccinia psidii* infection. *Acta Physiology Plant* 33: 1831-1839.
- Anderson, J.P.; Badruzaufari, E; Schenk, P.M.; Manners, J.M.; Desmond, O.J.; Ehlert, C.; Maclean, D.J.; Ebert, P.R.; Kazan, K. 2004. Antagonistic interaction between abscisic acid and jasmonate-ethylene signaling pathways modulates defense gene expression and disease resistance in Arabidopsis. *Plant Cell* 16: 3460-3479.
- Anker, C.C.; Niks, R.E. 2001. Prehaustorial resistance to the wheat leaf rust fungus, *Puccinia triticina*, in *Triticum monococcum* (s.s.). *Euphytica* 117: 209-215.
- Aparecido, C.C.; Figueiredo, M.B.; Furtado, E.L. 2003b. Influência da temperatura sobre a infecção, formação de teliosporos e produção de basidiosporos por *Puccinia psidii* (Uredinales). *Summa Phytopathologica* 29: 239-243.
- Atkinson, N.J.; Lilley, C.J.; Urwin, P.E. 2013. Identification of genes involved in the response of arabidopsis to simultaneous biotic and abiotic stresses. *Plant Physiology*, v. 162, p. 2028-2041.
- Bassanezi, R.B.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Hau, B.; Berger, R.D. 2001. Accounting for photosynthetic efficiency of bean leaves with rust, angular leaf spot and anthracnose to assess crop damage. *Plant Pathology* 50: 443-452.
- Bastiaans, L.; Roumen, E.C. 1993. Effect on leaf photosynthetic rate by leaf blast for rice cultivars with different types and levels of resistance. *Euphytica* 66: 81-87.
- Bastiaans, L. 1991. Ratio between virtual and visual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of rice due to leaf blast. *Phytopathology* 81: 611-615.
- Beenken, L. 2017. *Austropuccinia*: a new genus name for the myrtle rust *Puccinia psidii* placed within the redefined family Sphaerophragmiaceae (Pucciniales). *Phytotaxa*, v. 297, n. 1, p. 053-061.
- Beresford, R.M.; Shuey, L.S; Pegg, G.S. 2020. Symptom development and latent period of *Austropuccinia psidii* (myrtle rust) in relation to host species, temperature, and ontogenic resistance. *Plant Pathology* 00:1-11.



- Berger, S.; Sinha, A.K.; Roitsch, T. 2007. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogens interactions. *Journal of Experimental Botany* 58: 4019-4026.
- Berthon, K.; Esperon-Rodriguez, M.; Beaumont, L.J.; Carnegie, A.J.; Leishman, M.R. 2018. Assessment and prioritisation of plant species at risk from myrtle rust (*Austropuccinia psidii*) under current and future climates in Australia. *Biological Conservation* 218: 154-162.
- Blum, L.E.B.; Dianese, J.C. 2001. Padrões de liberação de urediniósporos e desenvolvimento da ferrugem do jameiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36: 845-850.
- Booth, T.H.; Old, K.M.; Jovanovic, T. 2000. A preliminary assessment of high risk areas for *Puccinia psidii* (*Eucalyptus* rust) in the Neotropics and Australia. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 82: 295-301.
- Carnegie, A.J.; Cooper, K. 2011. Emergency response to the incursion of an exotic myrtaceous rust in Australia. *Australasian Plant Pathology* 40: 346-359.
- Carnegie, A.J.; Kathuria, A.; Pegg, G.S.; Entwistle, P.; Nagel, M.; Giblin, F.R. 2016. Impact of the invasive rust *Puccinia psidii* (myrtle rust) on native Myrtaceae in natural ecosystems in Australia. *Biological Invasions* 18: 127-144.
- Carnegie, A.J.; Lidbetter, J.R.; Walker, J.; Horwood, M.A.; Tesoriero, L.; Glen, M.; Priest M. J. 2010. *Uredo rangelii*, a taxon in the guava rust complex, newly recorded on Myrtaceae in Australia. *Australasian Plant Pathology* 39: 463-466.
- Carnegie, A.J.; Pegg, G.S. 2018. Lessons from the incursion of myrtle rust in Australia. *Annual Review of Phytopathology* 56: 21.1-21.22.
- Castro, H.A.; Krugner, T.L.; Ideriha, C.H.F.; Cappello, M. S. C.; Marchi, A. B. 1983. Inoculação cruzada de *Eucalyptus*, goiaba (*Psidium guajava*) e jameiro (*Syzygium jambos*) com *Puccinia psidii*. *Fitopatologia Brasileira* 8: 491-497.
- Chou, H.; Bundock, N.; Rolfe, S.A.; Scholes, J.D. 2000. Infection of *Arabidopsis thaliana* leaves with *Albugo candida* (white blister rust) causes a reprogramming of host metabolism. *Molecular Plant Pathology* 1: 99-113.
- Coelho, E.F.; Souza, V.F.; Netto, A.O.A.; Oliveira, A.S. 2000. Manejo de irrigação em fruteiras tropicais. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura (Circular Técnica nº 40), 48 p.
- Coutinho, T.A., Wingfield, M.J., Alfenas, A.C., Crous, P.W. 1998. Eucalyptus rust: a disease with the potential for serious international implications. *Plant Disease* 82: 819-825.

- Debona, D.; Rodrigues, F.A.; Rios, J.A.; Martins, S.C.V.; Pereira, L.F.; DaMatta, F.M. 2014. Limitations to photosynthesis in leaves of wheat plants infected by *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 104: 34-39.
- Develey-Rivière, M.P.; Galiana, E. 2007. Resistance to pathogens and host developmental stage: a multifaceted relationship within the plant kingdom. *New Phytologist* 175: 405-416.
- du Plessis, E.; McTaggart, A.R.; Granados, G.M.; Wingfield, M.J.; Roux, J.; Ali, M.I.M.; Pegg, G.S.; Makinson, J.; Purcell, M. 2017. First report of myrtle rust caused by *Austropuccinia psidii* on *Rhodomyrtus tomentosa* (Myrtaceae) from Singapore. *Plant Disease* 101: 1.
- Esperón-Rodríguez, M.; Baumgartner, J.B.; Beaumont, L.J.; Berthon, K.; Carnegie, A.J.; Alfonzetti, M.A.; Barradas, V.L.; Leishman, M. 2018. The risk to Myrtaceae of *Austropuccinia psidii*, myrtle rust, in Mexico. *Forest Pathology* 48: e12428.
- Ferreira, F.A. 1981. Ferrugem do eucalipto – ocorrências, temperatura para germinação de uredosporos, produção de teliósporos, hospedeiro alternativo e resistência. *Fitopatologia Brasileira* 6: 603-604.
- Ferreira, F.A. 1983. Ferrugem do eucalipto. *Revista Árvore* 7: 91-109.
- Figueiredo, M.B.; Coutinho, L.N.; Hennen, J.F. 1984. Estudos para determinação do ciclo vital de *Puccinia psidii*. *Summa Phytopathologica* 10: 53-54.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2019. Trade and Markets. Global prospects for minor tropical fruits, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/tropical-fruits/en/>>. Acesso em: 5 de julho de 2019.
- Fumis, T.F.; Sampaio, A.C. 2011. Biologia e cultivares. In: Sampaio, A.C. Goiaba: do plantio a comercialização. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral – CATI (Manual Técnico), p. 1-11.
- Gessler, C.; Stumm, D. Infection and stroma formation by *Venturia inaequalis* on apple leaves with different degrees of susceptibility to scab. *Journal of Phytopathology* 110: 119-126.
- Giblin, F. 2013. Myrtle rust report: New Caledonia. Assessment of myrtle rust situation in New Caledonia. University of the Sunshine Coast, Maroochydore, Queensland.
- Glen, M.; Alfenas, A.C.; Zauza, E.A.V.; Wingfield, M.J.; Mohammed, C. 2007. *Puccinia psidii*: a threat to the Australian environment and economy – a review. *Australasian Plant Pathology* 36: 1-16.

- Godoy, C.V.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A. 2001. Alterações na fotossíntese e na transpiração de folhas de milho infetadas por *Phaeosphaeria maydis*. Fitopatologia Brasileira 26: 209-215.
- Gusberti, M.; Gessler, C.; Brogini, G.A.L. 2013. RNA-Seq analysis reveals candidate genes for ontogenic resistance in Malus-Venturia pathosystem. PLoS ONE 8: e78457.
- Herrera-Foessel, S.A.; Singh, R.P.; Lillemo, M.; Huerta-Espino, J.; Bhavani, S.; Singh, S.; Lan, C.; Calvo-Salazar, V.; Lagudah, E.S. 2014. *Lr67/Yr46* confers adult plant resistance to stem rust and powdery mildew in wheat. Theoretical and Applied Genetics 127: 781-789.
- Hu, L.; Li, Y. 2019. Time to fight: molecular mechanisms of age-related resistance. Phytopathology 109: 1500-1508.
- Hunt, P. 1968. Cuticular penetration by germinating uredospores. Transactions of the British Mycological Society 51: 103-112.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. 2019. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Produção Agrícola Municipal. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: 29 de abril de 2019.
- Kawanishi, T.; Uematsu, S.; Kakishima, M.; Kagiwada, S.; Hamamoto, H.; Horie, H.; Namba, S. 2009. First report of rust disease on ohia and the causal fungus, *Puccinia psidii*, in Japan. Journal General Plant Pathology 75: 428-443.
- Kumudini, S.; Godoy, C.V.; Kennedy, B.; Prior, E.; Omielan, J.; Boerma, H.R.; Hershman, D. 2010. Role of host-plant resistance and disease development stage on leaf photosynthetic competence of soybean rust infected leaves. Crop Science 50: 2533-2542.
- Lawson, S.A.; Carnegie, A.J.; Cameron, N.; Wardlaw, T.; Venn, T.J. 2018. Risk of exotic pests to the Australian forest industry. Australian Forestry 81: 3-13.
- Li, B.; Xu, X. 2002. Infection and development of apple scab (*Venturia inaequalis*) on old leaves. Journal of Phytopathology 150: 687-691.
- Lim, T.K.; Manicom, B.Q. 2003. Diseases of guava. In: Ploetz, R.C. Diseases of Tropical Fruit Crops. Cambridge: CAB International, p. 275-289.
- Machado, P.S.; Glen, M.; Pereira, O.L.; Silva, A.A.; Alfenas, A.C. 2015. Epitypification of *Puccinia psidii*, causal agent of guava rust. Tropical Plant Pathology 40: 5-12.
- MacLachlan, J.D. 1938. A rust of the pimento tree in Jamaica, B.W.I. Phytopathology 28: 157-170.

- Manica, I. 2000a. Importância econômica. In: Manica, I.; Icuma, I.M.; Junqueira, N.T.V.; Salvador, J.O.; Moreira, A.; Malavolta, E. (Ed.). Fruticultura tropical: 6. Goiaba. Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 135-191.
- Manica, I. 2000b. Irrigação. In: Manica, I.; Icuma, I.M.; Junqueira, N.T.V.; Salvador, J.O.; Moreira, A.; Malavolta, E. (Ed.). Fruticultura tropical: 6. Goiaba. Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 135-191.
- Manica, I. 2000c. Principais cultivares e melhoramento. In: Manica, I.; Icuma, I.M.; Junqueira, N.T.V.; Salvador, J.O.; Moreira, A.; Malavolta, E. (Ed.). Fruticultura tropical: 6. Goiaba. Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 57-84.
- Marlatt, R.B.; Kimbrough, J.W. 1979. *Puccinia psidii* on *Pimento dioica* in south Florida. Plant Disease Reporter 63: 510-512.
- Martins, M.V.V.; Silveira, S.F.; Maffia, L.A. 2014. Guava fruit loss caused by rust. Summa Phytopathologica 40: 107-113.
- McElrone, A.J.; Sherald, J.L.; Forseth, I.N. 2001. Effects of water stress on symptomatology and growth of *Parthenocissus quinquefolia* infected by *Xylella fastidiosa*. Plant Disease 85: 1160-1164.
- McTaggart, A.R.; du Plessis, E.; Roux, J.; Barnes, I.; Fraser, S.; Granados, G.M.; Ho, W.W.H.; Shuey, L.S.; Drenth. 2020. Sexual reproduction in populations of *Austropuccinia psidii*. European Journal of Plant Pathology 156: 537-545.
- McTaggart, A.R.; Roux, J.; Granados, G.M.; Gafur, A.; Tarrigan, M.; Santhakumar, P.; Wingfield, M.J. 2016. Rust (*Puccinia psidii*) recorded in Indonesia poses a threat to forests and forestry in South-East Asia. Australasian Plant Pathology 45: 83-89.
- McTaggart, A.R.; Shuey, L.S.; Granados, G.M.; du Plessis, E.; Fraser, S.; Barnes, I.; Naidoo, S.; Wingfield, M.J.; Roux, J. 2018. Evidence that *Austropuccinia psidii* may complete its sexual life cycle on Myrtaceae. Plant Pathology 67: 729-734.
- Mellano V. 2006. Rust on myrtle found in San Diego County. Healthy Garden-Healthy Home, University of California Cooperative Extension, Retail Nursery Newsletter 1: 3.
- Ministry for Primary Industries (MPI). 2017. Serious fungal plant disease found on Raoul Island trees, 2017. Disponível em: <<https://www.mpi.govt.nz/news-and-resources/media-releases/serious-fungal-plant-disease-found-on-raoul-island-trees/>>. Acesso em: 13 de março de 2019.
- Morin, L.; Talbot, M.J.; Glen, M. 2014. Quest to elucidate the life cycle of *Puccinia psidii* sensu lato. Fungal Biology 118: 253-263.

- Niks, R.E.; Dekens, R.G. 1991. Prehaustorial and posthaustorial resistance to wheat leaf rust in diploid wheat seedlings. *Phytopathology* 81: 847-851.
- Nogueira Júnior, A.F.; Ribeiro, R.V.; Appezzato-da-Glória, B.; Soares, M.K.M.; Rasera, J.B.; Amorim, L. 2017. *Phakopsora euvitis* causes unusual damage to leaves and modifies carbohydrate metabolism in grapevine. *Frontiers in Plant Science* 8: 1675.
- Nogueira Júnior, A.F.; Ribeiro, R.V.; Marcos, F.C.C.; Amorim, L. 2019. Virtual lesions and photosynthetic damage caused by *Plasmopara viticola* in *Vitis labrusca*. *European Journal of Plant Pathology* 155: 545-555.
- Pegg, G.S.; Giblin, F.R.; McTaggart, A.R.; Guymer, G.P.; Taylor, H.; Ireland, K.B.; Shivas, R. G.; Perry, S. 2014. *Puccinia psidii* in Queensland, Australia: disease symptoms, distribution and impact. *Plant Pathology* 63: 1005-1021.
- Pegg, G.; Taylor, T.; Entwistle, P.; Guymer, G.; Giblin, F.; Carnegie, A. 2017. Impact of *Austropuccinia psidii* (myrtle rust) on Myrtaceae-rich wet sclerophyll forests in south east Queensland. *PLoS ONE* 12: e0188058.
- Piccinin, E.; Pascholati, S.F.; Di Piero, R.M.; Cia, P.; Silva, B.M.P. 2016. Doenças da goiabeira. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. (Ed.). *Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas*. v.2. 5ª. Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p. 463-468.
- Pinkard, E.A.; Mohammed, C.L. 2006. Photosynthesis of *Eucalyptus globulus* with *Mycosphaerella* leaf disease. *New Phytologist* 170: 119-127.
- Prasch, C.M.; Sonnewald, U. 2013. Simultaneous application of heat, drought, and virus to *Arabidopsis* plants reveals significant shifts in signaling networks. *Plant Physiology* 162: 1849-1866.
- Rejeb, I.B.; Pastor, V.; Mauch-Mani, B. 2014. Plant responses to simultaneous biotic and biotic stress: molecular mechanisms. *Plants* 3: 458-475.
- Robert, C.; Bancal, M.; Ney, B.; Lannou, C. 2005. Wheat leaf photosynthesis loss due to leaf rust, with respect to lesion development and leaf nitrogen status. *New Phytologist* 165: 227-241.
- Roberts, A.M.; Walters, D.R. 1988. Photosynthesis in discrete regions of leek leaves infected with the rust, *Puccinia allii* Rud. *New Phytologist* 110.3: 371-376.
- Roux, J.; Greyling, I.; Coutinho, T.A.; Verleur, M.; Wingfield, M.J. 2013. The myrtle rust pathogen, *Puccinia psidii*, discovered in Africa. *IMA Fungus* 4: 155-159.

- Ruiz, R.A.R.; Alfenas, A.C.; Ferreira, F.A.; Vale, F.X.R. 1989. Influência da temperatura, do tempo de molhamento foliar, fotoperíodo e da intensidade de luz sobre a infecção de *Puccinia psidii* em eucalipto. *Fitopatologia Brasileira* 14: 55-61.
- Shtienberg, D. 1992. Effects of foliar diseases on gas exchange processes: a comparative study. *Phytopathology* 82: 760-765.
- Scholes, J.D.; Rolfe, S.A. 1996. Photosynthesis in localised regions of oat leaves infected with crown rust (*Puccinia coronata*): quantitative imaging of chlorophyll fluorescence. *Planta*, 199: 573-582.
- Silva, J.G.F.; Coelho, E.F. 2003. Manejo da irrigação. In: Costa, A.F.S.; Costa, A.N. (Ed.). *Tecnologias para produção de goiaba*. Vitória: Incaper, p. 159-204.
- Silva-Souza, R.R.; da Silva, A.C.; Rodella, R.A.; Serrão, J.E.; Zanuncio, J.C.; Furtado, E.L. 2017. Pre-infection stages of *Austropuccinia psidii* in the epidermis of *Eucalyptus* hybrid leaves with different resistance levels. *Forests* 8: 1-12.
- Silveira, P.R.; Nascimento, K.J.T.; Andrade, C.C.L.; Bispo, W.M.S.; Oliveira, J.R.; Rodrigues, F.A. 2015. Physiological changes in tomato leaves arising from *Xanthomonas gardneri* infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 92: 130-138.
- Simpson, J.A.; Thomas, K.; Grgurinovic, C.A. 2006. Uredinales species pathogenic on species of Myrtaceae. *Australasian Plant Pathology* 35: 549-562.
- Soewarto, J.; Carriconde, F.; Hugot, N.; Bocs, S.; Hamelin, C.; Maggia, L. 2018. Impact of *Austropuccinia psidii* in New Caledonia, a biodiversity hotspot. *Forest Pathology* 48: e12402.
- Steimetz, E.; Trouvelot, S.; Gindro, K. Bordier, A.; Poinssot, B.; Adrian, M.; Daire, X. 2012. Influence of leaf age on induced resistance in grapevine against *Plasmopara viticola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 79: 89-96.
- Southerton, S.G.; Deverall, B.J. 1989. Histological studies of the expression of the Lr9, Lr20 and Lr28 alleles for resistance to leaf rust in wheat. *Plant Pathology* 38: 190-199.
- Taiz, L.; Zeiger, E.; Møller, I.M.; Murphy, A. 2017. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6ª. Ed. Porto Alegre: Artmed, 858 p.
- Tessmann, D.J.; Dianese, J.C.; Miranda, A.C.; Castro, L.H.R. 2001. Epidemiology of a Neotropical rust (*Puccinia psidii*): periodical analysis of the temporal progress in a perennial host (*Syzygium jambos*). *Plant Pathology* 50: 725-731.
- Tommerup, I.C.; Alfenas, A.C.; Old, K.M. 2003. Guava rust in Brazil – a threat to *eucalyptus* and other Myrtaceae. *New Zealand Journal of Forestry Science* 33: 420-428.

- Uchida, J.; Zhong, S.; Killgore, E. 2006. First report of a rust disease on Ohia caused by *Puccinia psidii* in Hawaii. *Plant Disease* 90: 524.
- Weise, J.; Kranz, T.; Schbert, S. 2004. Induction of pathogen resistance in barley by abiotic stress. *Plant Biology* 6: 529-536.
- Winter, G. 1884. Repertorium. Rabenhorstii Fungi europaei et extraeuropaei, Cent. XXXI et XXXII, cura Dr. G. Winter. *Hedwigia* 23: 164-172.
- Whalen, M.C. 2005. Host defence in a developmental context. *Molecular Plant Pathology* 6: 347-360.
- Xavier, A.A.; Alfenas, A.C.; Matsuoka, K.; Hodges, C.S. 2001. Infection of resistant and susceptible *Eucalyptus grandis* genotypes by urediniospores of *Puccinia psidii*. *Australasian Plant Pathology* 30: 277-281.
- Xavier, A.A.; Silva, A.C.; Guimarães, L.M.S.; Matsuoka, K.; Hodges, C.S.; Alfenas, A.C. 2015. Infection process of *Puccinia psidii* in *Eucalyptus grandis* leaves of different ages. *Tropical Plant Pathology* 40: 318-325.
- Yong, W.T.L.; Ades, P.K.; Tibbits, J.F.G.; Bossinger, G.; Runa, F.A.; Sandhu, K.S.; Taylor, P.W.J. 2019. Disease cycle of *Austropuccinia psidii* on *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus obliqua* leaves of different rust response phenotypes. *Plant Pathology* 68:547-556.
- Zhuang, J.Y.; Wei, S.X. 2011. Additional materials for the rust flora of Hainan Province, China. *Mycosystema* 30: 853-860.

## 2. COMPONENTES MONOCÍCLICOS DA FERRUGEM E TROCAS GASOSAS EM FOLHAS JOVENS E MADURAS DE GOIABEIRA

### RESUMO

*Austropuccinia psidii*, agente causal da ferrugem das mirtáceas, esteve por muitos anos restrito às Américas. No entanto, após sua introdução no continente asiático, em 2007, o patógeno já foi descrito em 28 países distribuídos na América, Ásia, África e Oceania. Além de sua distribuição global, o que torna *A. psidii* uma grande ameaça é sua ampla gama de hospedeiros dentro da família Myrtaceae. No Brasil, a ferrugem das mirtáceas é a principal doença fúngica da goiabeira, podendo ocasionar danos significativos na produção de frutos. Apesar disso, as informações sobre a epidemiologia dessa doença na goiabeira são escassas. A resistência ontogênica a *A. psidii*, por exemplo, já foi relatada para várias espécies de mirtáceas, mas não há informação sobre o impacto dessa resistência na epidemiologia da ferrugem e nas trocas gasosas de folhas de goiabeira. Os objetivos deste estudo foram: quantificar os componentes monocíclicos da ferrugem em folhas jovens e maduras; avaliar as limitações fotossintéticas provocadas pela doença em folhas jovens; avaliar se a resistência ontogênica impõe algum custo fotossintético para as folhas maduras de goiabeira cv. Paluma. Na primeira parte do trabalho, os componentes monocíclicos da ferrugem e as trocas gasosas em folhas jovens e maduras, sadias ou inoculadas com  $10^5$  urediniósporos de *A. psidii*.mL<sup>-1</sup>, foram quantificados ao longo do tempo. Além disso, a taxa de germinação de urediniósporos de *A. psidii* em folhas jovens e maduras foi quantificada ao microscópio eletrônico de varredura. Na segunda parte, experimentos foram realizados para avaliar as limitações fotossintéticas impostas por *A. psidii* em folhas jovens de goiabeira. Para tanto, folhas jovens de mudas de goiabeira foram inoculadas com diferentes concentrações de inóculo e tiveram suas trocas gasosas e fluorescência da clorofila medidas aos 20 dias após a inoculação. A redução na fotossíntese relativa ( $Px/Po$ ) foi relacionada à severidade da doença ( $x$ ) pela equação  $Px/Po = (1 - x)^\beta$ . Folhas maduras de goiabeira foram completamente resistentes à infecção de *A. psidii* e essa resistência não esteve relacionada, exclusivamente, à inibição da germinação dos urediniósporos. As taxas de germinação dos urediniósporos nas folhas jovens e maduras foram de 90% e 68%, respectivamente. Nas folhas jovens, altamente suscetíveis a *A. psidii*, houve elevada densidade de lesões (média de 58 lesões.cm<sup>-2</sup>), alta severidade da doença (média de 50% da área foliar doente) e elevada produção de urediniósporos (média de  $2,5 \cdot 10^4$  urediniósporo por lesão). Folhas jovens inoculadas com *A. psidii* apresentaram 80% de redução na assimilação de CO<sub>2</sub> aos 20 dias após a inoculação e essa redução foi proporcional à severidade da doença, como indicado pelo parâmetro  $\beta$  de 2,13. A redução fotossintética das folhas doentes não foi decorrente de limitações estomáticas, mas de limitações bioquímicas e fotoquímicas. Não foram observados sintomas de ferrugem em folhas maduras e a resistência à infecção não ocasionou qualquer custo fotossintético a essas folhas.



Palavras-chave: Ferrugem das mirtáceas; Resistência ontogênica; *Austropuccinia psidii*; Monociclo da ferrugem; Limitações fotossintéticas

## ABSTRACT

*Austropuccinia psidii*, the causal agent of Myrtle rust, was for many years restricted to the Americas. However, after its introduction to the Asian continent in 2007, the pathogen has already been described in 28 countries at America, Asia, Africa and Oceania continents. The wide range of Myrtaceae host species make *A. psidii* a global threat. In Brazil, Myrtle rust is the main fungal disease in guava, causing significant damage to fruit production. Despite this, there are few studies on the guava rust epidemiology. Ontogenic resistance to *A. psidii*, for example, has already been reported for several Myrtaceae species, but there is no information on the impacts of this resistance on the rust epidemiology and on the gas exchange in guava leaves. The objectives of this study were: to quantify the monocyclic components of rust in young and old leaves; to evaluate the photosynthetic limitations caused by the disease in young leaves; to evaluate whether the ontogenic resistance imposes some photosynthetic cost for the old leaves of guava plants cv. Paluma. In the first part of this study, the monocyclic components of guava rust and gas exchange in young and old leaves, healthy or inoculated with  $10^5$  urediniospores of *A. psidii*.mL<sup>-1</sup>, were quantified along the time. In addition, the germination rate of urediniospores of *A. psidii* in young and old leaves was quantified using a scanning electron microscope. In the second part of this study, experiments were performed to evaluate the photosynthetic limitations imposed by *A. psidii* in young guava leaves. For this, young leaves of guava plants were inoculated with different concentrations of *A. psidii* inoculum and had its gas exchange and chlorophyll fluorescence measured at 20 days post inoculation. Reduction in relative photosynthesis ( $P_x/P_o$ ) was related to disease severity ( $x$ ) by the equation  $P_x/P_o = (1 - x)^\beta$ . Old leaves were completely resistant to *A. psidii* infection and this resistance was not related exclusively to the urediniospores germination inhibition. The germination rates of urediniospores in young and old leaves were 90% and 68%, respectively. In young leaves, highly susceptible to *A. psidii*, there was a high density of lesions (average of 58 lesions.cm<sup>-2</sup>), high disease severity (average of 50% of the diseased leaf area) and high production of urediniospores (average of  $2.5 \cdot 10^4$  urediniospores per lesion). CO<sub>2</sub> assimilation was decreased by 80% at 20 days post inoculation in young leaves and this reduction was proportional to the disease severity as indicated by  $\beta$  parameter ( $\beta = 2.13$ ). Photosynthetic reduction in diseased leaves was not due to stomatal limitations, but to biochemical and photochemical limitations. No rust symptoms were observed in old leaves and resistance to *A. psidii* infection did not cause any photosynthetic cost to these leaves.

Keywords: Myrtle rust; Ontogenic resistance; *Austropuccinia psidii*; Monocycle of rust; Photosynthetic limitations

## 2.1. Introdução

A ferrugem das mirtáceas é uma doença de importância global capaz de infectar cerca de 480 espécies de plantas da família Myrtaceae (Soewarto et al., 2019). Atualmente, *Austropuccinia psidii* tem sido alvo de vários estudos, em virtude de sua disseminação global (Carnegie & Pegg, 2018). O patógeno foi descrito pela primeira vez como *Puccinia psidii* em 1884, infectando folhas de goiabeira (*Psidium guajava*) no Brasil (Coutinho et al., 1998), onde a ferrugem permanece como a principal doença fúngica da cultura (Junqueira, 2000; Piccinin et al., 2016). A ferrugem da goiabeira pode ocasionar, sob condições ambientais favoráveis e ausência de controle químico, redução na produção de frutos superior a 80% (Goes et al., 2004; Martins et al., 2014). Apesar de endêmica no Brasil, informações sobre a epidemiologia da ferrugem da goiabeira são escassas, embora haja muita informação sobre a ferrugem do eucalipto (Ferreira, 1981; Castro et al., 1984; Ruiz et al., 1989a; Ruiz et al., 1989b; Ruiz et al., 1989c; Xavier et al., 2001; Kriticos et al., 2013; Xavier et al., 2015; Silva-Souza et al., 2017; Yong et al., 2019) e do jambuí (Hunt, 1968; Blum et al., 1989; Ruiz et al., 1989b; Blum & Dianese, 2001; Tessmann et al., 2001; Aparecido et al., 2003a), ambas causadas por *A. psidii*. Todavia, em razão da alta variabilidade patogênica (Castro et al., 1983; Coutinho & Figueiredo, 1984; Coelho et al., 2001; Aparecido et al., 2003b; Morin et al., 2012; Aparecido et al., 2013), genética (Graça et al., 2013; Quecine et al., 2013; Sandhu et al., 2016) e proteômica (Quecine et al., 2016) entre isolados de *A. psidii* de diferentes espécies de mirtáceas, as informações já existentes para a ferrugem em outras mirtáceas não podem ser extrapoladas para a goiabeira.

Apesar dos danos da ferrugem à goiabeira estarem relacionados, principalmente, ao abortamento de botões florais e à queda de frutos (Martins et al., 2014; Piccinin et al., 2016), agentes causais de ferrugens, interferem também no processo de fotossíntese da planta (Bedendo et al., 2018). Vários estudos têm mostrado que patógenos causadores de ferrugens interferem negativamente na atividade fotossintética das plantas (Roberts & Walters, 1988; Scholes & Rolfe, 1996; Robert et al., 2005; Kumudini et al., 2010; Alves et al., 2011; Nogueira Júnior et al., 2017). Já se sabe, por exemplo, que a redução da fotossíntese líquida da planta provocada por esses patógenos é, geralmente, de magnitude proporcional à severidade da doença (Shtienberg, 1992; Bassanezi et al., 2001; Robert et al., 2005; Kumudini et al., 2010; Alves et al., 2011). Isso está associado com o tipo de relação trófica entre o patógeno e o hospedeiro. Fungos biotróficos causam menores danos nos tecidos foliares, pois necessitam do hospedeiro vivo para extrair os nutrientes, enquanto que patógenos

necrotróficos são mais agressivos e, portanto, causam severa redução na fotossíntese (Shtienberg, 1992). Não há para a goiabeira, no entanto, estudos sobre as limitações fotossintéticas impostas pela infecção de *A. psidii*.

A resistência das plantas aos patógenos pode ser influenciada por vários fatores, incluindo o estágio de desenvolvimento dos órgãos da planta, conhecida como resistência ontogênica ou relacionada à idade (Steimetz et al., 2012). A suscetibilidade do tecido do hospedeiro pode aumentar ou diminuir durante o ciclo da cultura, a depender da doença. A resistência ontogênica já foi relatada em vários patossistemas, como *A. psidii* em mirtáceas (Hunt, 1968; Xavier et al., 2015; Silva-Souza et al., 2017; Beresford et al., 2020), *Venturia inaequalis* em macieira (Gessler & Stumm, 1984; Li & Xu, 2002), *Puccinia arachidis* em amendoim (Savary, 1987), *Phakopsora pachyrhizi* em soja (Melching et al., 1988; Furtado et al., 2009; Xavier et al., 2017), *Podosphaera aphanis* em morangueiro (Asalf et al., 2014) e *Elsinoë ampelina* (Brook, 1973), *Uncinula necator* (Ficke et al., 2002; Gee et al., 2008) e *Plasmopara viticola* (Steimetz et al., 2012) em videira. Apesar da variabilidade entre os patossistemas, alguns autores sugerem que quanto mais jovens são os tecidos do hospedeiro mais rápido e intenso serão o crescimento e a multiplicação de fungos biotróficos (Populer, 1978; Zadoks & Schein, 1979). Dessa forma, a resistência contra fungos biotróficos geralmente aumenta com a idade do órgão afetado. Estudos mostram que apenas tecidos jovens de mirtáceas são suscetíveis à infecção por *A. psidii* e folhas maduras ou totalmente expandidas são resistentes. A resistência à infecção por *A. psidii* em folhas maduras de eucalipto ocorre na fase de pré-penetração e se deve, entre outros fatores, à maior quantidade de cera epicuticular nas folhas maduras (Xavier et al., 2015; Silva-Souza et al., 2017). Entretanto, o mecanismo de penetração de *A. psidii* ainda não foi elucidado em folhas de goiabeira.

Respostas de defesa em interações incompatíveis podem ocasionar modificações no metabolismo primário e secundário da planta (Berger et al., 2007), resultando em limitações na atividade fotossintética (Nogueira Júnior et al., 2020; Swarbrick et al., 2006). *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira, reduz as trocas gasosas de cultivares resistentes mais rápida e severamente que em cultivares suscetíveis. O reconhecimento seguido por respostas de defesa do hospedeiro apresenta alto custo fotossintético para a videira, em razão da produção de espécies reativas de oxigênio e das alterações no metabolismo celular (Nogueira Júnior et al., 2020). Em interações incompatíveis entre cevada e *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*, a fotossíntese também é severamente inibida (Swarbrick et al., 2006). Em ambos os patossistemas, portanto, a resistência tem um custo fotossintético para o hospedeiro. Em

contrapartida, *A. psidii* reduz as trocas gasosas apenas em clone de eucalipto suscetível (Alves et al., 2011).

Nesse contexto, os objetivos do presente estudo foram: quantificar os componentes monocíclicos da ferrugem em folhas jovens e maduras de goiabeira cv. Paluma, avaliar as limitações fotossintéticas provocadas pela doença em folhas jovens de cv. Paluma e avaliar se a resistência ontogênica impõe algum custo fotossintético para as folhas maduras de cv. Paluma.

## **2.2. Material e métodos**

### **2.2.1. Material vegetal**

Mudas de goiabeira da cv. Paluma, de aproximadamente 30 cm de altura, foram adquiridas de viveirista localizado no município de Brotas-SP, transplantadas em vasos de plástico de 7 L, contendo 6 L de substrato esterilizado de textura franco argilo-arenosa (241, 59 e 700 g.kg<sup>-1</sup> de argila, silte e areia, respectivamente) e mantidas em casa-de-vegetação. As adubações foram realizadas mensalmente via solo e via foliar, de acordo com as exigências nutricionais da goiabeira (Costa & Costa, 2003) e as análises químicas do substrato. Os vasos foram irrigados, diariamente, com aproximadamente 200 mL de água por vaso.

### **2.2.2. Obtenção e manutenção do isolado monopustular de *Austropuccinia psidii***

O inóculo de *A. psidii* foi coletado em folhas de goiabeira cv. Paluma, cultivadas no campo experimental da ESALQ-USP, localizado no município de Piracicaba, SP (22°42'28.5" S, 47°37'43.0" O). Os urediniósporos presentes nas folhas sintomáticas foram transferidos para 10 mL de água destilada. A suspensão do inóculo foi imediatamente aspergida em folhas de ramos destacados de goiabeira, mantidos em Becker com água em câmaras com temperatura controlada (B.O.D.), a  $23 \pm 2$  °C, temperatura ótima para o desenvolvimento da doença (Ruiz et al., 1989c). Após a inoculação, os ramos permaneceram no escuro, em câmara úmida por 24 h. Para a câmara úmida, os recipientes contendo os ramos foram vedados com saco plástico umedecido. Após esse período eles foram mantidos em B.O.D. sob fotoperíodo de 12 h. Urediniósporos de uma única pústula foram coletados 15 dias após a inoculação e transferidos para 5 mL de água destilada. O inóculo foi depositado, com o auxílio de um pincel de cerdas macias, na face abaxial de folhas jovens de goiabeira cv.

Paluma e, na sequência, a planta foi incubada em câmara úmida por 24 h, no escuro a 23 °C ( $\pm$  2 °C). Após esse período, a muda foi transferida para casa-de-vegetação. O isolado monopustular foi multiplicado através de inoculações sucessivas em mudas de goiabeira cv. Paluma e, posteriormente, foi caracterizado molecularmente para confirmação da espécie.

O isolado foi mantido em goiabeiras envasadas por meio de inoculações mensais com suspensões na concentração de  $10^4$  urediniósporos.mL<sup>-1</sup>, acrescidas de Tween 20 (0,05%). As inoculações foram realizadas com uso de uma pistola de ar comprimido, nas faces abaxial e adaxial das folhas jovens, com a aplicação de aproximadamente 10 mL de suspensão por planta, até o ponto de escorrimento. Após as inoculações, as plantas foram incubadas em câmara úmida, por 24 h, sob temperatura de 23 °C ( $\pm$  2 °C) e ausência de luz. Após incubação em câmara úmida, as plantas foram transferidas para casa-de-vegetação. Adicionalmente à manutenção do isolado *in vivo*, urediniósporos do isolado foram preservados em ultra freezer (-80 °C), com coletas realizadas a cada 90 dias (Alves et al., 2018).

### **2.2.3. Caracterização molecular do isolado monopustular de *Austropuccinia psidii***

DNA genômico foi extraído de urediniósporos do isolado monopustular, utilizando o método de extração de DNA em *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* – CTAB, adaptado de Lo Piccolo et al. (2012). Urediniósporos foram macerados em nitrogênio líquido, em cadinho com o auxílio de pistilo, e o macerado foi ressuspensionado em 500  $\mu$ L de tampão de extração CTAB (2% de CTAB; 100 mM de Tris-HCl, pH 8; 20 mM de EDTA, pH 8; 1,4 M de NaCl; 0,1 mg.mL<sup>-1</sup> de proteinase K) pré-aquecido (60 °C). Em seguida, 1,5 mL da amostra foi transferida para um tubo de 2 mL, onde foram adicionados 3  $\mu$ L de  $\beta$ -mercaptoetanol. Os tubos foram mantidos em banho-maria a 65 °C por 60 min, com inversões a cada 15 min e, na sequência, foram centrifugados a 14.000 rpm por 14 min a 4 °C. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 1,5 mL, recebeu igual volume de clorofórmio:álcool (24:1) e misturado por inversão. Os tubos foram novamente centrifugados a 14.000 rpm por 14 min a 4 °C. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 1,5 mL, recebeu igual volume de isopropanol (-20 °C) e misturado por inversão. As amostras foram incubadas durante a noite a -20 °C. No dia seguinte, foram centrifugadas a 14.000 rpm por 15 min a 4 °C e o sobrenadante foi descartado. As amostras de DNA foram lavadas com 350  $\mu$ L de etanol a 70% (-20 °C) e centrifugadas a 14.000 rpm por 5 min a 4 °C. Os sedimentos de DNA foram secos ao ar a 37

°C durante 30 min e depois ressuspensos em 40 µL de tampão 1x TE (pH 8). Por fim, 1 µL de RNase (10 mg.mL<sup>-1</sup>) foi adicionado e as amostras foram incubadas a 37 °C por 30 min.

As reações em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas em termociclador, nas seguintes condições: pré-aquecimento a 94 °C por 3 min, seguido de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 60 s, anelamento a 53 °C por 60 s, extensão a 72 °C por 60 s e uma extensão final de 72 °C por 10 min. Os pares de primers usados foram ITS1 e ITS4 (White et al., 1990) e Rust2inv e NL4 (Aime, 2006; O'Donnell, 1993). Os produtos da PCR foram detectados por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com SYBR Safe (Invitrogen), em tampão 0,5x Tris-borato-EDTA (TBE) e visualizados em aparelho transluminador com luz UV. Posteriormente, os produtos detectados foram purificados com auxílio do kit de purificação Promega, sendo sua pureza e concentração determinadas através de espectrofotômetro NanoDrop 1000 (ThermoScientific). A concentração final foi ajustada para 10 ng de DNA.µL<sup>-1</sup>. Os produtos da PCR purificados foram enviados para sequenciamento no Laboratório de Genômica e Biologia Molecular de Plantas do Centro de Biotecnologia Agrícola (CEBTEC) da ESALQ-USP.

#### 2.2.4. Determinação da área foliar de goiabeira

O estágio de desenvolvimento das folhas de goiabeira foi estimado com base na área foliar. Para calcular a área foliar foram medidos, com uma régua, o comprimento (distância entre a junção do pecíolo e o limbo foliar até o ápice da folha) e a largura máxima das folhas. Essas medidas foram realizadas em 670 folhas de goiabeira cv. Paluma. As áreas foliares dessa amostra foram estimadas com um medidor de área foliar (Li-3050A/4, LI-COR, EUA). Os modelos linear (eq. 1) e exponencial (eq. 2 e 3) foram ajustados aos dados no programa Statistica v.7 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA), utilizando como variáveis independentes ( $x$ ) o comprimento (cm), a largura (cm) ou o produto de comprimento pela largura (cm<sup>2</sup>), e como variável dependente ( $y$ ) a área foliar estimada (cm<sup>2</sup>). A escolha do melhor ajuste foi baseada no coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e na distribuição dos resíduos.

$$y = a + bx \quad (\text{eq. 1})$$

$$y = a x^b \quad (\text{eq. 2})$$

$$y = a \exp(bx) \quad (\text{eq. 3})$$

Após a determinação do melhor modelo para a estimativa da área foliar, dois experimentos foram conduzidos em épocas diferentes (abril-maio e setembro-outubro) para estabelecer uma relação entre a área foliar e o estágio de desenvolvimento das folhas de goiabeira. Em cada experimento, as áreas de duas folhas opostas recém-abertas por planta foram avaliadas, diariamente ou a cada dois dias, até a completa expansão da área foliar. Cada experimento teve 10 repetições (10 plantas). Os modelos monomolecular (eq. 4) e Gompertz (eq. 5)

$$y = y_{\max} - (y_{\max} - b_1) \exp(-rt) \quad (\text{eq. 4})$$

$$y = y_{\max} (\exp(-(-\ln(b_1)) \exp(-rt))) \quad (\text{eq. 5})$$

nos quais  $y$  representa a área foliar estimada ( $\text{cm}^2$ ),  $y_{\max}$  representa a assíntota,  $b_1$  é um parâmetro relacionado à área foliar inicial,  $r$  representa a taxa de incremento da área foliar ( $\text{dia}^{-1}$ ) e  $t$ , o tempo (dias após a emergência das folhas), foi ajustado à curva de área foliar ao longo do tempo (Bergamin Filho, 2018), por regressão não-linear, utilizando o programa Statistica v.7 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA).

### **2.2.5. Componentes monocíclicos da ferrugem e trocas gasosas em folhas jovens e maduras de goiabeira**

Folhas jovens, de aproximadamente 3 dias, e maduras, de aproximadamente 12 dias, de goiabeiras envasadas (Apêndice A) foram inoculadas com suspensão de *A. psidii* na concentração de  $10^5$  urediniósporos. $\text{mL}^{-1}$ , acrescida de Tween 20 (0,05%). A inoculação foi realizada da mesma forma descrita no item 2.2.2. Após 24 h em câmara úmida, as plantas foram transferidas para casa-de-vegetação, com controle de temperatura ( $25 \pm 5$  °C), onde permaneceram até o fim do experimento. Como tratamento testemunha, folhas dos mesmos estádios de desenvolvimento foram aspergidas com água destilada e mantidas nas mesmas condições das plantas inoculadas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 repetições, sendo cada repetição representada por uma planta envasada de goiabeira aos 60 dias após a poda, conduzida com duas hastes. O experimento foi repetido uma vez.

A viabilidade do inóculo foi quantificada por meio da germinação dos urediniósporos *in vitro*. Três gotas de 50  $\mu\text{L}$  da suspensão de urediniósporos de *A. psidii* foram depositadas

em placas de Petri de poliestireno (90 x 15 mm), contendo meio ágar-água (16 g.L<sup>-1</sup> de ágar e 1 L de água destilada esterilizada). As placas de Petri foram acondicionadas nas mesmas condições das plantas. Para a avaliação da germinação, foram considerados germinados os urediniósporos que apresentaram o comprimento do tubo germinativo igual ou maior que seu diâmetro.

Os componentes monocíclicos avaliados foram o período de incubação (período de tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das lesões), o período de latência (período de tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das lesões esporulantes), a densidade de lesões (proporção), a severidade da doença (proporção de área lesionada em uma área de 2 cm<sup>2</sup>) e a esporulação das lesões (número de urediniósporos por pústulas aos 25-30 dias após a inoculação). A densidade de lesões esporulantes foi avaliada em três áreas de 1 cm<sup>2</sup> por planta. Essa avaliação foi realizada diariamente, no início dos sintomas, ou a cada 2 dias, após a estabilização da doença. A densidade de lesões foi expressa em proporção (número de lesões esporulantes por cm<sup>2</sup> de folha/número máximo de lesões por cm<sup>2</sup> de folha em cada experimento). A severidade da doença foi quantificada com o programa Quant (Vale et al., 2001) com base em imagens digitalizadas, de 2 cm<sup>2</sup> de folha por repetição.

A esporulação das lesões foi avaliada 25-30 dias após a inoculação. Para tanto, três discos foliares de 1,13 cm<sup>2</sup> de cada planta foram retirados e transferidos para tubo Falcon (15 mL) contendo 2 mL de água destilada e 0,2 mL de lactoglicerol. A suspensão contendo os discos foi homogeneizada em agitador (AP-59, Phoenix) por 1 min para remoção dos urediniósporos e, na sequência, os discos foliares foram removidos da suspensão. Por fim, a concentração de urediniósporos da suspensão foi determinada com hemocítômetro. A esporulação das lesões foi obtida a partir da razão entre a concentração de urediniósporos da suspensão e o número de lesões esporulantes existentes nos discos foliares.

O modelo monomolecular (eq. 4) no qual  $y$  representa a intensidade da ferrugem,  $y_{\max}$  representa a assíntota,  $b_1$  é a quantidade inicial de doença,  $r$  representa a taxa de incremento da doença (dia<sup>-1</sup>) e  $t$ , o tempo (dias após a inoculação), foi ajustado às curvas de frequência de infecção e de severidade da doença ao longo do tempo (Bergamin Filho, 2018), por regressão não-linear, utilizando o programa Statistica v.7 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA).

As trocas gasosas das folhas jovens e maduras foram avaliadas com um analisador portátil de gás infravermelho (Li-6400 XT, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA), em áreas marcadas de 2 cm<sup>2</sup>. Nas áreas amostradas foram avaliadas a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ), a concentração intercelular de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) e a transpiração ( $E$ ). A Pressão parcial de CO<sub>2</sub> no ar ( $C_a$ ) e a densidade de fluxo de fótons fotossintéticos ( $PPFD$ )



durante as medidas de trocas gasosas foram de  $400 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  e  $1000 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectivamente. As medições foram realizadas entre 9:00 h e 11:00 h da manhã, semanalmente após inoculação do patógeno. As áreas das folhas selecionadas para essas avaliações foram fotografadas e imagens digitais foram processadas com o programa Quant para estimar a severidade da doença em cada avaliação. Foi considerada como área doente, a área necrosada e a clorose próxima às lesões na face adaxial das folhas. Os dados de trocas gasosas de folhas saudáveis e inoculadas com *A. psidii*, de cada avaliação foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando o programa Statistica v.7 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA), e as médias comparadas pelo teste *t* de Student. Este teste foi realizado tanto nas folhas jovens quanto nas maduras. As áreas abaixo das curvas de *A* e *E* foram estimadas por integração trapezoidal para folhas saudáveis e inoculadas com *A. psidii*. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste *t* de Student nos dois tratamentos: folhas jovens e maduras.

#### **2.2.6. Germinação de urediniosporos de *Austropuccinia psidii* em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)**

Folhas jovens e maduras de goiabeira foram destacadas de plantas cultivadas em casa-de-vegetação e desinfestadas superficialmente por imersão sequencial em álcool 70% por 1 min e em hipoclorito de sódio 0,1% por 1 min. A seguir, as folhas foram lavadas em água esterilizada e secas em temperatura ambiente sobre papel toalha por 30 min. As folhas foram transferidas para caixas plásticas tipo Gerbox (20 x 20 cm) sobre papel filtro umedecido e inoculadas com 70  $\mu\text{L}$  de suspensão de *A. psidii* ( $10^5$  urediniosporos. $\text{mL}^{-1}$ ). A suspensão foi depositada em uma área previamente delimitada de 1  $\text{cm}^2$ . No tratamento testemunha foram depositadas gotas de 70  $\mu\text{L}$  de água destilada. As caixas plásticas foram cobertas e mantidas por 24 h a 23 °C no escuro. Cinco fragmentos (0,5 x 0,5 cm) das folhas foram coletados 24 h após a inoculação.

As amostras de folhas inoculadas ou não inoculadas foram fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965), desidratadas em série etílica (10, 30, 50, 70, 90 e 100%), secas ao método do ponto crítico de  $\text{CO}_2$ , montadas em suportes de alumínio sobre fitas de carbono dupla face e cobertas com uma camada de ouro de 30 a 40 nm em metalizador (MED 010, Balzers Union, Carlsbad, EUA). As análises e a digitalização das imagens foram realizadas ao MEV (JSM-IT300, JEOL, Tóquio, Japão), operado a 20 kv com as escalas impressas diretamente nas eletromicrografias. A taxa de germinação foi avaliada em 100 urediniosporos

arbitrariamente escolhidos em cada amostra. Considerou-se germinado o urediniósporo que apresentou tubo germinativo de tamanho igual ou maior ao seu diâmetro. Essa etapa foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrônica Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima da ESALQ-USP.

### **2.2.7. Relações entre a severidade da ferrugem, trocas gasosas e fluorescência de clorofila em folhas jovens de goiabeira**

Folhas jovens (2-3 dias após a emergência) de goiabeiras conduzidas com duas hastes (Apêndice A) foram inoculadas com suspensões de inóculo em diferentes concentrações para obter diferentes níveis de severidade da ferrugem. Utilizou-se as seguintes concentrações de inóculo: 0,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $5 \cdot 10^4$  e  $10^5$  urediniósporos de *A. psidii*.mL<sup>-1</sup>. A inoculação foi realizada por aspersão da suspensão conforme descrito no item 2.2.2. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. O experimento foi repetido uma vez.

A avaliação das trocas gasosas da folha foi realizada utilizando um analisador portátil de gás infravermelho (Li-6400 XT, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA), em quatro áreas marcadas de 2 cm<sup>2</sup> por planta. As medições foram realizadas entre 9:00 h e 12:00 h, após a estabilização da severidade da ferrugem, aproximadamente 25 dias após a inoculação do patógeno. Nas áreas amostradas foram avaliadas a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*), a condutância estomática (*g<sub>s</sub>*), a concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (*C<sub>i</sub>*), a transpiração (*E*) e a eficiência quântica do fotossistema II ( $\Phi_{PSII}$ ). Posteriormente, foi calculada a eficiência aparente de carboxilação (*A/C<sub>i</sub>*). A Pressão parcial de CO<sub>2</sub> no ar (*C<sub>a</sub>*) e a densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (*PPFD*) durante as medidas de trocas gasosas foram de 400 μmol.mol<sup>-1</sup> e 1000 μmol m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, respectivamente. As áreas das folhas selecionadas para essas avaliações foram fotografadas e imagens digitais foram processadas com o programa Quant (Vale et al., 2008) para estimar a severidade da doença. Foi considerada como área doente, as áreas necrosadas e cloróticas na face adaxial das folhas.

As severidades da ferrugem nas áreas onde foram realizadas as avaliações de trocas gasosas foram relacionadas com a taxa relativa de assimilação de CO<sub>2</sub> de acordo com o modelo (Bastiaans, 1991):

$$Px/Po = (1 - x)^\beta \quad (\text{eq. 6})$$

onde  $P_x$  é a fotossíntese líquida de uma folha com severidade  $x$  e  $P_0$  é a fotossíntese líquida média de folhas saudáveis. Os dados obtidos foram utilizados para estimar o valor de  $\beta$ , o qual corresponde ao efeito da severidade da ferrugem na área da folha verde adjacente à lesão. Esse modelo também foi ajustado às taxas relativas de condutância estomática ( $g_{sx}/g_{s0}$ ) e transpiração ( $E_x/E_0$ ). O modelo linear (eq. 1) foi ajustado à taxa relativa da concentração intercelular de  $CO_2$  ( $C_{ix}/C_{i0}$ ) e à eficiência quântica do fotossistema II ( $\Phi_{PSII}$ ). O modelo exponencial negativo

$$y = a \exp(-bx) \quad (\text{eq. 7})$$

onde  $x$  é a severidade da doença (em proporção), foi ajustado à eficiência aparente de carboxilação ( $A/C_i$ ) (Hau et al., 2018). Todos os ajustes foram realizados com o programa Statistica v.7 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA).

## 2.3. Resultados

### 2.3.1. Determinação da área foliar de goiabeira

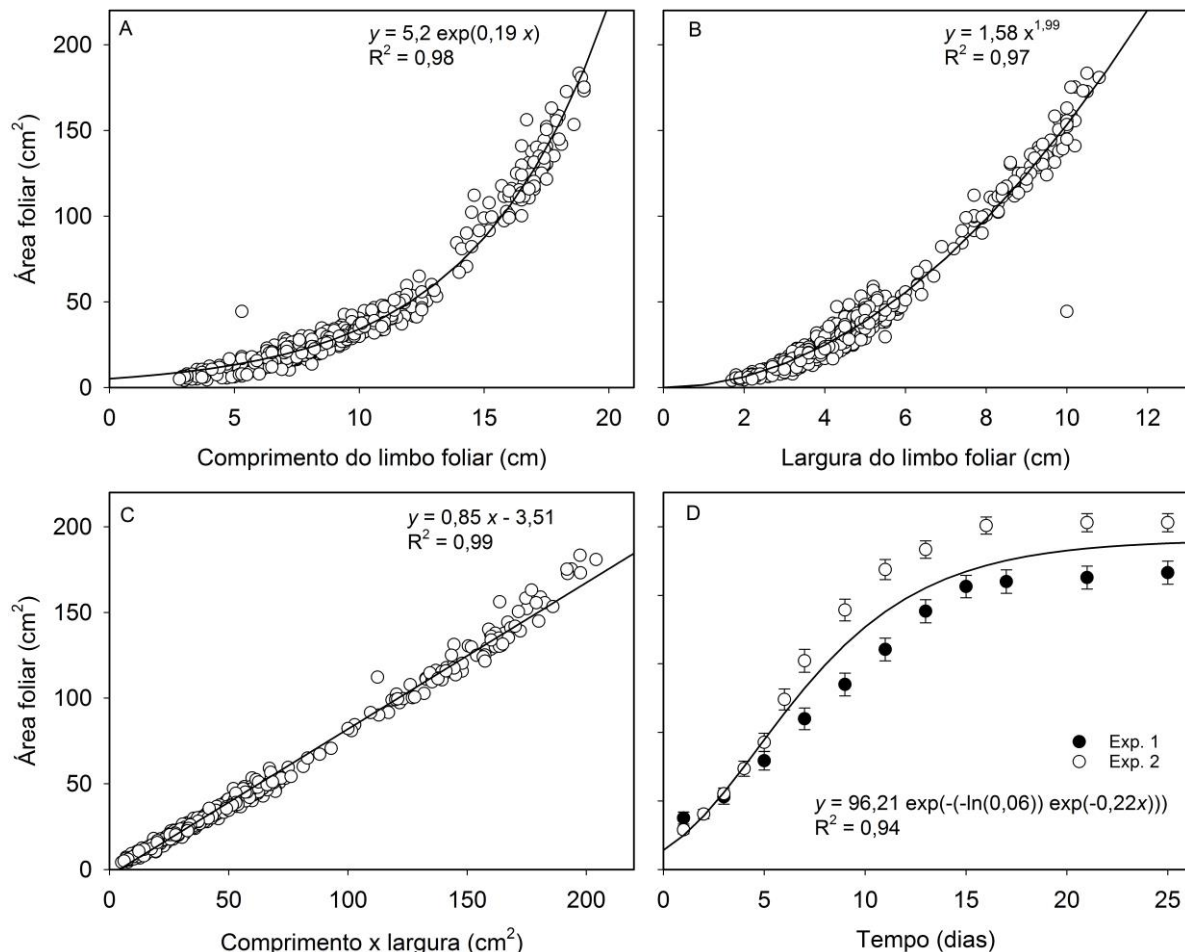
O modelo que melhor se ajustou às áreas de folhas de goiabeira, quando a variável independente foi o comprimento do limbo foliar, foi o exponencial descrito na equação 3 (Tabela 1; Fig. 1A). Quando a variável independente foi a largura do limbo foliar, o modelo que melhor se ajustou às áreas de folhas de goiabeira foi o exponencial descrito na equação 2 (Tabela 1; Fig. 1B). Os modelos linear e exponencial apresentaram bons ajustes às áreas de folhas de goiabeira, quando a variável independente foi o produto do comprimento pela largura do limbo foliar (Tabela 1). Utilizou-se o modelo linear (Fig. 1C) para estimar as áreas de folhas jovens e maduras de goiabeira no decorrer dos experimentos (Apêndice B). A área máxima estimada pelo modelo linear foi de 170,9 cm<sup>2</sup>. Os modelos monomolecular ( $R^2 = 0,92$ ) e Gompertz ( $R^2 = 0,94$ ) mostraram bons ajustes ao incremento da área das folhas de goiabeira ao longo do tempo, mas o modelo de Gompertz apresentou melhor distribuição de resíduos. A área máxima das folhas ( $y_{\max}$ ) estimada pelo modelo foi de 96,2 cm<sup>2</sup> (Fig. 1D). Com os dados das áreas foliares no dia da inoculação, foi possível estimar, com o modelo de Gompertz, o tempo para alcançar os estádios ‘folha jovem’ e ‘folha madura’. O estágio ‘folha jovem’ ocorreu aos 2-3 dias após a emergência das folhas e o estágio ‘folha madura’, aos 10-

13 dias. A ferrugem não alterou a expansão da área foliar de folhas jovens de goiabeira ao longo do tempo em relação às folhas jovens saudáveis (Apêndice B).

**Tabela 1.** Parâmetros e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) estimados pelos ajustes aos modelos que relacionaram a área foliar de folhas de goiabeira cv. Paluma às variáveis comprimento, largura e produto de comprimento pela largura do limbo foliar ( $n = 670$ ).

Modelo	Variável independente								
	Comprimento (C)			Largura (L)			Produto (C x L)		
	<i>a</i>	<i>b</i>	$R^2$	<i>a</i>	<i>b</i>	$R^2$	<i>a</i>	<i>b</i>	$R^2$
$y = ax + b$	9,38	-48,57	0,87	18,64	-47,97	0,94	0,85	-3,51	0,99
$y = a x^b$	0,15	2,39	0,97	1,58	1,99	0,97	0,54	1,09	0,99
$y = a \exp(bx)$	5,2	0,19	0,98	7,99	0,30	0,94	18,05	0,01	0,94

Todos os ajustes foram significativos ( $p \leq 0,01$ ).



**Figura 1.** Relações entre a área foliar de goiabeira cv. Paluma e o comprimento (A), a largura (B) e o produto do comprimento pela largura do limbo foliar (C). Evolução da área foliar de goiabeira cv. Paluma em função do tempo (D). Em D, os círculos pretos representam dados do experimento 1, conduzido em abril e maio de 2020, e os círculos brancos representam dados do experimento 2, conduzido em setembro e outubro de 2020. As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 10$ ). Em A e B, as linhas representam os modelos exponenciais [ $y = a \exp(bx)$ ] e [ $y = ax^b$ ] ( $n = 670$ ), em C, a linha representa o modelo linear ( $y = a + bx$ ) ( $n = 670$ ) e em D, a linha representa o

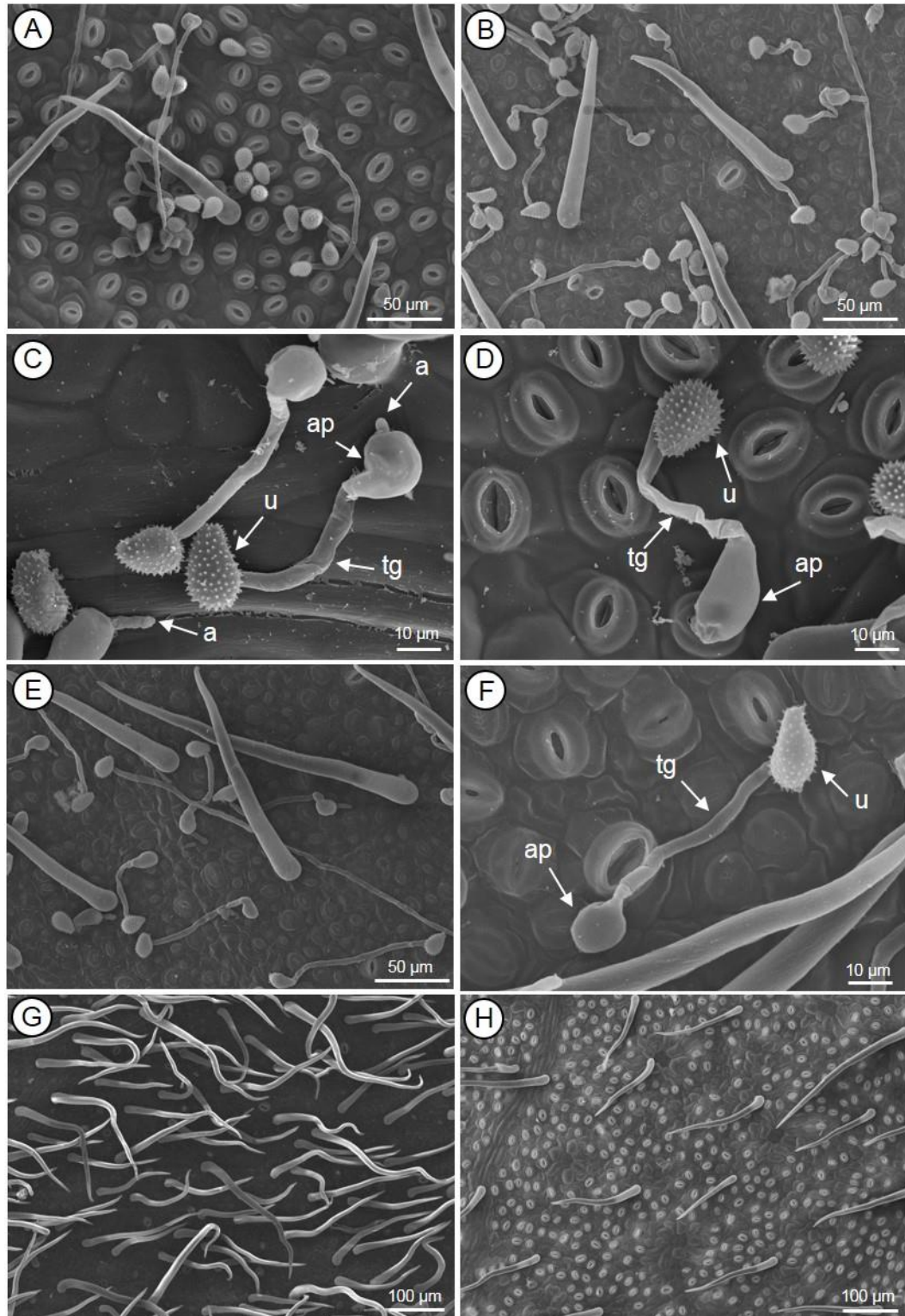
modelo de Gompertz [ $y = y_{\max} (\exp(-\ln(b_1)) \exp(-rt))$ ], onde  $y$  representa a área foliar estimada ( $\text{cm}^2$ ),  $y_{\max}$  representa a assíntota,  $b_1$  é um parâmetro relacionado à área foliar inicial,  $r$  representa a taxa de incremento da área foliar ( $\text{dia}^{-1}$ ) e  $t$ , o tempo (dias após a emergência das folhas)].

### 2.3.2. Caracterização molecular do isolado monopustular de *Austropuccinia psidii*

O isolado monopustular foi identificado como *Austropuccinia psidii*. A sequência de nucleotídeos obtida para *A. psidii* apresentou 99% de similaridade com aquela do acesso KF792096, depositado no GenBank. O isolado monopustular de *A. psidii* utilizado neste estudo foi depositado no banco de dados do GenBank sob número de acesso MN238767 e a sequência de nucleotídeos obtida encontra-se no Apêndice C.

### 2.3.3. Germinação de urediniósporos de *Austropuccinia psidii* em MEV

A taxa de germinação de urediniósporos de *A. psidii* foi significativamente menor ( $p \leq 0,05$ ) nas folhas maduras de goiabeira (Fig. 2A) do que nas folhas jovens (Fig. 2B). A taxa média de germinação de urediniósporos de *A. psidii* em folhas jovens foi de 93%, variando de 88% a 96%. Nas folhas maduras, a taxa de germinação variou de 50 a 82%, com média de 68%. A formação de apressórios foi observada tanto em folhas jovens como em folhas maduras (Fig. 2A e B), predominantemente na junção das células epidérmicas (Fig. 2C). Apressórios também foram observados, ocasionalmente, sobre estômatos (Fig. 2D). O comprimento do tubo germinativo foi variável, de menos de 10  $\mu\text{m}$  a mais de 200  $\mu\text{m}$  (Fig. 2E). Em alguns apressórios, observou-se a formação de um apêndice do lado oposto ao tubo germinativo ou perpendicular a ele, que se projetou sobre a junção das células epidérmicas (Fig. 2C e E), embora apressórios sem apêndice (Fig. 2C e F) também tenham sido observados. Folhas jovens apresentaram maior densidade de tricomas e menor densidade de estômatos em relação às folhas maduras (Fig. 2G e H).



**Figura 2.** Eletromicrografias de varredura do processo de pré-penetração de *Austropuccinia psidii* na face inferior de folhas jovens e maduras de goiabeira cv. Paluma, 24 h após a inoculação. Germinação de urediniósporos e formação de apressórios em folha madura (A) e jovem (B); formação de apressórios com apêndice sobre a junção das células epidérmicas (C); formação de apressório sobre estômato (D); tubos germinativos de diferentes comprimentos (E); formação de apressório sobre a epiderme sem apêndice (F); face inferior de folhas jovem (G) e madura (H) de goiabeira não inoculadas. Setas indicam: u = urediniósporo; tg = tubo germinativo; ap = apressório; a = apêndice.

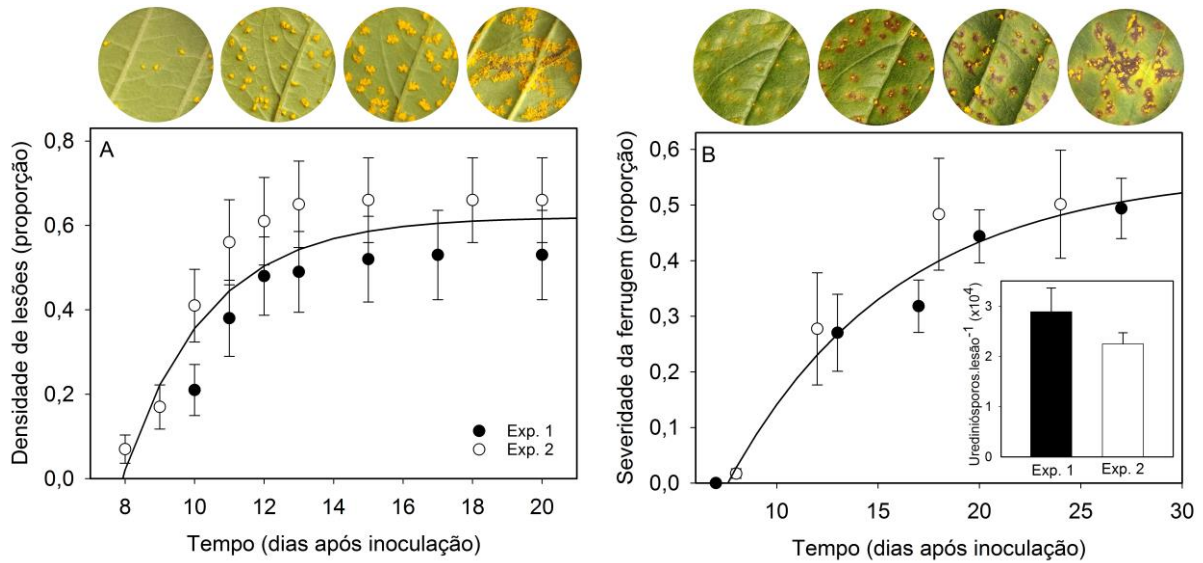
### 2.3.4. Componentes monocíclicos da ferrugem e trocas gasosas em folhas jovens e maduras de goiabeira

Os inóculos de *A. psidii* utilizados nos experimentos 1 e 2 apresentaram taxa de germinação de urediniósporos *in vitro* de 85,67% e 97,27%, respectivamente. A doença não ocorreu nas folhas maduras. Os primeiros sintomas da ferrugem nas folhas jovens foram pontuações cloróticas na face superior das folhas, que evoluíram para lesões necróticas. A esporulação de *A. psidii* ocorreu concomitantemente ao aparecimento dos primeiros sintomas, predominantemente na face inferior das folhas. O crescimento das lesões esporulantes foi ainda mais evidente nas nervuras das folhas, ocasionando a sua deformação, e no ramo da planta, mais precisamente nos entrenós superiores às folhas jovens. Sob altas severidades da ferrugem, os sintomas nas folhas jovens evoluíram rapidamente para extensas áreas necróticas (Apêndice D).

Em folhas jovens, a densidade de lesões de *A. psidii* foi de (mínima, média e máxima): 13,33, 41,00 e 56,67 lesões esporulantes.cm<sup>-2</sup> no primeiro experimento e de 38,67, 76,33 e 102,33 lesões esporulantes.cm<sup>-2</sup> no segundo experimento. O modelo monomolecular mostrou bom ajuste aos dados ( $R^2 = 0,80$ ). O valor da assíntota ( $y_{\max}$ ) estimada para a densidade de lesões foi de 0,62 e a taxa  $r$  de incremento da doença foi de 0,41 dia<sup>-1</sup> (Tabela 2; Fig. 3A). O período de latência da ferrugem estimado em folhas jovens foi de 9,5 dias. A severidade média da ferrugem atingiu aproximadamente 50%, em ambos os experimentos. Assim como para a densidade de lesões, o modelo monomolecular mostrou bom ajuste à severidade da ferrugem, com  $R^2$  de 0,96. O valor estimado de  $y_{\max}$  para a severidade da ferrugem foi de 0,56 e a taxa  $r$  de incremento da doença foi de 0,12 dia<sup>-1</sup> (Tabela 2; Fig. 3B). Aos 25 dias após a inoculação, a esporulação média das lesões foi de  $2,9 \cdot 10^4$  e  $2,2 \cdot 10^4$  urediniósporos.lesão<sup>-1</sup> nos experimentos 1 e 2, respectivamente (Fig. 3B).

**Tabela 2.** Valores dos parâmetros, erro padrão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) estimados pelo modelo monomolecular para o incremento da densidade de lesões esporulantes e da severidade da ferrugem (*Austropuccinia psidii*) ao longo do tempo, em folhas jovens de goiabeira cv. Paluma.

Componentes monocíclicos	$y_{\max}$ (erro)	$b_1$ (erro)	$r$ (erro)	$R^2$	$p$
Densidade de lesões	0,62 (0,045)	-15,27 (15,501)	0,41 (0,118)	0,80	$\leq 0,01$
Severidade da ferrugem	0,56 (0,071)	-0,83 (0,346)	0,12 (0,039)	0,96	$\leq 0,01$



**Figura 3.** Densidade de lesões (A), severidade e esporulação das lesões (B) da ferrugem (*Austropuccinia psidii*) em folhas jovens de goiabeira cv. Paluma. Os círculos pretos representam dados do experimento 1 e os círculos brancos representam dados do experimento 2. As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). As linhas representam o modelo monomolecular [ $y = y_{\max} - (y_{\max} - b_1) \exp(-rt)$ , onde  $y$  representa a densidade de lesões,  $y_{\max}$  representa a assíntota,  $b_1$  é a quantidade inicial de doença,  $r$  representa a taxa de incremento da doença ( $\text{dia}^{-1}$ ) e  $t$ , o tempo (dias após a inoculação)].

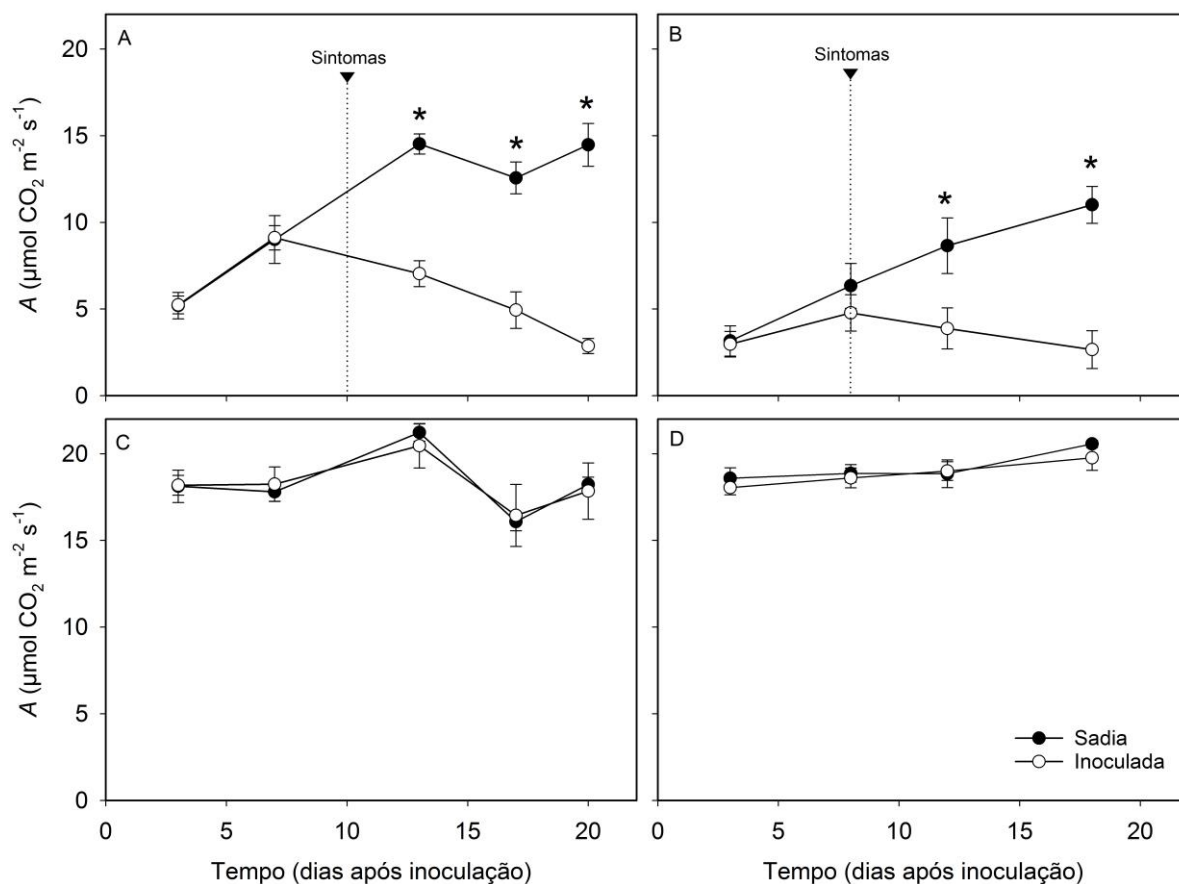
O valor médio de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ) das folhas jovens saudias no experimento 1, aos 20 dias após a inoculação, foi de  $14,5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Fig. 4A). No experimento 2, o valor médio de  $A$  das folhas jovens saudias, aos 18 dias após a inoculação, foi de  $11,0 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Fig. 4B). O valor médio de  $A$  das folhas jovens inoculadas no experimento 1, aos 20 dias após a inoculação, foi de  $2,9 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Fig. 4A). No experimento 2, o valor médio de  $A$  das folhas jovens inoculadas, aos 18 dias após a inoculação, foi de  $2,7 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Fig. 4B). A porcentagem média de redução no valor de  $A$  das folhas jovens para os dois experimentos conjuntamente foi de 80%. Essa redução de  $A$  nas folhas jovens inoculadas foi significativa a partir de 13 e 12 dias após a inoculação, nos experimentos 1 e 2, respectivamente (Fig. 4A e B). Os valores de áreas abaixo das curvas (AUC) de  $A$  foram significativamente menores em folhas inoculadas com *A. psidii* do que em folhas saudias, em ambos os experimentos (Tabela 3). Em contrapartida, folhas maduras saudias e inoculadas não apresentaram diferença significativa nos valores de  $A$ , em ambos os experimentos (Tabela 3). Os valores médios de  $A$  das folhas maduras saudias e inoculadas no experimento 1, aos 20 dias após a inoculação, foram de  $18,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $17,8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 4C). No experimento 2, os valores médios de  $A$  das folhas maduras saudias e inoculadas, aos 18 dias após a inoculação, foram de  $20,6 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $19,8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 4D).



**Tabela 3.** Valores das áreas abaixo das curvas de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (AUCA) e de transpiração (AUCE) de folhas jovens e maduras de goiabeira cv. Paluma, sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, nos dois experimentos.

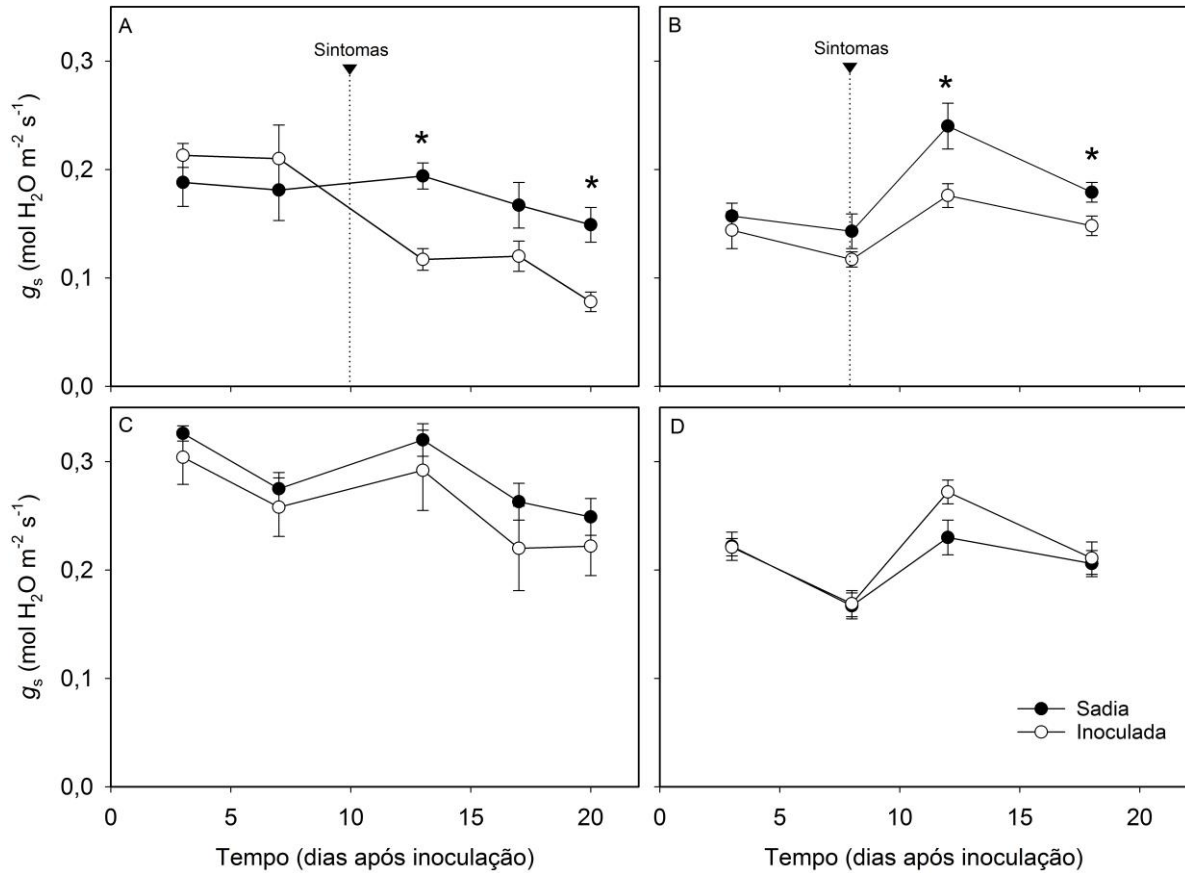
Estádio de desenvolvimento	<i>A. psidii</i>	Experimento 1		Experimento 2	
		AUCA mol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup>	AUCE kmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup>	AUCA mol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup>	AUCE kmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup>
Folha jovem	Sadia	8,37 a	2,43 a	4,87 a	1,82 a
	Inoculada	4,87 b	2,04 a	2,43 b	1,55 a
Folha madura	Sadia	13,61 a	3,52 a	12,41 a	1,95 a
	Inoculada	13,57 a	3,27 a	12,23 a	2,13 a

Valores seguidos pela mesma letra na coluna entre folhas sadias e inoculadas em cada tratamento (folha jovem e madura) não são significativamente diferentes pelo teste *t* de Student ( $p \leq 0,05$ ).



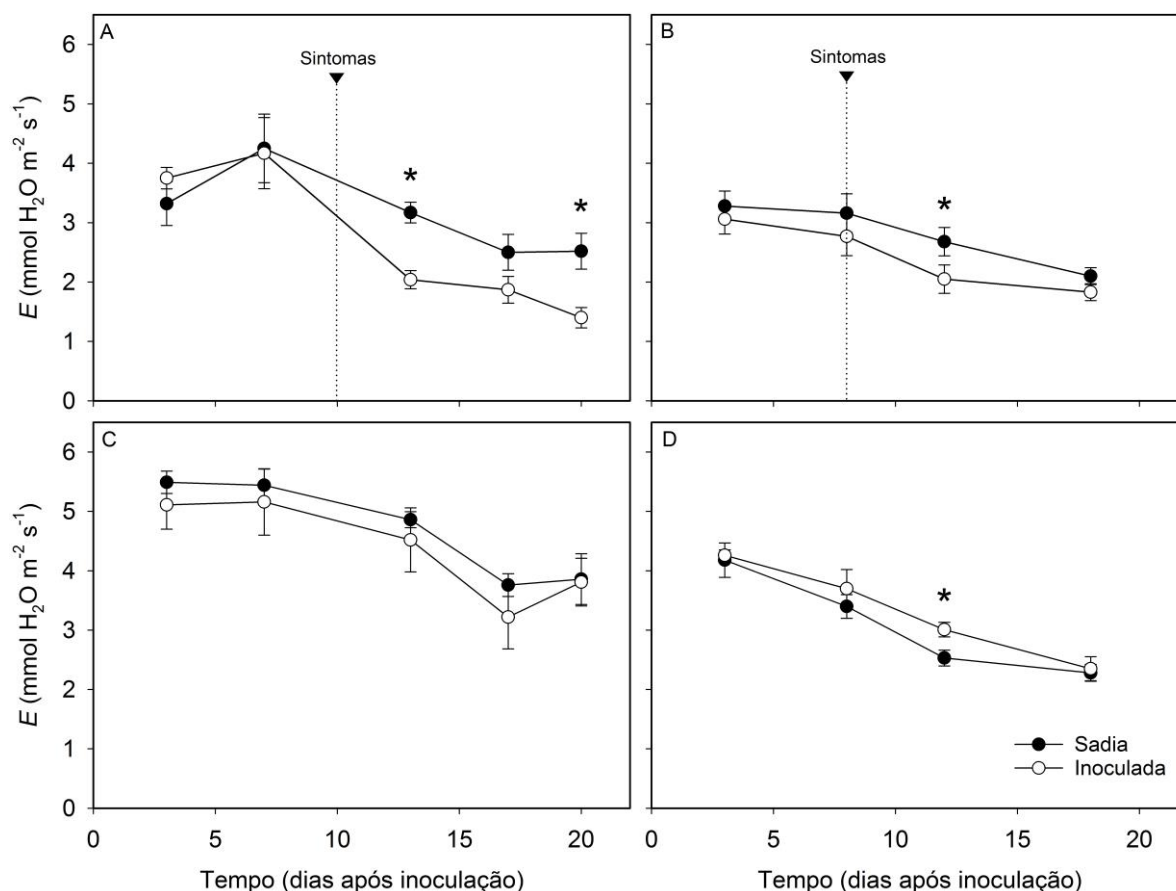
**Figura 4.** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) de folhas jovens (A e B) e maduras (C e D) de goiabeira cv. Paluma, sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, nos experimentos 1 (A e C) e 2 (B e D). As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). Setas e linhas pontilhadas indicam o aparecimento dos primeiros sintomas de ferrugem. Símbolos \* indicam diferença significativa entre as médias de A das folhas sadias e inoculadas com *A. psidii* pelo teste *t* de Student ( $p \leq 0,05$ ).

Houve redução significativa da condutância estomática ( $g_s$ ) das folhas jovens inoculadas aos 13 e 20 dias após a inoculação no experimento 1, e aos 12 e 18 dias após a inoculação no experimento 2 (Fig. 5A e B). Em folhas maduras, não houve diferença significativa na  $g_s$  entre folhas sadias e inoculadas (Fig. 5C e D).



**Figura 5.** Condutância estomática ( $g_s$ ) de folhas jovens (A e B) e maduras (C e D) de goiabeira cv. Paluma, sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, nos experimentos 1 (A e C) e 2 (B e D). As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). Setas e linhas pontilhadas indicam o aparecimento dos primeiros sintomas de ferrugem. Símbolos \* indicam diferença significativa entre as médias de  $g_s$  de folhas sadias e inoculadas com *A. psidii* pelo teste  $t$  de Student ( $p \leq 0,05$ ).

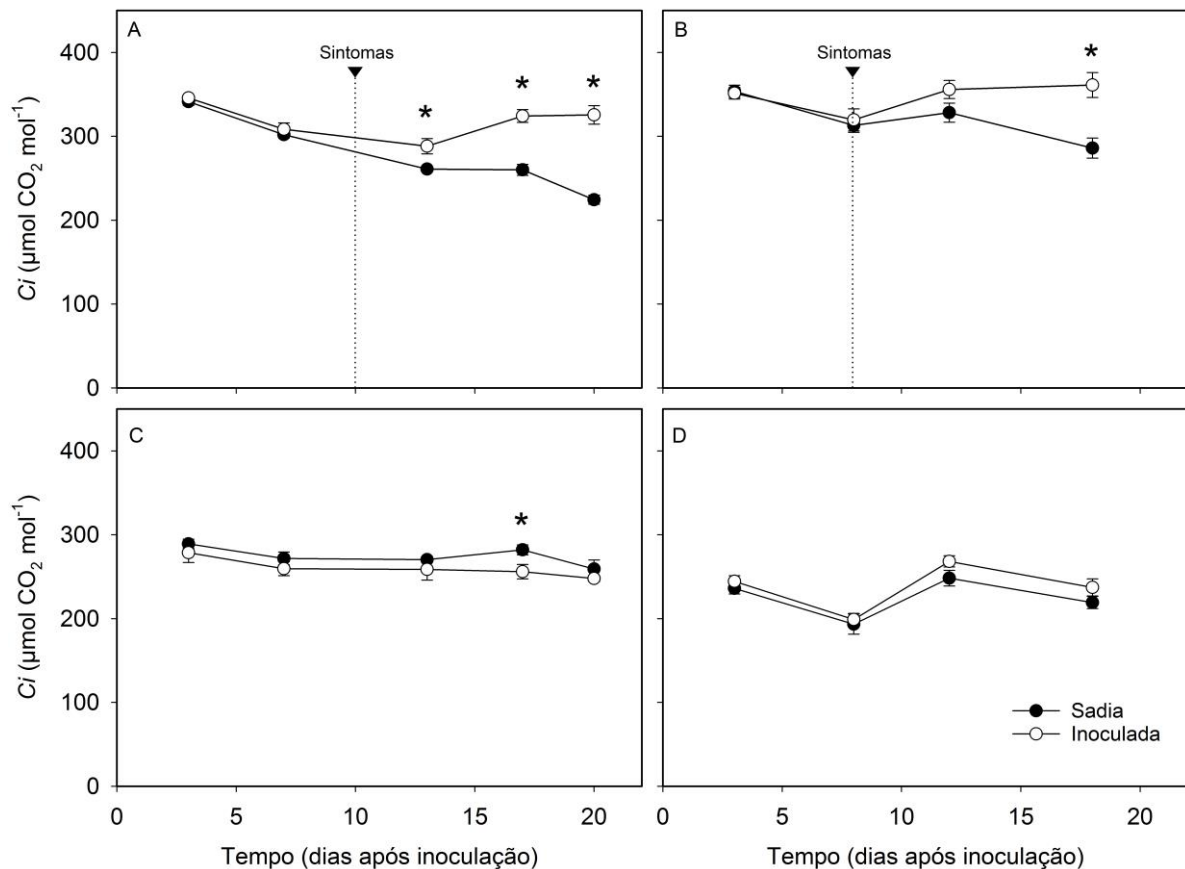
Folhas jovens sadias e inoculadas não apresentaram diferença significativa nos valores de AUC de transpiração ( $E$ ), em ambos os experimentos (Tabela 2). O mesmo foi observado para os valores de AUC de  $E$  das folhas maduras sadias e inoculadas (Tabela 2). No primeiro experimento, houve redução da  $E$  de folhas jovens inoculadas aos 13 e 20 dias após a inoculação, enquanto no segundo experimento essa redução foi observada somente aos 12 dias após a inoculação (Fig. 6A e B). Folhas maduras inoculadas não apresentaram redução da  $E$  em ambos os experimentos (Fig. 6C e D).



**Figura 6.** Transpiração ( $E$ ) de folhas jovens (A e B) e maduras (C e D) de goiabeira cv. Paluma, sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, nos experimentos 1 (A e C) e 2 (B e D). As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). Setas e linhas pontilhadas indicam o aparecimento dos primeiros sintomas de ferrugem. Símbolos \* indicam diferença significativa entre as médias de  $E$  de folhas sadias e inoculadas com *A. psidii* pelo teste  $t$  de Student ( $p \leq 0,05$ ).

No experimento 1, folhas jovens apresentaram maior concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) quando inoculadas com *A. psidii*. Esse aumento na  $C_i$  de folhas jovens inoculadas foi observado a partir de 13 dias após a inoculação (Fig. 7A). No experimento 2, o aumento da  $C_i$  de folhas jovens inoculadas foi observado somente aos 18 dias após a inoculação (Fig. 7B). No experimento 1, o valor médio de  $C_i$  das folhas jovens sadias, aos 20 dias após a inoculação, foi de  $224,4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  (Fig. 7A). O valor médio de  $C_i$  das folhas jovens sadias no experimento 2, aos 18 dias após a inoculação, foi de  $286,0 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  (Fig. 7B). No experimento 1, o valor médio de  $C_i$  das folhas jovens inoculadas, aos 20 dias após a inoculação, foi de  $325,6 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  (Fig. 7A). O valor médio de  $C_i$  das folhas jovens inoculadas no experimento 2, aos 18 dias após a inoculação, foi de  $361,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  (Fig. 7B). Folhas maduras sadias e inoculadas não apresentaram diferença significativa na  $C_i$  no experimento 1 (Fig. 7C). No entanto, no experimento 2, aos 17 dias após a inoculação, as

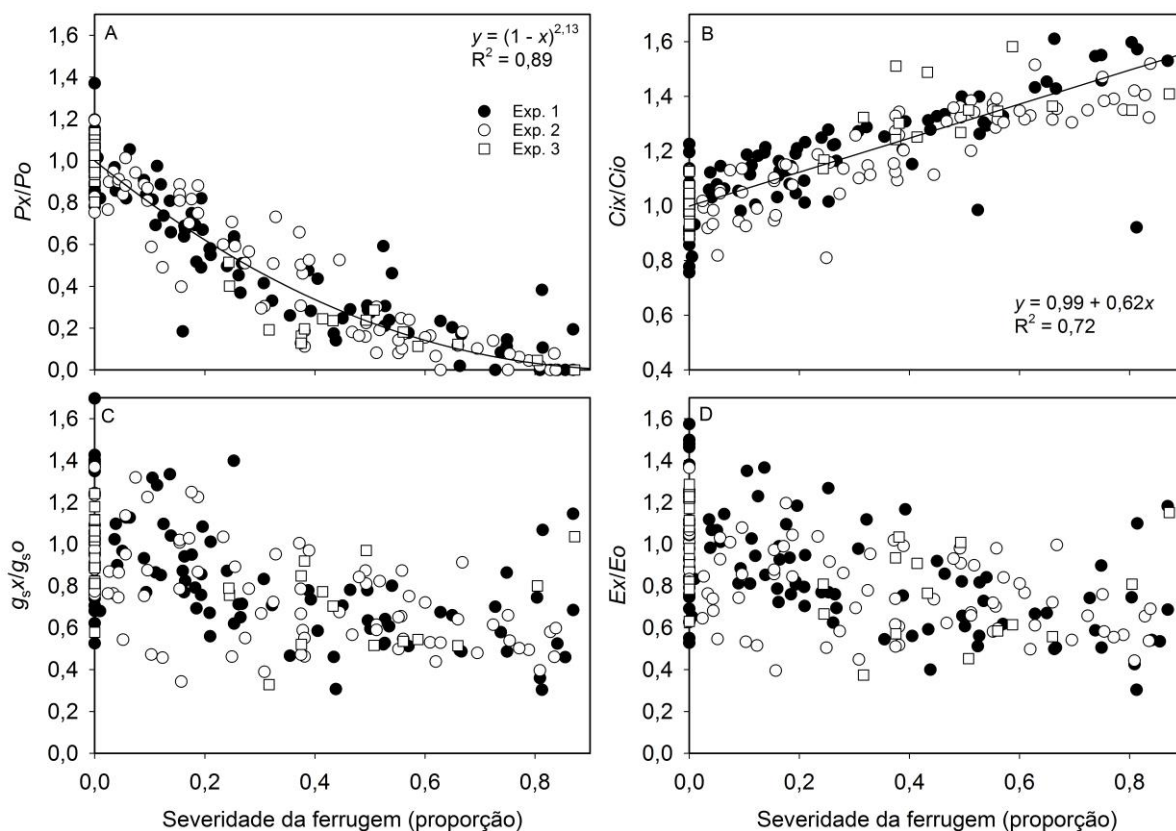
folhas maduras sadias apresentaram maior  $C_i$  em relação às folhas maduras inoculadas (Fig. 7D). O valor médio de  $C_i$  das folhas maduras sadias, aos 20 dias após a inoculação, foi de  $259,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  (Fig. 7C). O valor médio de  $C_i$  das folhas maduras sadias no experimento 2, aos 18 dias após a inoculação, foi de  $219,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  (Fig. 7D). No experimento 1, o valor médio de  $C_i$  das folhas maduras inoculadas, aos 20 dias após a inoculação, foi de  $247,8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  (Fig. 7C). O valor médio de  $C_i$  das folhas maduras sadias no experimento 2, aos 18 dias após a inoculação, foi de  $237,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  (Fig. 7D).



**Figura 7.** Concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) de folhas jovens (A e B) e maduras (C e D) de goiabeira cv. Paluma, sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, nos experimentos 1 (A e C) e 2 (B e D). As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). Setas e linhas pontilhadas indicam o aparecimento dos primeiros sintomas de ferrugem. Símbolos \* indicam diferença significativa entre as médias de  $C_i$  de folhas sadias e inoculadas com *A. psidii* pelo teste  $t$  de Student ( $p \leq 0,05$ ).

### 2.3.5. Relações entre a severidade da ferrugem, trocas gasosas e fluorescência de clorofila em folhas jovens e maduras de goiabeira

Os valores de fotossíntese líquida relativa ( $P_x/P_o$ ) decresceram com o aumento da severidade da ferrugem, de acordo com o modelo de Bastiaans ( $R^2 = 0,89$ ). O valor estimado do parâmetro  $\beta$  foi de 2,13 (erro = 0,08). Valores de  $P_x/P_o$  próximos a zero foram observados em severidades superiores a 80%. De acordo com o modelo de Bastiaans, severidades da ferrugem de 10%, 30%, 50% e 80% reduziram 20%, 53%, 77% e 97% da  $P_x/P_o$  das folhas, respectivamente (Fig. 8A). Os valores de concentração de  $\text{CO}_2$  intercelular relativa ( $C_{ix}/C_{io}$ ) aumentaram linearmente com a severidade da ferrugem ( $R^2 = 0,72$ ). De acordo com esse modelo, severidades da ferrugem de 10% e 80% aumentaram a  $C_{ix}/C_{io}$  em 6% e 50%, respectivamente (Fig. 8B). Os valores de condutância estomática relativa ( $g_{s,x}/g_{s,o}$ ) e transpiração relativa ( $Ex/Eo$ ) não apresentaram correlação com a severidade da ferrugem (Fig. 8C e D).

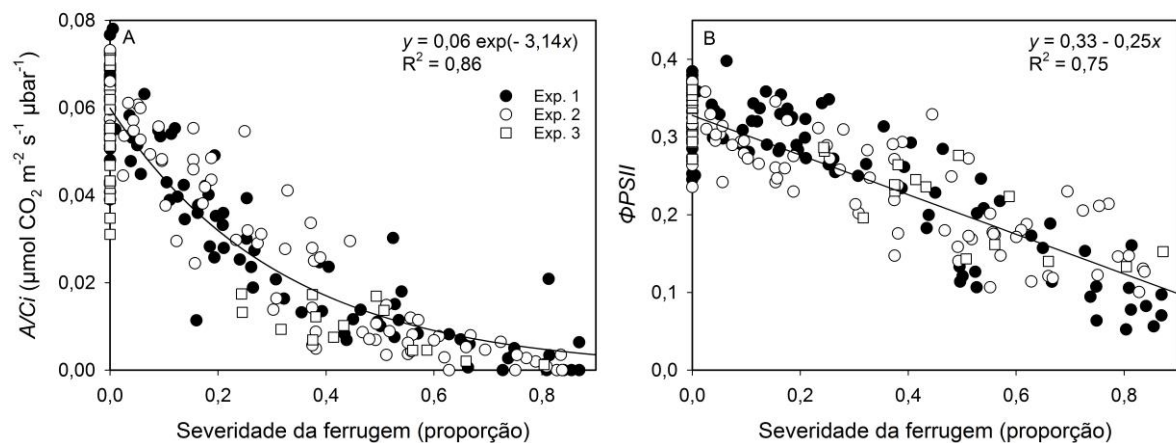


**Figura 8.** Relações entre a fotossíntese líquida relativa ( $P_x/P_o$ ) (A), concentração de  $\text{CO}_2$  intercelular relativa ( $C_{ix}/C_{io}$ ) (B), condutância estomática relativa ( $g_{s,x}/g_{s,o}$ ) (C) e transpiração relativa ( $Ex/Eo$ ) (D) e a severidade da ferrugem (*Austropuccinia psidii*) em folhas de goiabeira cv. Paluma. Os círculos pretos representam dados do experimento 1, os círculos brancos representam dados do experimento 2 e os quadrados brancos representam dados do experimento 3 ( $n = 210$ ). Em A, a linha representa o

modelo [ $P_x/P_o = (1 - x)^\beta$ , onde  $P_x$  é a fotossíntese líquida de uma folha com severidade  $x$  e  $P_o$  é a fotossíntese líquida média de folhas saudias] e em B, a linha representa o modelo ( $C_{ix}/C_{io} = a + bx$ , onde  $C_{ix}$  é a concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  de uma folha com severidade  $x$  e  $C_{io}$  é a concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  média de folhas saudias).

Os valores de  $A/C_i$  reduziram com o aumento da severidade da ferrugem, de acordo com o modelo exponencial negativo ( $R^2 = 0,86$ ). Para a severidade da ferrugem de 10% o valor estimado de  $A/C_i$  foi de  $0,04 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \mu\text{bar}^{-1}$ . Já para a severidade da ferrugem de 80% o modelo estimou a  $A/C_i$  em  $0,005 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \mu\text{bar}^{-1}$ . Severidade da ferrugem de 80% reduz 87,5% da  $A/C_i$  (Fig. 9A).

Os valores de  $\Phi_{PSII}$  decresceram linearmente com o aumento da severidade da ferrugem ( $R^2 = 0,75$ ). Nas severidades da ferrugem de 10% e de 80% o modelo estimou valores de  $\Phi_{PSII}$  de 0,3 e de 0,12, respectivamente (Fig. 9B).



**Figura 9.** Relações entre a severidade da ferrugem (*Austropuccinia psidii*) e a eficiência aparente de carboxilação ( $A/C_i$ ) (A), e entre a severidade da ferrugem e a eficiência quântica do fotossistema II ( $\Phi_{PSII}$ ) (B) em folhas de goiabeira cv. Paluma. Os círculos pretos representam dados do experimento 1, os círculos brancos representam dados do experimento 2 e os quadrados brancos representam dados do experimento 3 ( $n = 210$ ). Em A a linha representa o modelo [ $y = a \exp(-bx)$ , onde  $y$  é a eficiência aparente de carboxilação de uma folha com severidade  $x$ ] e em B a linha representa o modelo ( $y = a - bx$ , onde  $y$  é a eficiência quântica do fotossistema II de uma folha com severidade  $x$ ).

## 2.4. Discussão

A resistência ontogênica à ferrugem é marcante em folhas maduras de goiabeira, pois nenhum sintoma da doença é observado mesmo após a inoculação com alta concentração de inóculo e manutenção das plantas em condições ideais para o desenvolvimento da doença. A assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  é igualmente eficiente em folhas maduras inoculadas e não

inoculadas, indicando que o mecanismo de defesa utilizado pelas folhas maduras para impedir a infecção não apresenta nenhum custo fotossintético. Em contrapartida, folhas jovens são altamente suscetíveis. Nas folhas jovens a doença se expressa em elevada severidade e as lesões produzem expressivo número de urediniósporos. Além disso, a infecção de folhas jovens por *A. psidii* induz limitações fotossintéticas de magnitude proporcional à severidade da doença. Por exemplo, severidade de 20% promove a redução de 38% na fotossíntese líquida relativa e severidade de 50% promove 77% de redução na fotossíntese líquida relativa das folhas doentes. A redução da fotossíntese nas folhas jovens é consequência de severo comprometimento da atividade bioquímica e, em menor extensão, da atividade fotoquímica.

A resistência ontogênica a *A. psidii* já foi observada em outras mirtáceas. No entanto, em goiabeira cv. Paluma ela se manifestou já no terceiro par de folhas, que apresentavam em média 98% do seu tamanho final no momento da inoculação. Em clones de *Eucalyptus grandis*, a ausência dos sintomas ocorre a partir do sétimo par de folhas (Xavier et al., 2015). A resistência ontogênica de *Metrosideros excelsa*, *Lophomyrtus bullata* x *L. obcordata* e *Syzygium jambos* a *A. psidii* também foi constatada em folhas que estavam 90% a 100% expandidas, o que ocorreu a partir do sexto par de folhas (Beresford et al., 2020).

A ausência de sintomas de ferrugem nas folhas maduras de cv. Paluma ocorreu a despeito da alta taxa de germinação dos urediniósporos de *A. psidii*. A taxa média de germinação de urediniósporos de *A. psidii* em folhas maduras de goiabeira foi de 68%, 25% menor que em folhas jovens. Taxas similares de redução na germinação de urediniósporos, de 27% nas folhas maduras em relação às folhas jovens, foram observadas em clones suscetíveis de *E. grandis* (Xavier et al., 2015). Já em híbrido suscetível de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis*, a taxa de germinação de urediniósporos nas folhas maduras foi de apenas 12,9%, comparada a 65,6% em folhas jovens (Silva-Souza et al., 2017). A redução na germinação de urediniósporos de *A. psidii* em folhas maduras de eucalipto tem sido atribuída à maior quantidade de cera presente nessas folhas em relação às folhas jovens (Xavier et al., 2015; Silva-Souza et al., 2017). Neste trabalho, não foram observadas placas cerosas na cutícula foliar das amostras de folhas jovens e maduras de goiabeira processadas para a MEV. A quantidade e a composição da cera também já foram relacionadas à resistência apresentada por certos clones de eucalipto, nos quais a germinação de urediniósporos de *A. psidii* é quase completamente inibida. No entanto, não é consenso que a resistência esteja sempre relacionada à inibição da germinação dos urediniósporos, pois em *Eucalyptus obliqua*, resistente a *A. psidii*, os urediniósporos germinaram e formaram apressórios sobre as folhas, mas não houve formação do peg de penetração (Yong et al., 2019). A resistência de

hospedeiros e não hospedeiros a agentes causais de ferrugens tem sido frequentemente relacionada a mecanismos pós-formados que atuam antes (Niks & Dekens, 1991; Anker & Niks, 2001) ou logo após a formação de haustórios (Southerton & Deverall, 1989). Nesses casos, a quantidade de apressórios à superfície foliar guarda pouca relação com a resistência da planta.

Em folhas jovens da cv. Paluma, a elevada quantidade de apressórios formados sobre a junção de células epidérmicas e apenas formação ocasional sobre estômatos é uma evidência de penetração direta do patógeno através da cutícula da goiabeira. Sabe-se que urediniósporos de *A. psidii* são capazes de penetrar diretamente folhas jovens de jambeiro (Hunt, 1968) e de eucalipto (Xavier et al., 2001; Yong et al., 2019), onde promovem degradação da cera e da cutícula. Elevada formação de apressórios na junção de células epidérmicas também foi observada em *Phakopsora apoda* (Adendorff & Rijkenberg, 2000) e em *Phakopsora pachyrhizi* (Bonde et al., 1976; Koch et al., 1983), que penetram seus hospedeiros diretamente através da cutícula. De modo geral, agentes causais de ferrugens capazes de penetrar diretamente as células do hospedeiro, como *P. apoda* e *Rauenelia humphreyana* apresentam tubos germinativos mais curtos que aqueles que penetram através de estômatos (Hunt, 1968; Adendorff & Rijkenberg, 2000). Supõe-se que patógenos capazes de penetrar diretamente o hospedeiro poupam energia na exploração da superfície foliar com tubos germinativos curtos (Hunt, 1968). No entanto, isso não foi verificado nas folhas de goiabeira, onde houve grande variação no comprimento do tubo germinativo de *A. psidii*. Em eucalipto, também foi observada variação no comprimento do tubo germinativo de *A. psidii*. Tubos germinativos longos ( $> 100 \mu\text{m}$ ), médios ( $10\text{-}100 \mu\text{m}$ ) e curtos ( $< 10 \mu\text{m}$ ) foram observados em folhas de *E. obliqua* (Yong et al., 2019). Também em *P. pachyrhizi*, o comprimento do tubo germinativo é muito variável, atingindo até  $320 \mu\text{m}$  (Bonde et al., 1976). Outra característica peculiar observada neste trabalho foi a formação de protuberâncias no apressório do lado oposto ao tubo germinativo ou perpendicular a ele. Essas estruturas já foram relatadas em *Hemileia vastatrix* (Coutinho et al., 1993) e em *Uromyces fabae* (Kapooria & Mendgen, 1985) e ocorrem ocasionalmente em *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (Staples & Hoch, 1997), embora sua função não tenha sido esclarecida em nenhum dos casos. O mecanismo de penetração de *A. psidii* ainda não foi elucidado em folhas de goiabeira e merece investigação futura.

O período de latência estimado para a ferrugem em folhas jovens de goiabeira cv. Paluma foi de 9,5 dias, semelhante ao relatado para as goiabeiras cv. IAPAR Rosa Arredondada, Ruby Supreme e Santa Alice, onde o período de latência variou de 7,6 a 8,5



dias (Castro et al., 1983). No entanto, para a goiabeira cv. Pirassununga Vermelha o período de latência foi mais longo, de 11,8 dias (Coelho et al., 2001). Em outras mirtáceas, o período de latência variou de 7,5 a 12 dias em *E. grandis* (Castro et al., 1983; Ruiz et al., 1989a), de 7,2 a 9,7 dias em *S. jambos* (Coelho et al., 2001) e de 10 a 12 dias em *M. excelsa* (Beresford et al., 2020). Períodos de latência mais longos são comuns para ferrugens tropicais, como, por exemplo, a ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*), onde o período de latência é de aproximadamente 30 dias (Alfonsi et al., 2019). Por outro lado, de modo geral, ferrugens temperadas apresentam período de latência mais curto quando as condições são ideais para o desenvolvimento da doença. Na ferrugem da videira (*Neophytopella tropicalis*) o período latente é de 7-8 dias (Nogueira Júnior et al., 2017; Primiano & Amorim, 2020), na ferrugem do colmo do trigo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) é de 5-6 dias (Hernandez Nopsa & Pfender, 2014) e na ferrugem da cevada (*Puccinia hordei*; Teng & Close, 1978) e na ferrugem da folha do trigo (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*; Eversmeyer et al., 1980; Johnson, 1980) é de 6 dias.

A densidade de lesões de *A. psidii* em folhas jovens de goiabeira, considerando a média dos dois experimentos, foi de 58 lesões esporulantes.cm<sup>-2</sup>. Em eucalipto e jambeiro foram observados 54 e 64 soros urediniais.cm<sup>-2</sup>, respectivamente (Ruiz et al., 1989b). Já para *M. excelsa*, a densidade de uredinias de *A. psidii* foi de 150 uredinias.cm<sup>-2</sup> (Beresford et al., 2020). A severidade da ferrugem aumentou, de 30% para 50%, após a estabilização do aparecimento das lesões esporulantes. Essa elevada severidade foi alcançada aos 25 dias após a inoculação. Média de severidade da doença similar à média obtida em nosso trabalho foi relatada para a ferrugem do eucalipto. No clone de *E. urophylla*, suscetível a *A. psidii*, foi observado 42% de severidade da ferrugem, aos 20 dias após a inoculação (Alves et al., 2011) e em *E. grandis* x *E. urophylla* 37% (Borges et al., 2019). Cultivares de feijoeiro inoculadas com *Uromyces appendiculatus* também apresentaram médias de severidade de ferrugem semelhantes. As cultivares de feijoeiro Rosinha e Carioca Comum apresentaram médias de severidade da ferrugem de 60% e 50%, respectivamente (Bassanezi et al., 2002). Em folhas de videira *Vitis vinifera* inoculadas com *N. tropicalis* também foi observada alta severidade da ferrugem, chegando a 45% (Navarro et al., 2019).

Além da alta severidade da ferrugem da goiabeira, observou-se também neste trabalho, elevada produção de urediniósporos, com média de  $5,5 \cdot 10^5$  urediniósporos.cm<sup>-2</sup> ( $2,5 \cdot 10^4$  urediniósporos por lesão). A produção média de urediniósporos de *A. psidii* por lesão em *E. grandis* e *E. pellita*, atingiu  $7,1 \cdot 10^3$  e  $9,6 \cdot 10^3$ , respectivamente (Castro et al., 1984). A produção de urediniósporos de *A. psidii* em goiabeira é muito maior do que os valores médios

relatados para outras ferrugens, como a ferrugem da videira (*N. tropicalis*) e a ferrugem asiática da soja (*P. pachyrhizi*) (Primiano & Amorim, 2020), mas se assemelha à ferrugem do colmo do trigo (*P. graminis* f. sp. *tritici*) (Bushnell & Roelfs, 1985). O conjunto dos componentes monocíclicos tornam a ferrugem uma grande ameaça para a goiabeira e outras mirtáceas, uma vez que a elevada produção de urediniósporos e a alta severidade da ferrugem parecem compensar o curto período de tecido suscetível disponível.

Os valores de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*) aumentaram ao longo do tempo em folhas jovens saudias, em função da expansão de sua área foliar (Apêndice B). Isso também ocorreu nas folhas jovens inoculadas até aproximadamente 8 dias após a inoculação. Porém, significativa redução da *A* foi observada em folhas jovens inoculadas com *A. psidii* a partir de 13 e 12 dias após a inoculação, nos experimentos 1 e 2, respectivamente. Os valores de *A* de folhas de eucalipto (*E. urophylla*), suscetíveis a *A. psidii*, também foram reduzidos a partir de 12 dias após a inoculação (Alves et al., 2011). O decréscimo da *A* das folhas de goiabeira inoculadas com *A. psidii* foi proporcional ao incremento da severidade da ferrugem. O valor de  $\beta$  estimado pela equação 6 para a ferrugem da goiabeira foi de 2,13. Isso implica dizer que os danos fotossintéticos causados pela ferrugem em folhas de goiabeira pouco excedem a área lesionada. De modo geral, os valores de  $\beta$  relatados para as ferrugens são baixos, como, por exemplo, a ferrugem do feijoeiro (*U. appendiculatus*), que apresenta  $\beta = 2,1$  (Bassanezi et al., 2001), a ferrugem da folha do trigo (*Puccinia triticina*), onde os valores de  $\beta$  variam de 0,8 a 1,0 (Robert et al., 2005) e a ferrugem asiática da soja (*P. pachyrhizi*), na qual os valores de  $\beta$  variam de 2,1 a 2,5 (Kumudini et al., 2010). Nesses casos, assim como para a ferrugem da goiabeira, as reduções na fotossíntese são diretamente proporcionais ao aumento da severidade da ferrugem. Isso é comum para patógenos biotróficos, onde, evolutivamente, a manutenção do hospedeiro vivo é vantajosa e necessária para a sobrevivência dos patógenos (Shtienberg, 1992). Entretanto, a ferrugem da videira (*N. tropicalis*) é uma exceção pois apesar de ser causada por patógeno biotrófico, ocasiona uma severa redução na fotossíntese do tecido verde adjacente às lesões, expressa pelo valor de  $\beta = 5,78$  (Nogueira Júnior et al., 2017).

Os valores de condutância estomática (*g<sub>s</sub>*) e de transpiração (*E*) de folhas jovens de goiabeira inoculadas com *A. psidii* reduziram ao longo do tempo, em relação às folhas saudias. Isso também foi observado em clone suscetível de *E. urophylla*, no qual observou-se reduções da *g<sub>s</sub>* das folhas, aos 12 e 20 dias e da *E*, a partir dos 16 dias após a inoculação com *A. psidii* (Alves et al., 2011). Embora a *g<sub>s</sub>* e a *E* das folhas inoculadas terem sido menores quando comparadas às das folhas saudias, não houve relação entre a severidade da ferrugem da

goiabeira e as variáveis  $g_s$  e  $E$ . Esse mesmo comportamento foi relatado para a ferrugem da videira, onde observou-se alta variabilidade nas relações entre severidade de doença e  $g_s$  ou entre severidade de doença e  $E$  (Nogueira Júnior et al., 2017), e para a ferrugem do feijoeiro, na qual também observou-se baixos coeficientes de determinação entre a severidade de doença e a  $g_s$  e severidade de doença e  $E$  (Bassanezi et al., 2002).

A concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) aumentou nas folhas jovens de goiabeira inoculadas com *A. psidii*. Esse incremento na  $C_i$  também foi observado em folhas de feijoeiro inoculadas com *U. appendiculatus* (Bassanezi et al., 2002), em folhas de trigo inoculadas com *P. triticina* (Carretero et al., 2011) e em folhas de videira inoculadas com *N. tropicalis* (Nogueira Júnior et al., 2017). O aumento da  $C_i$  em folhas doentes sugere que a redução da fotossíntese induzida por patógenos é mediada por um processo não estomático (Carretero et al., 2011).

As reduções da fotossíntese impostas por patógenos podem ser ocasionadas por limitações nas atividades difusivas estomática ou mesofílica, ou nas atividades bioquímica e/ou fotoquímica (Carretero et al., 2011). A ferrugem da goiabeira não provocou limitações difusivas de origem estomática em folhas jovens. Por sua vez, o aumento dos valores de  $C_i$  e a redução exponencial de  $A/C_i$  com o aumento da severidade da ferrugem são indícios de que as reduções nos valores de  $A$  são resultado de limitações bioquímicas na fotossíntese. Essas limitações bioquímicas são o reflexo da redução da quantidade/atividade da Rubisco e de outras enzimas do ciclo de Calvin no tecido doente (Pennypacker et al., 1990). A redução na atividade da Rubisco em interações compatíveis entre planta e patógeno é observada em vários patossistemas como alho poró e *Puccinia allii* (Roberts & Walters, 1988), feijão e *U. appendiculatus* (Bassanezi et al., 2002), trigo e *Pyricularia oryzae* (Debona et al., 2014), videira e *P. viticola* (Nogueira Júnior et al., 2019) e videira e *N. tropicalis* (Nogueira Júnior et al., 2017; Navarro et al., 2019). Adicionalmente, a atividade fotoquímica de folhas jovens de goiabeira reduziu linearmente com o incremento da severidade de *A. psidii* e essa redução pode estar ligada à destruição de cloroplastos nas regiões do mesófilo abaixo das pústulas (Scholes & Rolfe, 1996).

Folhas maduras de goiabeira não apresentaram sintomas da ferrugem e tampouco redução de suas trocas gasosas. Diferentemente de outros patossistemas, como o míldio da videira (*P. viticola*) (Nogueira Júnior et al., 2020) e o oídio da cevada (*B. graminis* f. sp. *hordei*) (Swarbrick et al., 2006), onde as respostas de resistência das interações de incompatibilidade estão associadas a um custo fotossintético para o hospedeiro. Na ferrugem da goiabeira não houve custo fotossintético associado à resistência das folhas maduras.

Resultados similares foram observados em clone resistente de eucalipto a *A. psidii*, no qual as trocas gasosas das folhas não foram afetadas quando inoculadas com o patógeno (Alves et al., 2011) e em cultivar de arroz resistente a *Pyricularia oryzae*, onde lesões apareceram sem qualquer efeito sobre a fotossíntese líquida (Bastiaans & Roumen, 1993). Nos patossistemas onde a redução de *A* ocorre nos estágios iniciais da infecção em interações incompatíveis, como observado em *P. viticola* – videira cv. Solaris, as respostas de defesa são relacionadas com fechamento estomático, produção de espécies reativas de oxigênio e alterações no metabolismo celular, que levam à necrose foliar (Nogueira Júnior et al., 2020). Folhas maduras de goiabeira, quando inoculadas com *A. psidii*, não apresentaram nenhuma limitação fotossintética após o contato com o patógeno e nenhum tipo de necrose. Isso indica que a resistência da folha madura da goiabeira a *A. psidii* deve estar relacionada a mecanismos de defesa estruturais ou bioquímicos que não interferem no aparato fotossintético.

### Referências

- Adendorff, R.; Rijkenberg, F.H.J. 2000. Scanning electron microscopy of direct host leaf penetration by urediospore-derived infection structures of *Phakopsora apoda*. *Mycological Research* 104: 317-324.
- Aime, M.C. 2006. Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales). *Mycoscience* 47: 112-122.
- Alfonsi, W.M.V.; Coltri, P.P.; Zullo Júnior, J.; Patrício, F.R.A.; Alfonsi, E.L. 2019. Período de incubação da ferrugem do cafeeiro. *Summa Phytopathologica* 45: 134-140.
- Alves, A.A.; Guimarães, L.M.S.; Chaves, A.R.M.; DaMatta, F.M.; Alfenas, A.C. 2011. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence of *Eucalyptus urophylla* in response to *Puccinia psidii* infection. *Acta Physiology Plant* 33: 1831-1839.
- Alves, R.F.; Massola Junior N.S.; Spósito, M.B. 2018. Preservation of the urediniospores of *Phakopsora euvitis*, the causal agent of grape leaf rust. *European Journal of Plant Pathology* 150: 1103-1106.
- Anker, C.C.; Niks, R.E. 2001. Prehaustorial resistance to the wheat leaf rust fungus, *Puccinia triticina*, in *Triticum monococcum* (s.s.). *Euphytica* 117: 209-215.
- Aparecido, C.C.; Camilo, C.M.; Furtado, E.L. 2013. Preservação de urediniósporos de *Puccinia psidii* sob ultra congelamento (-80 °C) e avaliação da variabilidade patogênica. *Biológico* 75: 11-16.

- Aparecido, C. C.; Figueiredo, M. B.; Furtado, E. L. 2003b. Grupos de variabilidade fisiológica em populações de *Puccinia psidii*. Summa Phytopathologica, v. 29, p. 234-238.
- Aparecido, C.C.; Figueiredo, M.B.; Furtado, E.L. 2003a. Influência da temperatura sobre a infecção, formação de teliosporos e produção de basidiosporos por *Puccinia psidii* (Uredinales). Summa Phytopathologica 29: 239-243.
- Asalf, B.; Gadoury, D.M.; Tronsmo, A.M.; Seem, R.C.; Dobson, A.; Peres, N.A.; Stensvand, A. 2014. Ontogenic resistance of leaves and fruit, and how leaf folding influences the distribution of powdery mildew on strawberry plants colonized by *Podosphaera aphanis*. Phytopathology 104: 954-963.
- Bassanezi, R.B.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Berger, R.D. 2002. Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. Journal of Phytopathology 150: 37-47.
- Bassanezi, R.B.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Hau, B.; Berger, R.D. 2001. Accounting for photosynthetic efficiency of bean leaves with rust, angular leaf spot and anthracnose to assess crop damage. Plant Pathology 50: 443-452.
- Bastiaans, L.; Roumen, E.C. 1993. Effect on leaf photosynthetic rate by leaf blast for rice cultivars with different types and levels of resistance. Euphytica 66: 81-87.
- Bastiaans, L. 1991. Ratio between virtual and visual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of rice due to leaf blast. Phytopathology 81: 611-615.
- Bedendo, I.P. 2018. Classificação de doenças. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A. (Ed.). Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. v. 1. 5ª. Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p. 313-316.
- Berger, S.; Sinha, A.K.; Roitsch, T. 2007. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogens interactions. Journal of Experimental Botany 58: 4019-4026.
- Beresford, R.M.; Shuey, L.S; Pegg, G.S. 2020. Symptom development and latent period of *Austropuccinia psidii* (myrtle rust) in relation to host species, temperature, and ontogenic resistance. Plant Pathology 00:1-11.
- Bergamin Filho, A. 2018. Análise temporal de epidemias. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A. (Ed.). Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. v. 1. 5ª. Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p. 519-530.
- Blum, L.E.B.; Dianese, J.C.; Miranda, A.C. 1989. Epidemiology of the rust of *Jygygium jambos* caused by *Puccinia psidii* in Brasilia. Fitopatologia Brasileira 14: 140.

- Blum, L.E.B.; Dianese, J.C. 2001. Padrões de liberação de urediniósporos e desenvolvimento da ferrugem do jambeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36: 845-850.
- Bonde, M.R.; Melching, J.S.; Bromfield, K.R. 1976. Histology of the suscept-pathogen relationship between *Glycine max* and *Phakopsora pachyrhizi*, the cause of soybean rust. *Phytopathology* 66: 1290-1294.
- Borges, L.S.; Rios, J.A.; Aucique-Pérez, C.E.; Belisário, R.; Duarte, H.S.S.; Furtado, G.Q. 2019. Standard area diagram set to assess rust severity on eucalyptus leaves. *Forest Pathology* 49: e12510.
- Brook, P.J. 1973. Epidemiology of grapevine anthracnose, caused by *Elsinoe ampelina*. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 16: 333-342.
- Bushnell, W.R.; Roelfs, A.P. 1985. The cereal rusts - diseases, distribution, epidemiology, and control. v.2. Academic Press: Orlando. 592 p.
- Carnegie, A.J.; Pegg, G.S. 2018. Lessons from the incursion of myrtle rust in Australia. *Annual Review of Phytopathology* 56: 21.1-21.22.
- Carretero, R.; Bancal, M.O.; Miralles, D.J. 2011. Effect of leaf rust (*Puccinia triticina*) on photosynthesis and related processes of leaves in wheat crops grown at two contrasting sites and with different nitrogen levels. *European Journal of Agronomy* 35: 237-246.
- Castro, H.A.; Bergamin Filho, A.; Krugner, T.L. 1984. Padrão de produção de uredosporos em mudas de Eucalyptus spp. inoculadas artificialmente com *Puccinia psidii*. *Summa Phytopathologica* 10: 155-170.
- Castro, H.A.; Krugner, T.L.; Ideriha, C.H.F.; Cappello, M.S.C.; Marchi, A.B. 1983. Inoculação cruzada de *Eucalyptus*, goiaba (*Psidium guajava*) e jambeiro (*Syzygium jambos*) com *Puccinia psidii*. *Fitopatologia Brasileira* 8: 491-497.
- Coelho, L.; Alfenas, A.C.; Ferreira, F.A. 2001. Variabilidade fisiológica de *Puccinia psidii* – ferrugem do eucalipto. *Summa Phytopathologica* 27: 295-300.
- Costa, A.N.; Costa, A.F.S. 2003. Solos, nutrição e adubação da goiabeira. In: Costa, A.F.S.; Costa, A.N. (Ed.). *Tecnologias para produção de goiaba*. Vitória: Incaper, p. 123-156.
- Coutinho, L.N.; Figueiredo, M.B. 1984. Estudos sobre especializações fisiológicas em *Puccinia psidii* Winter. *Summa Phytopathologica* 10: 55-56.
- Coutinho, T.A.; Rijkenberg, F.H.J.; Van Asch, M.A.J. 1993. Apressorium formation by *Hemileia vastatrix*. *Micological Research* 97: 951-956.
- Coutinho, T.A., Wingfield, M.J., Alfenas, A.C., Crous, P.W. 1998. Eucalyptus rust: a disease with the potential for serious international implications. *Plant Disease* 82: 819-825.

- Debona, D.; Rodrigues, F.A.; Rios, J.A.; Martins, S.C.V.; Pereira, L.F.; DaMatta, F.M. 2014. Limitations to photosynthesis in leaves of wheat plants infected by *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 104: 34-39.
- Eversmeyer, M.G.; Kramer, C.L.; Browder, L.E. 1980. Effect of temperature and host: parasite combination on the latent period of *Puccinia recondita* in seedling wheat plants. *Phytopathology* 70: 938-941.
- Ferreira, F.A. 1981. Ferrugem do eucalipto – ocorrências, temperatura para germinação de uredosporos, produção de teliósporos, hospedeiro alternativo e resistência. *Fitopatologia Brasileira* 6: 603-604.
- Ficke, A.; Gadoury, D.M.; Seem, R.C. 2002. Ontogenic resistance and plant disease management: a case study of grape powdery mildew. *Phytopathology* 92: 671-675.
- Furtado, G.Q.; Alves, S.A.M.; Carneiro, L.C.; Godoy, C.V.; Massola Júnior, N.S. 2009. Influência do estágio fenológico e da idade dos trifólios de soja na infecção de *Phakopsora pachyrhizi*. *Tropical Plant Pathology* 34: 118-122.
- Gee, C.T.; Gadoury, D.M.; Cadle-Davidson, L. 2008. Ontogenic resistance to *Uncinula necator* varies by genotype and tissue type in a diverse collection of *Vitis* spp. *Plant Disease* 92: 1067-1073.
- Gessler, C.; Stumm, D. Infection and stroma formation by *Venturia inaequalis* on apple leaves with different degrees of susceptibility to scab. *Journal of Phytopathology* 110: 119-126.
- Goes, A.; Martins, R.D.; Reis, R.F. 2004. Efeito de fungicidas cúpricos, aplicados isoladamente ou em combinação com mancozeb, na expressão de sintomas de fitotoxicidade e controle da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em goiabeira. *Revista Brasileira de Fruticultura* 26: 237-240.
- Graça, R.N.; Ross-Davis, A.L.; Klopfenstein, N.B.; Kim, M.S.; Peever, T.L.; Cannon, P.G.; Aun, C.P.; Mizubuti, E.S.G.; Alfenas, A.C. 2013. Rust disease of eucalypts, caused by *Puccinia psidii*, did not originate via host jump from guava in Brazil. *Molecular Ecology* 22: 6033-6047.
- Gusberti, M.; Gessler, C.; Brogгинi, G.A.L. 2013. RNA-Seq analysis reveals candidate genes for ontogenic resistance in *Malus* – *Venturia* pathosystem. *PLoS ONE* 8: e78457.
- Hau, B.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A. 2018. Análise espacial de epidemias. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A. (Ed.). *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. v. 1. 5ª. Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p. 531-550.

- Hernandez Nopsa, J.F.; Pfender, W.F. 2014. A latent period duration model for wheat stem rust. *Plant Disease* 98:1358-1363.
- Hunt, P. 1968. Cuticular penetration by germinating uredospores. *Transactions of the British Mycological Society* 51: 103-112.
- Johnson, D.A. 1980. Effect of low temperature on the latent period of slow and fast rusting winter wheat genotypes. *Plant Disease* 64: 1006-1008.
- Junqueira, N.T.V. 2000. Doenças e pragas. In: Manica, I.; Icuma, I.M.; Junqueira, N.T.V.; Salvador, J.O.; Moreira, A.; Malavolta, E. (Ed.) *Fruticultura Tropical* 6. Goiaba. Porto Alegre: Cinco continentes, p. 225-270.
- Kapooria, R.G.; Mendgen, K. 1985. Infection structures and their surface changes during differentiation in *Uromyces fabae*. *Journal of Phytopathology* 113: 317-323.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137-138.
- Koch, E.; Ebrahim-Nesbat, F.; Hoppe, H.H. 1983. Light and electron microscopic studies on the development of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) in susceptible soybean leaves. *Phytopathologische Zeitschrift* 106: 302-320.
- Kriticos, D.J.; Morin, L.; Leriche, A.; Anderson, R.C.; Caley, P. 2013. Combining a climatic niche model of an invasive fungus with its host species distributions to identify risks to natural assets: *Puccinia psidii sensu lato* in Australia. *PLoS ONE* 8: e64479.
- Kumudini, S.; Godoy, C.V.; Kennedy, B.; Prior, E.; Omielan, J.; Boerma, H.R.; Hershman, D. 2010. Role of host-plant resistance and disease development stage on leaf photosynthetic competence of soybean rust infected leaves. *Crop Science* 50: 2533-2542.
- Li, B.; Xu, X. 2002. Infection and development of apple scab (*Venturia inaequalis*) on old leaves. *Journal of Phytopathology* 150: 687-691.
- Lo Piccolo, S.; Alfonzo, A.; Conigliaro, G.; Moschetti, G.; Burrano, S.; Barone, A. 2012. A simple and rapid DNA extraction method from leaves of grapevine suitable for polymerase chain reaction analysis. *African Journal of Biotechnology* 11: 10305-10309.
- Martins, M.V.V.; Silveira, S.F.; Maffia, L.A. 2014. Guava fruit loss caused by rust. *Summa Phytopathologica* 40: 107-113.
- Melching, J.S.; Dowler, W.M.; Koogler, D.L.; Royer, M.H. 1988. Effect of plant and leaf age on susceptibility of soybean to soybean rust. *Canadian Journal of Plant Pathology* 10: 30-35.



- Morin, L.; Aveyard, R.; Lidbetter, J.R.; Wilson, P.G. 2012. Investigating the host-range of the rust fungus *Puccinia psidii* sensu lato across tribes of the family Myrtaceae present in Australia. PLoS ONE 7: e35434.
- Navarro, B.L.; Nogueira Júnior, A.F.; Ribeiro, R.V.; Spósito, M.B. 2019. Photosynthetic damage caused by grapevine rust (*Phakopsora euvtis*) in *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*. Australasian Plant Pathology 48: 509-518.
- Niks, R.E.; Dekens, R.G. 1991. Prehaustorial and posthaustorial resistance to wheat leaf rust in diploid wheat seedlings. Phytopathology 81: 847-851.
- Nogueira Júnior, A.F.; Ribeiro, R.V.; Appezzato-da-Glória, B.; Soares, M.K.M.; Rasesa, J.B.; Amorim, L. 2017. *Phakopsora euvtis* causes unusual damage to leaves and modifies carbohydrate metabolism in grapevine. Frontiers in Plant Science 8: 1675.
- Nogueira Júnior, A.F.; Ribeiro, R.V.; Marcos, F.C.C.; Amorim, L. 2019. Virtual lesions and photosynthetic damage caused by *Plasmopara viticola* in *Vitis labrusca*. European Journal of Plant Pathology 155: 545-555.
- Nogueira Júnior, A.F.; Tränkner, M.; Ribeiro, R.V.; von Tiedemann, A.; Amorim, L. 2020. Photosynthetic cost associated with induced defense to *Plasmopara viticola* in grapevine. Frontiers in Plant Science 11: 235.
- O'Donnell, K. 1993. *Fusarium* and its near relatives. In: Reynolds, D. R.; Taylor, J. W. (Ed.). The fungal holomorph: mitotic, meiotic and pleomorphic speciation in fungal systematics. Wallingford, Conn: CAB International, p. 225-233.
- Pennypacker, B.W.; Knievel, D.P.; Leath, K.T.; Pell, E.J.; Hill Jr, R.R. 1990. Analysis of photosynthesis in resistant and susceptible alfalfa clones infected with *Verticillium albo-atrum*. Phytopathology, 80(12), 1300-1306.
- Piccinin, E.; Pascholati, S.F.; Di Piero, R.M.; Cia, P.; Silva, B.M.P. 2016. Doenças da goiabeira. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. (Ed.). Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas. v.2. 5ª. Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p. 463-468.
- Populer, C. 1978. Changes in host susceptibility with time. In: Horsfall, J.G.; Cowling, E.B. (Ed.). Plant disease. An advanced treatise, v. 3. Academic Press: New York, p. 239-262.
- Primiano, I.V.; Amorim, L. 2020. Comparative study on the monocycle of *Phakopsora meliosmae-myrianthae* and *Phakopsora pachyrhizi*. European Journal of Plant Pathology 157: 151-162.

- Quecine, M.C.; Bini, A.P.; Romagnoli, E.R.; Andreote, F.D.; Moon, D.H.; Labate, C.A. 2014. Genetic variability in *Puccinia psidii* populations as revealed by PCR-DGGE and T-RFLP markers. *Plant Disease* 98:16-23.
- Quecine, M.C.; Leite, T.F.; Bini, A.P.; Regiani, T.; Franceschini, L.M.; Budzinski, I.G.F.; Marques, F.G.; Labate, M.T.V.; Guidetti-Gonzalez, S.; Moon, D.H.; Labate, C.A. 2016. Label-Free quantitative proteomic analysis of *Puccinia psidii* uredospores reveals differences of fungal populations infecting eucalyptus and guava. *PLoS ONE* 11: e0145343.
- Robert, C.; Bancal, M.; Ney, B.; Lannou, C. 2005. Wheat leaf photosynthesis loss due to leaf rust, with respect to lesion development and leaf nitrogen status. *New Phytologist* 165: 227-241.
- Roberts, A.M.; Walters, D.R. 1988. Photosynthesis in discrete regions of leek leaves infected with the rust, *Puccinia allii* Rud. *New Phytologist* 110.3: 371-376.
- Ruiz, R.A.R.; Alfenas, A.C.; Ferreira, F.A. 1989b. Influência da temperatura, luz e origem do inóculo sobre a produção de uredosporos e teliósporos de *Puccinia psidii*. *Fitopatologia Brasileira* 14: 70-73.
- Ruiz, R.A.R.; Alfenas, A.C.; Ferreira, F.A.; Vale, F.X.R. 1989a. Progresso da ferrugem do eucalipto, causada por *Puccinia psidii*, em condições de campo. *Fitopatologia Brasileira* 14: 55-61.
- Ruiz, R.A.R.; Alfenas, A.C.; Maffia, L.A.; Barbosa, M.M. 1989c. Influência da temperatura, do tempo de molhamento foliar, fotoperíodo e da intensidade de luz sobre a infecção de *Puccinia psidii* em eucalipto. *Fitopatologia Brasileira* 14: 73-81.
- Sandhu, K.S.; Karaoglu, H.; Zhang, P.; Park, R.F. 2016. Simple sequence repeat markers support the presence of a single genotype of *Puccinia psidii* in Australia. *Plant Pathology* 65: 1084-1094.
- Savary, S. 1987. Decrease by plant development and leaf age of susceptibility of groundnut to rust (*Puccinia arachidis*) in a susceptible cultivar. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 93: 25-31.
- Scholes, J.D.; Rolfe, S.A. 1996. Photosynthesis in localised regions of oat leaves infected with crown rust (*Puccinia coronata*): quantitative imaging of chlorophyll fluorescence. *Planta*, 199: 573-582.
- Shtienberg, D. 1992. Effects of foliar diseases on gas exchange processes: a comparative study. *Phytopathology* 82: 760-765.

- Silva-Souza, R.R.; da Silva, A.C.; Rodella, R.A.; Serrão, J.E.; Zanuncio, J.C.; Furtado, E.L. 2017. Pre-infection stages of *Austropuccinia psidii* in the epidermis of *Eucalyptus* hybrid leaves with different resistance levels. *Forests* 8: 1-12.
- Soewarto, J.; Giblin, F.; Carnegie, A.J. 2019. *Austropuccinia psidii* (myrtle rust) global host list. Version 2. Australian Network for Plant Conservation, Canberra, ACT. Disponível em: <http://www.anpc.asn.au/myrtle-rust>. Acesso em: 17 de novembro de 2020.
- Southerton, S.G.; Deverall, B.J. 1989. Histological studies of the expression of the Lr9, Lr20 and Lr28 alleles for resistance to leaf rust in wheat. *Plant Pathology* 38: 190-199.
- Staples, R.C.; Hoch, H.C. 1997. Physical and chemical cues for spore germination and appressorium formation by fungal pathogens. In: Carroll, G.; Tudzynski, P. (Ed.). *The Mycota: Plant Relationships (Part A, Vol. V)*. Springer Verlag, p. 27-40.
- Steimetz, E.; Trouvelot, S.; Gindro, K. Bordier, A.; Poinssot, B.; Adrian, M.; Daire, X. 2012. Influence of leaf age on induced resistance in grapevine against *Plasmopara viticola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 79: 89-96.
- Swarbrick, P.J.; Schulze-Lefert, P.; Scholes, J. D. 2006. Metabolic consequences of susceptibility and resistance (race-specific and broadspectrum) in barley leaves challenged with powdery mildew. *Plant Cell Environment* 29: 1061-1076.
- Teng, P.S.; Close, R.C. 1978. Effect of temperature and uredinium density on urediniospore production, latent period, and infectious period of *Puccinia hordei* Otth. *Journal of Agricultural Research* 21:287-296.
- Tessmann, D.J.; Dianese, J.C.; Miranda, A.C.; Castro, L.H.R. 2001. Epidemiology of a Neotropical rust (*Puccinia psidii*): periodical analysis of the temporal progress in a perennial host (*Syzygium jambos*). *Plant Pathology* 50: 725-731.
- Vale, F.X.R.; Fernandes Filho, E.I.F.; Liberato, J.R. 2001. "QUANT – a software for plant disease severity assessment" in *Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Congress of Plant Pathology*, Christchurch, New Zealand.
- White, T.J.; Bruns, T.; Lee, S.; Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A.; Gelfand, D.H.; Sninsky, J.J.; White, T.J. (Ed.). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. New York, USA: Academic Press, p. 315-322.
- Xavier, A.A.; Alfenas, A.C.; Matsuoka, K.; Hodges, C.S. 2001. Infection of resistant and susceptible *Eucalyptus grandis* genotypes by urediniospores of *Puccinia psidii*. *Australasian Plant Pathology* 30: 277-281.

- Xavier, A.A.; Silva, A.C.; Guimarães, L.M.S.; Matsuoka, K.; Hodges, C.S.; Alfenas, A.C. 2015. Infection process of *Puccinia psidii* in *Eucalyptus grandis* leaves of different ages. *Tropical Plant Pathology* 40: 318-325.
- Xavier, S.A.; Martins, D.C.; Fantin, L.H.; Canteri, M.G. 2017. Older leaf tissues in younger plants are more susceptible to soybean rust. *Acta Scientiarum. Agronomy* 39: 17-24.
- Yong, W.T.L.; Ades, P.K.; Tibbits, J.F.G.; Bossinger, G.; Runa, F.A.; Sandhu, K.S.; Taylor, P.W.J. 2019. Disease cycle of *Austropuccinia psidii* on *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus obliqua* leaves of different rust response phenotypes. *Plant Pathology* 68:547-556.
- Zadoks, J.C.; Schein, R.D. 1979. *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press: New York, 427 p.



### 3. IMPACTO DA LIMITAÇÃO HÍDRICA NOS COMPONENTES MONOCÍCLICOS DA FERRUGEM E NAS TROCAS GASOSAS DA GOIABEIRA

#### RESUMO

As mudanças climáticas globais, cada vez mais evidentes na atualidade, podem provocar efeitos deletérios na produção de plantas cultivadas. Embora esse assunto seja mundialmente estudado, ainda há pouca informação sobre os impactos das mudanças climáticas no comportamento de doenças de plantas, como as ferrugens. Particularmente poucos estudos foram realizados para quantificar o dano causado por ferrugens em seus hospedeiros sob condições ambientais adversas. Segundo estimativas do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas, num cenário futuro, a ocorrência de temperaturas elevadas, períodos prolongados de seca e eventos extremos, será cada vez mais frequente. Já é relatado na literatura, em alguns patossistemas, que temperaturas elevadas e estresse hídrico aumentam a intensidade de doenças. Apesar da ferrugem das mirtáceas (*Austropuccinia psidii*) representar uma ameaça global, há poucas informações sobre o efeito de estresses abióticos no desenvolvimento da doença. O objetivo deste estudo foi avaliar as implicações da limitação hídrica no monociclo da ferrugem e seus reflexos nas trocas gasosas da goiabeira cv. Paluma. Para esse fim, plantas de goiabeira envasadas foram expostas ou não a estresse biótico (*A. psidii*) e abiótico (limitação hídrica moderada), aplicados de maneira isolada e combinada. Para avaliar o comportamento da doença e os danos por ela causados, foram quantificados os componentes monocíclicos da ferrugem e as trocas gasosas da goiabeira. Os períodos de latência da ferrugem estimados em goiabeiras submetidas e não submetidas à limitação hídrica foram de, respectivamente, 12,1 e 13,3 dias no experimento 1, e 8,2 e 8,4 dias no experimento 2. A densidade de lesões esporulantes foi maior em goiabeiras submetidas à limitação hídrica (proporções de 0,41 no experimento 1 e 0,49 no experimento 2) do que em goiabeiras somente inoculadas com *A. psidii* (proporções de 0,34 no experimento 1 e 0,18 no experimento 2). A severidade da ferrugem, no entanto, foi maior em goiabeiras submetidas à limitação hídrica (41%) do que em goiabeiras somente inoculadas com *A. psidii* (24%), apenas no experimento 2. Em ambos os experimentos, os valores médios de áreas abaixo das curvas da assimilação de CO<sub>2</sub> e da transpiração foram significativamente menores nas plantas doentes submetidas à limitação hídrica do que naquelas expostas exclusivamente ao patógeno. Aos 30 dias após a inoculação, as reduções médias da assimilação de CO<sub>2</sub>, da condutância estomática e da transpiração de goiabeiras doentes expostas à limitação hídrica simultaneamente foram de 53%, 58% e 54%, respectivamente, quando comparadas às goiabeiras expostas ao patógeno isoladamente.

Palavras-chave: Estresse biótico; Estresse hídrico; Ferrugem das mirtáceas; *Psidium guajava*; Severidade de ferrugem.

## ABSTRACT

Climate changes, increasingly evident nowadays, lead to deleterious effects on crop yield. Although this topic is world-widely studied, information on the impacts of climate changes on plant diseases, such as rusts, is rare. Particularly few studies have been conducted to quantify the damage caused by rust pathogens on their hosts under adverse environmental conditions. According to estimates of the Intergovernmental Panel on Climate Change, in a future scenario, increase in temperatures, drought periods and extreme events will become more and more frequent. It has been already reported in the literature, in some pathosystems, that warmer temperatures and water stress increase disease intensity. The Myrtle rust (*Austropuccinia psidii*) is an important disease of guava and other species of the family Myrtaceae. Although this disease represents a global threat, there is little available information about its epidemiology in guava and about the effect of abiotic stresses on the disease development. The objective of this study was to evaluate the impacts of water deficit on the monocycle of guava rust and its effects on gas exchange in guava plants cv. Paluma. For this, potted guava plants were exposed or not to biotic (*A. psidii*) and abiotic (moderate water deficit) stresses, in a single or a combined situation. To evaluate the disease behavior and the damage caused to the guava plants, the rust monocyclic components and gas exchange variables related to plant photosynthesis were quantified. The rust latent periods estimated in guava plants submitted and not submitted to water deficit were, respectively, 12.1 and 13.3 days in experiment 1, and 8.2 and 8.4 days in experiment 2. The density of sporulating lesions was higher in guava plants submitted to water deficit (proportions of 0.41 and 0.49, respectively to the experiments 1 and 2) than in guava plants only inoculated with *A. psidii* (proportions of 0.34 and 0.18, respectively to the experiments 1 and 2). However, rust severity was higher in guava plants submitted to water deficit (41%) than in guava plants not submitted to water deficit (24%), only in experiment 2. In both experiments, the mean values of areas under the CO<sub>2</sub> assimilation and transpiration curves were significantly lower in diseased plants submitted to water deficit than in those inoculated with *A. psidii* only. At 30 days post inoculation, the average reductions in CO<sub>2</sub> assimilation, stomatal conductance and transpiration of diseased guava plants simultaneously exposed to water deficit were 53%, 58% and 54%, respectively, in comparison to the plants only exposed to the pathogen.

Keywords: Biotic stress; Water stress; Myrtle rust; *Psidium guajava*; Rust severity

### 3.1. Introdução

Doenças de plantas são o resultado da interação entre população do patógeno, população do hospedeiro e ambiente. Dos três componentes do triângulo da doença, apenas o ambiente é capaz de modular o desenvolvimento das epidemias durante períodos curtos de tempo, como uma safra, pois o hospedeiro não sofre modificações genéticas nesse período e a

população patogênica aumenta, principalmente, de forma clonal (Bergamin Filho & Amorim, 1996). A interação patógeno-hospedeiro pode sofrer ação de variáveis ambientais, as quais afetam direta ou indiretamente a distribuição geográfica e a intensidade da doença (Bedendo et al., 2018). Apesar da importância do clima nas doenças de plantas, atualmente não há informações consistentes a respeito dos impactos das mudanças climáticas globais no cenário fitossanitário (Chakraborty et al., 2000). Esse tema vem sendo discutido ao longo dos anos por profissionais da área ao redor do mundo (Coakley et al., 1999; Chakraborty et al., 2000; Ghini et al., 2008; Chakraborty & Newton, 2011; Eastburn et al., 2011; Fitt et al., 2011; Garrett et al., 2011; Ghini et al., 2011; Juroszeck & von Tiedemann, 2011; Luck et al., 2011; Savary et al., 2011; Shaw & Osborne, 2011; Sturrock et al., 2011; Dixon, 2012; Velásquez et al., 2018) e, gradativamente, vem adquirindo mais relevância, haja vista que as mudanças climáticas antropogênicas estão cada vez mais evidentes nos dias atuais, segundo projeções fornecidas pelo relatório do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (Bates et al., 2008). Mudanças de temperatura, precipitação e frequência de eventos extremos podem interferir na epidemiologia das doenças (Chakraborty et al., 2000), através da modificação no metabolismo e desenvolvimento do patógeno, do hospedeiro ou de organismos vetores (Coakley et al., 1999; Chakraborty et al., 2000; Harvell et al., 2002).

As plantas crescem e se reproduzem em ambientes complexos, constituídos por uma ampla diversidade de fatores bióticos e abióticos (Taiz et al., 2017). Dadas as mudanças climáticas previstas, a exposição das plantas a condições extremas, como alta temperatura e períodos prolongados de seca, tende a aumentar (Prasch & Sonnewald, 2013; Zhang & Sonnewald, 2017). Estresse abiótico pode ser qualquer condição ambiental que impeça a planta de alcançar seu máximo potencial genético. A redução na disponibilidade de água, por exemplo, tem um efeito deletério no crescimento (Hsiao, 1973; Taiz et al., 2017). Os impactos dos estresses abióticos no desenvolvimento das plantas vêm sendo estudados extensivamente, porém o efeito da interação entre estresses abióticos e bióticos no comportamento de plantas cultivadas é um assunto ainda pouco explorado. Apenas recentemente tem-se dado atenção à combinação de estresses abióticos associados a estresses bióticos, como aqueles provocados por doenças de plantas. As respostas a múltiplos estresses são complexas e diferentes combinações de estresse biótico e abiótico devem ser tratadas como um novo estado de estresse em plantas, já que ele não corresponde ao efeito aditivo dos estresses aplicados isoladamente (Anderson et al., 2004; Mittler, 2006; Atkinson & Urwin, 2012; Atkinson et al., 2013; Prasch & Sonnewald, 2013; Suzuki et al., 2014; Ramegowda & Senthil-Kumar, 2015; Zhang & Sonnewald, 2017). Diante desse cenário, para melhor prever os impactos das



mudanças climáticas nas doenças de plantas, se faz necessário quantificar os efeitos individuais e sinérgicos de estresses abióticos sobre as doenças, a fim de propor medidas de manejo para mitigar os danos por elas causados.

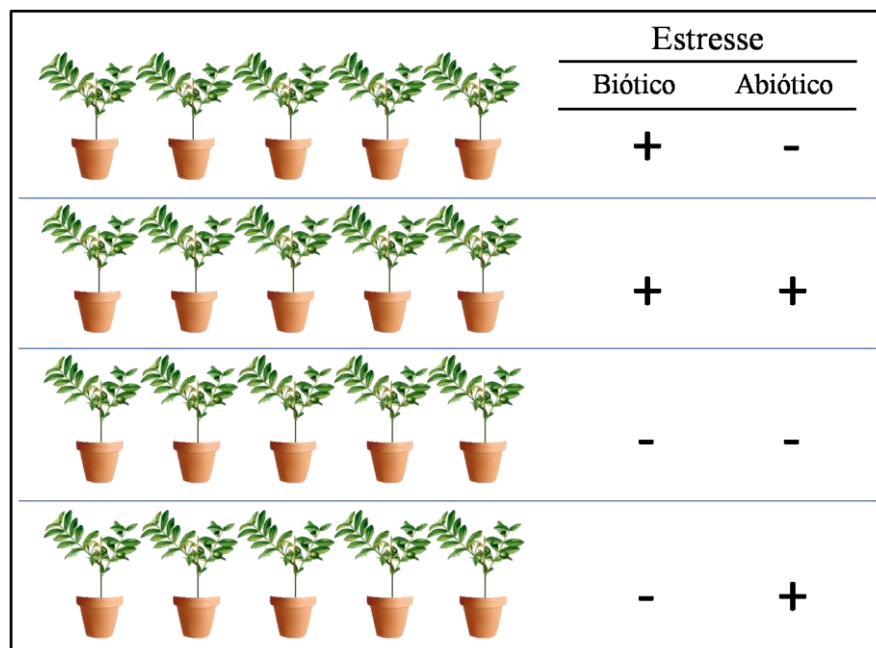
A ferrugem da goiabeira, também conhecida como ferrugem das mirtáceas, é uma das principais doenças da fruteira, podendo ocasionar decréscimo significativo na produção de frutos (Martins et al., 2014; Piccinin et al., 2016). A doença é causada pelo fungo *Austropuccinia psidii* (anteriormente *Puccinia psidii*, Winter) (Beenken, 2017) e foi descrita pela primeira vez no Brasil, em 1884, causando lesões em folhas de goiabeira, em São Francisco do Sul-SC. Até 2006, a distribuição geográfica da ferrugem das mirtáceas estava limitada às Américas. Entretanto, atualmente, o patógeno está distribuído em todos os continentes, exceto na Europa (Carnegie & Pegg, 2018), infectando uma ampla gama de mirtáceas, o que faz dessa doença uma ameaça de importância global (Coutinho et al., 1998; Tommerup et al., 2003; Carnegie et al., 2016; Pegg et al., 2017; Lawson et al., 2018; Soewarto et al., 2019). O patógeno é um sério problema em eucalipto, principalmente em viveiros, e em várias espécies de mirtáceas que compõem a vegetação natural (Tommerup et al., 2003). Na Austrália, onde foi recentemente detectada, a ferrugem é uma ameaça ainda maior, em razão dos ecossistemas naturais serem constituídos predominantemente por mirtáceas e por terem evoluído na ausência do patógeno. Cogita-se que a introdução recente da doença naquele país pode levar espécies nativas à extinção (Carnegie et al., 2016; Pegg et al., 2017; Winzer et al., 2018), além do impacto na indústria florestal, um dos setores mais produtivos para a economia australiana (Lawson et al., 2018). No Brasil, *A. psidii* causa danos em goiabeira, tanto em pomares comerciais quanto domésticos, e em outras espécies da família Myrtaceae (Tommerup et al., 2003; Piccinin et al., 2016).

Apesar da importância global da doença, as informações acerca da sua epidemiologia na goiabeira são escassas, embora haja muita informação sobre os componentes monocíclicos da ferrugem do eucalipto e do jambeiro. Sabe-se, por exemplo, que urediniosporos de *A. psidii* são capazes de penetrar folhas jovens de jambeiro e de eucalipto diretamente (Hunt, 1968; Xavier et al., 2001; Yong et al., 2019), mas não conseguem penetrar folhas completamente expandidas (Xavier et al., 2015; Silva-Souza et al., 2017). Também são conhecidas as condições favoráveis à germinação e penetração do patógeno em folhas de eucalipto: temperaturas de 20 a 25 °C, saturação do ambiente e ausência de luz (Ruiz et al., 1989; Kriticos et al., 2013). Os períodos de incubação e latência da ferrugem variam em torno de 5 a 12 dias em eucalipto (Ferreira, 1981; Castro et al., 1983; Ruiz et al., 1989), de 7 a 10 dias em jambeiro e de 8 a 12 dias em goiabeira (Castro et al., 1983; Coelho et al., 2001). O

período infeccioso em eucalipto é longo, ao redor de 30 dias, com produção intermitente de uredinósporos (Castro et al., 1984). Também não há, para a ferrugem das mirtáceas, informações sobre o efeito de estresses abióticos no desenvolvimento da doença. Sabe-se que para outros patossistemas a associação de estresse hídrico e estresse biótico resulta em aumento da intensidade da doença (Boyer, 1995; McElrone et al., 2001; Choi et al., 2013). Em alguns casos, também observa-se redução de variáveis relacionadas à fotossíntese da planta, e a magnitude dessa modificação é maior nas plantas doentes submetidas ao estresse hídrico do que naquelas exclusivamente expostas ao patógeno (Mayek-Pérez et al., 2002; McElrone et al., 2003; McElrone & Forseth, 2004). Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os componentes monocíclicos da ferrugem da goiabeira associada à limitação hídrica moderada e seu efeito nas trocas gasosas das folhas do hospedeiro.

### 3.2. Material e métodos

Para testar a hipótese deste estudo, goiabeiras foram expostas a estresse abiótico (limitação hídrica moderada) e biótico (*A. psidii*), aplicados de forma isolada e combinada, conforme ilustrado no esquema da Figura 10. Foram estimados os componentes monocíclicos da doença e as trocas gasosas das folhas. Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da ESALQ-USP, Piracicaba-SP.



**Figura 10.** Esquema ilustrativo dos tratamentos que foram aplicados nos experimentos para avaliar os componentes monocíclicos da ferrugem e as trocas gasosas em folhas de goiabeiras cv. Paluma

envasadas sob estresse biótico (inoculadas com *Austropuccinia psidii*) e abiótico (submetidas à limitação hídrica moderada) aplicadas isolada ou associadamente, sob delineamento inteiramente casualizado. Cada vaso representa uma repetição e o experimento foi realizado 2 vezes. Símbolos + indicam presença de estresse e –, ausência de estresse.

### 3.2.1. Material vegetal

Mudas de goiabeira da cv. Paluma, de aproximadamente 30 cm de altura, foram adquiridas de viveirista localizado no município de Brotas-SP, transplantadas em vasos de plástico de 7 L, contendo 6 L de substrato esterilizado de textura arenosa (111, 19 e 870 g.kg<sup>-1</sup> de argila, silte e areia, respectivamente) e mantidas em casa-de-vegetação. As adubações foram realizadas mensalmente via solo e via foliar, de acordo com as exigências nutricionais da goiabeira (Costa & Costa, 2003) e as análises químicas do substrato. Os vasos foram irrigados, diariamente, de acordo com a demanda hídrica de cada tratamento (item 3.2.2).

### 3.2.2. Estresse abiótico

A limitação hídrica foi estabelecida com base na capacidade de água disponível (*CAD*) e na água facilmente disponível (*AFD*) no substrato para as plantas, determinadas de acordo com as equações 1 e 4 (Frizzzone, 2017; Teixeira et al., 2017).

$$CAD = U_{CC} - U_{PMP} \quad (\text{eq. 1})$$

onde *CAD* é o intervalo entre a umidade na capacidade de campo ( $U_{CC}$ ) e a umidade no ponto de murcha permanente ( $U_{PMP}$ ). Para a determinação da capacidade de campo do substrato no vaso foi utilizada a metodologia gravimétrica adaptada de Casaroli & Jong van Lier (2008). Segundo os autores, analogicamente ao conceito de capacidade de campo, em estudos com plantas cultivadas em vasos, utiliza-se frequentemente o termo “capacidade de vaso”. Para determinação da capacidade de vaso, o substrato acomodado no vaso com a planta foi colocado para saturar em uma caixa-d’água com volume de água equivalente a 2/3 da altura dos vasos, onde foram mantidos por um período de 24 h. Logo após, os vasos com as plantas foram cobertos com saco plástico, para evitar a evapotranspiração, e colocados para drenar livremente até drenagem completa (normalmente 48 h para solo arenoso). Nesse momento, o substrato estava em sua capacidade de vaso, sendo aferido seu peso para o controle de umidade. Cinco vasos contendo substrato e planta foram submetidos aos procedimentos

descritos anteriormente, os quais passaram a ser chamados de vasos de controle de umidade, uma vez que a capacidade de vaso destes foi extrapolada para os vasos do experimento.

Para determinação da umidade na capacidade de vaso foi adaptada a metodologia proposta por Teixeira et al. (2017), na qual a amostra do substrato foi adicionada em um recipiente de alumínio de massa conhecida, pesada (amostra úmida + recipiente) em balança com precisão de 0,001 g e transferida para estufa de circulação forçada de ar a 60 °C por 72 h. Por fim, a amostra foi mantida em dessecador até esfriar e pesada (amostra seca + recipiente). A umidade em base gravimétrica foi obtida através da seguinte equação:

$$CGA = (A_u - A_s) / A_s \quad (\text{eq. 2})$$

em que *CGA* é o conteúdo gravimétrico de água ( $\text{g.g}^{-1}$ ),  $A_u$  é a massa da amostra úmida (g) e  $A_s$  é a massa da amostra seca a 60 °C (g) após atingir peso constante (g).

O ponto de murcha permanente (*PMP*) foi estimado em câmaras de Richards com placas porosas de cerâmica, conforme descrito por Teixeira et al. (2017). Esse procedimento foi realizado no Laboratório de Física do Solo da Divisão de Funcionamento de Ecossistemas Tropicais do CENA-USP. Para determinação do conteúdo de água no *PMP*, foi adotada a equação abaixo:

$$PMP = (A_s - A_p) / A_p \quad (\text{eq. 3})$$

onde *PMP* é o conteúdo gravimétrico de água no potencial de 1.500 kPa ( $\text{g.g}^{-1}$ ),  $A_s$  é a massa da amostra do substrato após ser equilibrada no potencial de 1.500 kPa (g) e o  $A_p$  é a massa de substrato seco a 60 °C após atingir peso constante (g).

Após a determinação da capacidade de vaso e do ponto de murcha permanente, foi possível estimar a *CAD* (Eq. 1). No entanto, a água no solo não está igualmente disponível para as plantas em todo o intervalo de umidade disponível, assim a *AFD*, calculada pela equação 4, representa a lâmina máxima de água que a planta pode consumir entre duas irrigações sucessivas, sem sofrer estresse hídrico.

$$AFD = CAD * f \quad (\text{eq. 4})$$

onde *f* é o fator de disponibilidade de água da cultura, indicando a fração da *CAD* do solo que a planta é capaz de absorver. Assim, o fator de disponibilidade (fator *f*) define a umidade

mínima do solo, ou umidade crítica, à qual a planta pode ser submetida sem afetar significativamente a sua produção. O fator  $f$  para a goiabeira é de 0,5 (Coelho et al., 2000; Silva & Coelho, 2003), ou seja, a frutífera é capaz de utilizar até 50% da CAD sem sofrer estresse hídrico. Embora o fator de disponibilidade da goiabeira seja encontrado na literatura, ele foi determinado por meio de um experimento preliminar. Para tal, plantas envasadas foram mantidas em substrato com umidades correspondentes a 30, 40, 45, 50, 80 e 100% da CAD, e tiveram suas trocas gasosas aferidas com um analisador portátil de gás infravermelho (Li-6400 XT, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA), em uma área marcada de 2 cm<sup>2</sup> de uma folha por planta, buscando identificar o nível de limitação hídrica moderada. Com base nos resultados obtidos no experimento preliminar, nos tratamentos com limitação hídrica as plantas foram submetidas a uma umidade equivalente a 40% da CAD. Nos tratamentos sem limitação hídrica, por outro lado, as plantas foram mantidas em substrato com umidade equivalente a 80% da CAD.

O controle da umidade do substrato foi efetuado diariamente através da pesagem dos vasos de controle de umidade, extrapolando a demanda hídrica destes para as plantas do experimento. A reposição de água foi feita sempre que a massa dos vasos era inferior à esperada para o nível de umidade aplicado. Os cinco vasos de controle de umidade foram mantidos com 80% da CAD do substrato, assim como os tratamentos sem limitação hídrica. Dessa forma, a reposição diária de água dos tratamentos sem limitação hídrica foi igual à média de reposição dos vasos de controle de umidade. Já para os tratamentos com limitação hídrica, mantidos com 40% da CAD, a reposição de água foi igual à metade da média exigida pelos vasos de controle de umidade.

### 3.2.3. Estresse biótico

As inoculações com *A. psidii* foram realizadas 48 h após o início da aplicação do estresse abiótico. Folhas jovens, de aproximadamente 3 dias, de goiabeiras dos tratamentos com estresse biótico foram inoculadas com suspensão de *A. psidii* na concentração de  $5 \times 10^4$  urediniósporos.mL<sup>-1</sup>, acrescida de Tween 20 (0,05%). O isolado monopustular de *A. psidii* (MN238767) foi obtido e mantido conforme descrito no item 2.2.2 do capítulo 2. A inoculação foi realizada com uso de uma pistola de ar comprimido, nas faces abaxial e adaxial das folhas, com a aplicação de aproximadamente 10 mL de suspensão por planta, até o ponto de escoamento. Após as inoculações, as plantas foram incubadas em câmara úmida, por 24 h, sob temperatura de 23 °C ( $\pm 2$  °C) e ausência de luz. Folhas jovens de goiabeiras sem

estresse biótico foram aspergidas com água destilada e mantidas nas mesmas condições das plantas inoculadas. Após 24 h em câmara úmida, as plantas foram transferidas para casa-de-vegetação, com controle de temperatura ( $25 \pm 5$  °C), onde permaneceram até o fim do experimento.

A viabilidade do inóculo foi quantificada por meio da taxa de germinação dos urediniósporos *in vitro*. Três gotas de 50 µL da suspensão de urediniósporos de *A. psidii* foram depositadas em placas de Petri de poliestireno (90 x 15 mm), contendo meio ágar-água (16 g.L<sup>-1</sup> de ágar e 1 L de água destilada esterilizada). As placas de Petri foram acondicionadas nas mesmas condições das plantas. A germinação dos urediniósporos foi interrompida 24 h após a deposição do inóculo nas placas com a adição de 50 µL de lactoglicerol sobre cada gota de inóculo. Para a avaliação da germinação, foram considerados germinados os urediniósporos que apresentaram o comprimento do tubo germinativo igual ou maior ao seu diâmetro.

#### **3.2.4. Componentes monocíclicos da ferrugem da goiabeira**

Os componentes monocíclicos avaliados foram o período de incubação (período de tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das lesões), o período de latência (período de tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das lesões esporulantes), a densidade de lesões (proporção), a severidade da doença (proporção de área lesionada em áreas de 2 cm<sup>2</sup>) e a esporulação das lesões (número de urediniósporos por lesão aos 32 dias após a inoculação). A densidade de lesões foi avaliada em três áreas de 2 cm<sup>2</sup> por planta e foi expressa em proporção (número de lesões esporulantes por cm<sup>2</sup> de folha/número máximo de lesões por cm<sup>2</sup> de folha em cada experimento). A densidade de lesões e a severidade da doença foram avaliadas diariamente, no início dos sintomas, ou a cada 3 dias, após a estabilização da doença. A severidade da doença foi quantificada com o programa Quant (Vale et al., 2001) com base em imagens digitalizadas, em 3 áreas de 2 cm<sup>2</sup> de folha por repetição.

A esporulação das lesões foi avaliada 32 dias após a inoculação. Para tanto, três discos foliares de 1,13 cm<sup>2</sup> foram retirados de cada planta e transferidos para tubo Falcon (15 mL) contendo 2 mL de água destilada e 0,2 mL de lactoglicerol. A suspensão contendo os discos foi homogeneizada em agitador (AP-59, Phoenix) por 1 min para remoção dos urediniósporos e, na sequência, os discos foliares foram removidos da suspensão. Por fim, a concentração de urediniósporos da suspensão foi determinada com hemocítômetro. A

esporulação das lesões foi obtida a partir da razão entre a concentração de urediniósporos da suspensão e o número de lesões esporulantes existentes nos discos foliares.

O modelo monomolecular

$$y = y_{\max} - (y_{\max} - b_1) \exp(-rt) \quad (\text{eq. 5})$$

no qual  $y$  representa a intensidade da ferrugem,  $y_{\max}$  representa a assíntota,  $b_1$  é a quantidade inicial de doença,  $r$  representa a taxa de incremento da doença ( $\text{dia}^{-1}$ ) e  $t$ , o tempo (dias após a inoculação), foi ajustado às curvas de densidade de lesões e de severidade da doença ao longo do tempo (Bergamin Filho, 2018), por regressão não-linear, utilizando o programa Statistica v.7 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA).

### 3.2.5. Trocas gasosas em folhas de goiabeira

As trocas gasosas das folhas foram avaliadas com um analisador portátil de gás infravermelho (Li-6400 XT, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA), em áreas marcadas de  $2 \text{ cm}^2$ . Nas áreas amostradas foram avaliadas a assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ) e a taxa de transpiração ( $E$ ). A pressão parcial de  $\text{CO}_2$  no ar ( $Ca$ ) e a densidade de fluxo de fótons fotossintéticos ( $PPFD$ ) durante as medidas de trocas gasosas foram de  $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$  e  $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente. As medições foram realizadas entre 9:00 h e 11:00 h da manhã, semanalmente após o aparecimento dos sintomas. As áreas das folhas selecionadas para essas avaliações foram fotografadas e imagens digitais foram processadas com o programa Quant para estimar a severidade da doença em cada avaliação. Foi considerada como área doente, a área necrosada e a clorose próxima às lesões na face adaxial das folhas.

As severidades da ferrugem nas áreas onde foram realizadas as avaliações de trocas gasosas foram relacionadas com a fotossíntese líquida relativa de acordo com o modelo (Bastiaans, 1991):

$$Px/Po = (1 - x)^\beta \quad (\text{eq. 6})$$

onde  $Px$  é a fotossíntese líquida de uma folha com severidade  $x$  e  $Po$  é a fotossíntese líquida média de folhas saudáveis. Os dados obtidos foram utilizados para estimar o valor de  $\beta$ , o qual corresponde ao efeito da severidade da ferrugem na área da folha verde adjacente à lesão.

As áreas abaixo das curvas de *A* e *E* foram estimadas por integração trapezoidal para plantas sadias e inoculadas com *A. psidii* e submetidas ou não à limitação hídrica. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 3.2.6. Área foliar de goiabeira

A área das folhas de goiabeira, nas quais as avaliações foram realizadas foi estimada, uma vez por semana, em duas folhas por planta. Para calcular a área foliar foram medidos, com uma régua, o comprimento (distância entre a junção do pecíolo e o limbo foliar até o ápice da folha) e a largura máxima das folhas. Com essas duas medidas foi possível estimar a área foliar por meio da equação (item 2.3.1 do capítulo 2)

$$y = 0,85x - 3,51 \quad (\text{eq. 7})$$

onde  $y$  é a área foliar ( $\text{cm}^2$ ) e  $x$ , o produto de comprimento pela largura do limbo foliar ( $\text{cm}^2$ ).

### 3.2.7. Crescimento dos ramos e massas secas da parte aérea e da raiz de goiabeira

O número de pares de folhas das mudas de goiabeira foi quantificado no dia da inoculação com *A. psidii* e ao término dos experimentos, aproximadamente 34 dias após a inoculação. O crescimento dos ramos foi determinado a partir da diferença entre o número de pares de folhas ao término dos experimentos e o número de pares de folhas no dia da inoculação. As massas secas da parte aérea e da raiz das goiabeiras também foram determinadas ao término dos experimentos. Para a quantificação da massa seca, a parte aérea das goiabeiras foi cortada em fragmentos de aproximadamente 6 cm, que foram transferidos para sacos de papel devidamente identificados. Em seguida, os vasos com substrato foram colocados para saturar em uma caixa-d'água com volume de água equivalente a 2/3 da altura dos vasos, onde foram mantidos por um período de 24 h, para facilitar a remoção das raízes. Após esse período, as raízes foram lavadas em água corrente, mantidas sob temperatura ambiente para secar e colocadas em sacos de papel. Os sacos de papel contendo o material vegetal foram colocados em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C por 48 h para secagem. Por fim, as massas da parte aérea e da raiz foram estimadas em balança de precisão.



Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o programa Statistica v.7 (StatSoft Inc., Tulsa, USA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p \geq 0,05$ ).

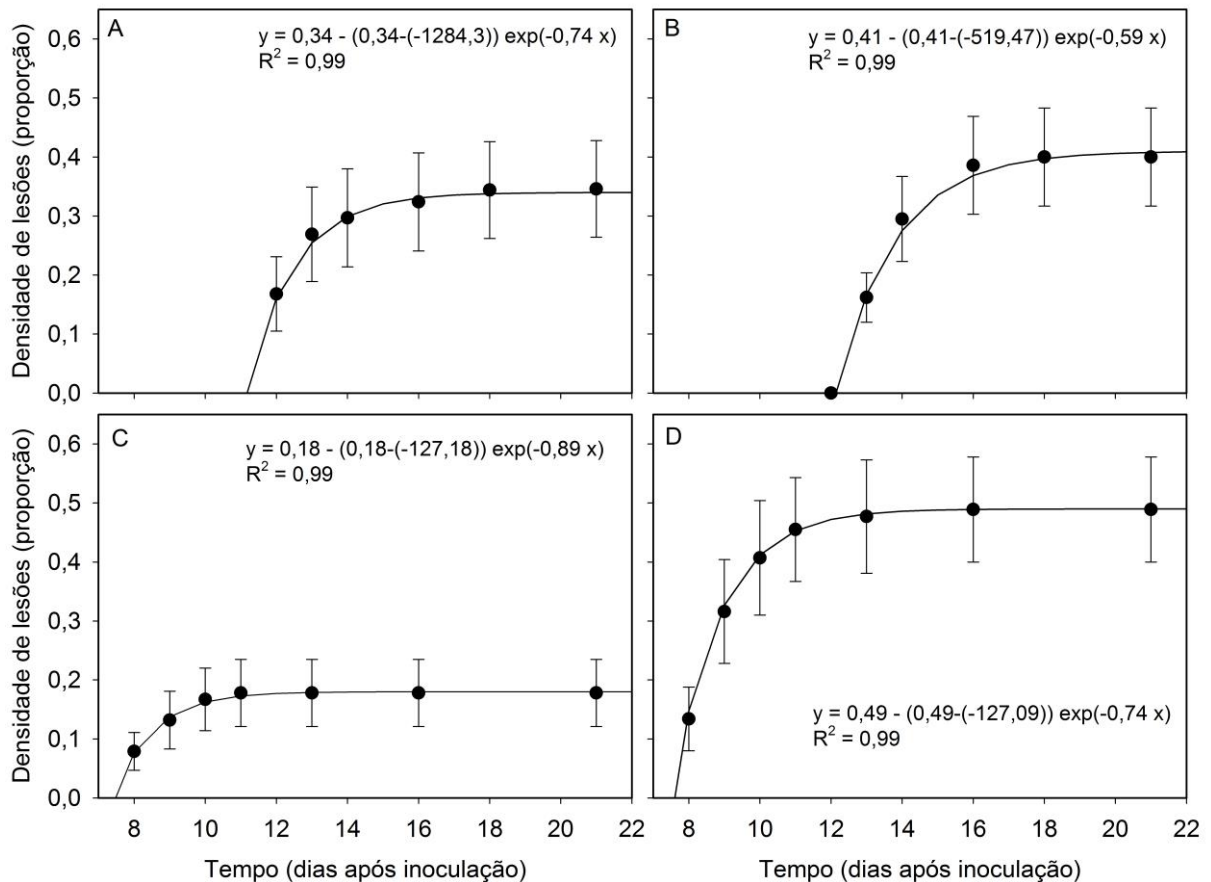
### 3.3. Resultados

Os inóculos de *A. psidii* utilizados nos experimentos 1 e 2 apresentaram taxa de germinação de urediniósporos *in vitro* de 92,20% e 95,25%, respectivamente. No experimento 1, a densidade de lesões de *A. psidii* em goiabeiras sem limitação hídrica foi de (mínima, média e máxima): 2,60, 12,80 e 18,40 lesões esporulantes.cm<sup>-2</sup>, enquanto a densidade de lesões em goiabeiras com limitação hídrica foi de 3,67, 14,80 e 21,83 (Fig. 11A e B). No experimento 2, a densidade de lesões de *A. psidii* em goiabeiras sem limitação hídrica foi de (mínima, média e máxima): 5,75, 12,80 e 18,50 lesões esporulantes.cm<sup>-2</sup>, enquanto a densidade de lesões em goiabeiras com limitação hídrica foi de 16,17, 35,20 e 56,17 (Fig. 11C e D). O modelo monomolecular mostrou bom ajuste à densidade de lesões de *A. psidii* em goiabeiras expostas ou não à limitação hídrica ( $R^2 = 0,99$ ), em ambos os experimentos (Fig. 11). No experimento 1, os valores da assíntota ( $y_{\max}$ ) estimados para a densidade de lesões foram de 0,34 e 0,41, em goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente (Tabela 4; Fig. 11A e B). No experimento 2, os valores de  $y_{\max}$  estimados para a densidade de lesões foram de 0,18 e 0,49, em goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente (Tabela 4; Fig. 11C e D). As taxas  $r$  de incremento da doença no experimento 1 foram de 0,74 e 0,59 dia<sup>-1</sup>, em goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente (Tabela 4; Fig. 11A e B). No experimento 2, as taxas  $r$  de incremento da doença foram de 0,89 e 0,74 dia<sup>-1</sup>, em goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente (Tabela 4; Fig. 11C e D).

**Tabela 4.** Valores dos parâmetros, erro padrão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) estimados pelo modelo monomolecular para o incremento da densidade de lesões esporulantes de *Austropuccinia psidii* ao longo do tempo, em goiabeiras cv. Paluma, submetidas ou não à limitação hídrica moderada, nos dois experimentos.

Limitação hídrica	Experimento 1				Experimento 2			
	$y_{\max}$ (erro)	$b_1$ (erro)	$r$ (erro)	$R^2$	$y_{\max}$ (erro)	$b_1$ (erro)	$r$ (erro)	$R^2$
-	0,34* (0,006)	-1284,25 (1623,912)	0,74 (0,106)	0,99	0,18* (0,003)	-127,18 (109,413)	0,89 (0,107)	0,99
+	0,41 (0,012)	-519,47 (407,579)	0,59 (0,066)	0,99	0,49 (0,002)	-127,09 (16,346)	0,74 (0,016)	0,99

Símbolos + indicam presença de limitação hídrica e -, ausência de limitação hídrica. \* representam diferença significativa entre os parâmetros pelo teste  $t$  de Student ( $p \leq 0,05$ ).

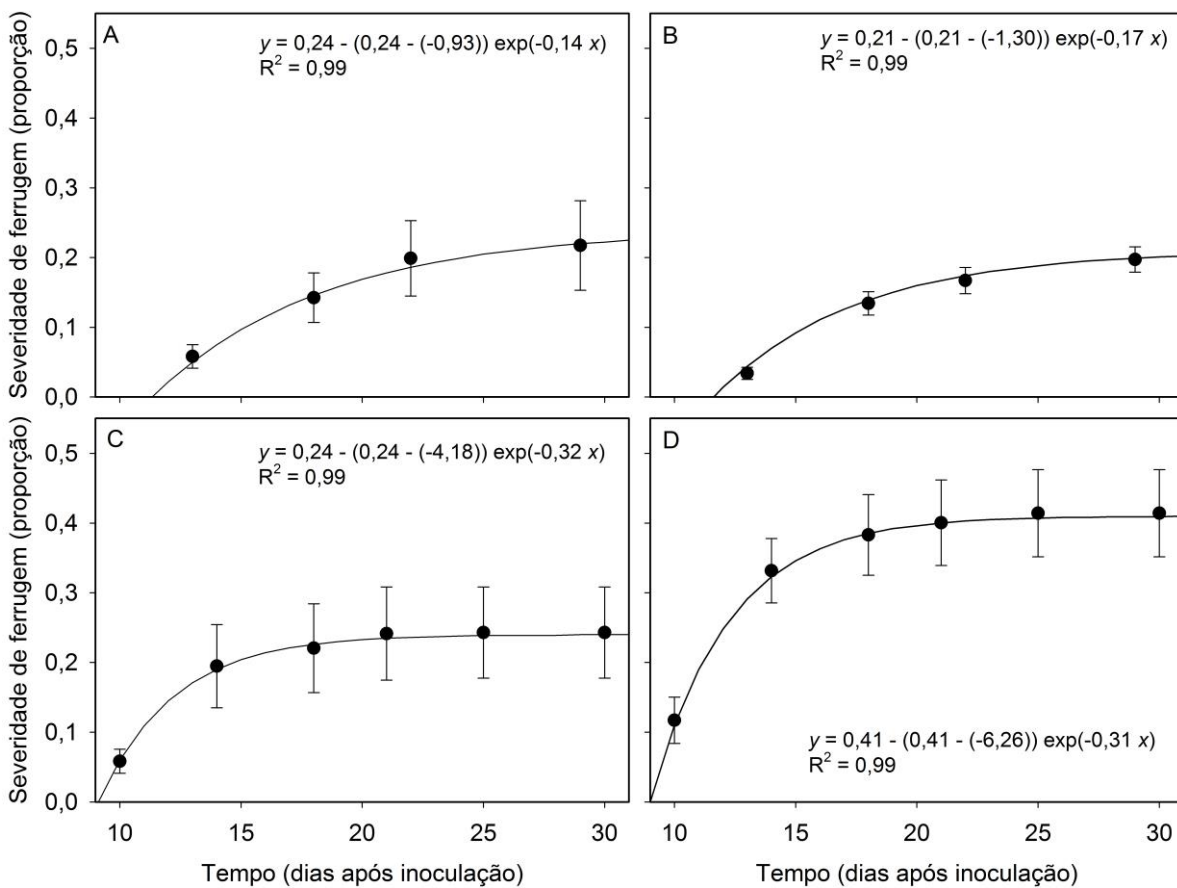


**Figura 11.** Densidade de lesões esporulantes da ferrugem (*Austropuccinia psidii*) em goiabeiras cv. Paluma, nos experimentos 1 (A e B) e 2 (C e D), submetidas (B e D) ou não (A e C) à limitação hídrica moderada. As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). As linhas representam o modelo monomolecular [ $y = y_{\max} - (y_{\max} - b_1) \exp(-rt)$ , onde  $y$  representa a densidade de lesões,  $y_{\max}$  representa a assíntota,  $b_1$  é a quantidade inicial de doença,  $r$  representa a taxa de incremento da doença ( $\text{dia}^{-1}$ ) e  $t$ , o tempo (dias após a inoculação)].

No experimento 1, os períodos de latência estimados para a ferrugem foram de 12,1 e 13,3 dias, em goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente. Os períodos de latência estimados para a ferrugem no experimento 2 foram de 8,2 e 8,4 dias, respectivamente, em goiabeiras sem e com limitação hídrica.

As médias de severidade da ferrugem no experimento 1 atingiram aproximadamente 21,73% e 19,72%, respectivamente, em goiabeiras sem e com limitação hídrica (Fig. 12A e B). No experimento 2, as médias de severidade da ferrugem atingiram 24,29% e 41,40% em goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente (Fig. 12C e D). Assim como para a densidade de lesões, o modelo monomolecular mostrou bom ajuste à severidade da ferrugem em ambos os experimentos ( $R^2 = 0,99$ ) (Fig. 12). No experimento 1, os valores de  $y_{\max}$  estimados para a severidade da ferrugem foram de 0,24 e 0,21, em goiabeiras sem e com

limitação hídrica, respectivamente (Tabela 5; Fig. 12A e B). No experimento 2, os valores de  $y_{\max}$  estimados para a severidade da ferrugem foram de 0,24 e 0,41, em goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente (Tabela 5; Fig. 12C e D). As taxas  $r$  de incremento da doença no experimento 1 foram de 0,14 e 0,17  $\text{dia}^{-1}$ , em goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente (Tabela 5; Fig. 12A e B). No experimento 2, as taxas  $r$  de incremento da doença foram de 0,32 e 0,31  $\text{dia}^{-1}$ , em goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente (Tabela 5; Fig. 12C e D).



**Figura 12.** Severidade de ferrugem (*Austropuccinia psidii*) em goiabeiras cv. Paluma, nos experimentos 1 (A e B) e 2 (C e D), submetidas (B e D) ou não (A e C) à limitação hídrica moderada. As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). As linhas representam o modelo monomolecular [ $y = y_{\max} - (y_{\max} - b_1) \exp(-rt)$ ], onde  $y$  representa a densidade de lesões,  $y_{\max}$  representa a assíntota,  $b_1$  é a quantidade inicial de doença,  $r$  representa a taxa de incremento da doença ( $\text{dia}^{-1}$ ) e  $t$ , o tempo (dias após a inoculação)].

**Tabela 5.** Valores dos parâmetros, erro padrão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) estimados pelo modelo monomolecular para a severidade da ferrugem (*Austropuccinia psidii*) ao longo do tempo, em goiabeiras cv. Paluma, submetidas ou não à limitação hídrica moderada, nos dois experimentos.

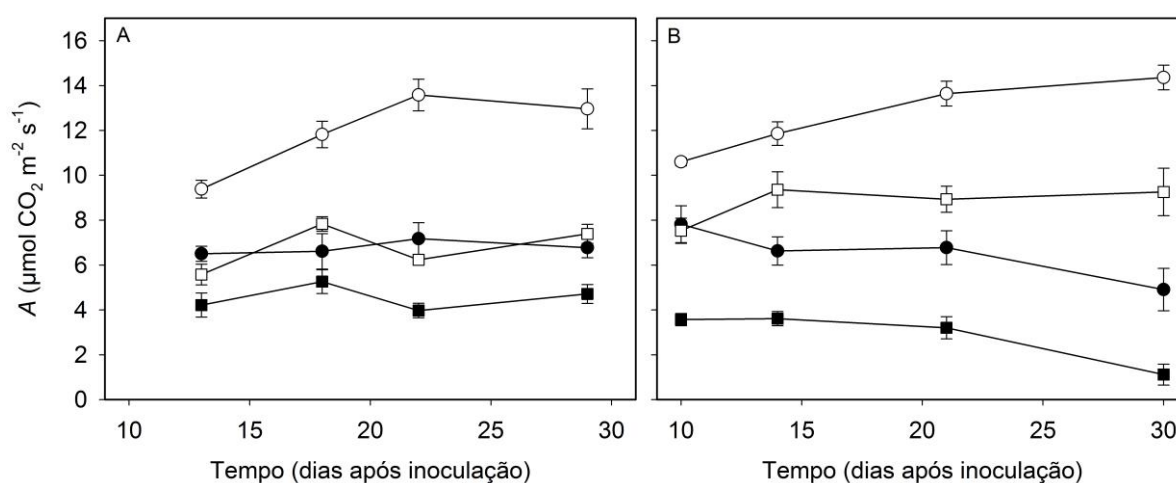
Limitação hídrica	Experimento 1				Experimento 2			
	$y_{max}$ (erro)	$b_1$ (erro)	$r$ (erro)	$R^2$	$y_{max}$ (erro)	$b_1$ (erro)	$r$ (erro)	$R^2$
-	0,24 (0,028)	-0,93 (0,706)	0,14 (0,053)	0,99	0,24* (0,037)	-4,18 (1,388)	0,32 (0,032)	0,99
+	0,21 (0,006)	-1,30 (0,247)	0,17 (0,014)	0,99	0,41 (0,003)	-6,26 (1,103)	0,31 (0,017)	0,99

Símbolos + indicam presença de limitação hídrica e -, ausência de limitação hídrica. \* representa diferença significativa entre os parâmetros pelo teste  $t$  de Student ( $p \leq 0,05$ ).

No experimento 1, aos 32 dias após a inoculação, as médias de esporulação das lesões em goiabeiras sem e com limitação hídrica foram de  $6,2 \cdot 10^3$  (erro padrão =  $1,7 \cdot 10^3$ ) e  $3,1 \cdot 10^3$  (erro padrão =  $2,1 \cdot 10^2$ ) urediniósporos.lesão<sup>-1</sup>, respectivamente. No experimento 2, aos 32 dias após a inoculação, as médias de esporulação das lesões em goiabeiras sem e com limitação hídrica foram de  $7,8 \cdot 10^3$  (erro padrão =  $2,0 \cdot 10^3$ ) e  $4,2 \cdot 10^3$  (erro padrão =  $6 \cdot 10^2$ ) urediniósporos.lesão<sup>-1</sup>, respectivamente. Em ambos os experimentos, não houve diferença significativa, pelo teste  $t$  de Student ( $p \leq 0,05$ ), na produção de urediniósporos de *A. psidii* em goiabeiras expostas e não expostas à limitação hídrica.

Os valores médios de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ) das goiabeiras sadias sem e com limitação hídrica no experimento 1, aos 29 dias após a inoculação, foram de  $12,96 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $7,39 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 13A). No experimento 2, os valores médios de  $A$  das goiabeiras sadias sem e com limitação hídrica, aos 30 dias após a inoculação, foram de  $14,36 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $9,26 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 13B). Os valores médios de  $A$  das goiabeiras inoculadas sem e com limitação hídrica no experimento 1, aos 29 dias após a inoculação, foram de  $6,77 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $4,71 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 13A). No experimento 2, os valores médios de  $A$  das goiabeiras inoculadas sem e com limitação hídrica, aos 30 dias após a inoculação, foram de  $4,91 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $1,12 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 13B). As porcentagens médias de redução no valor de  $A$  das goiabeiras inoculadas e com limitação hídrica simultaneamente em relação às goiabeiras expostas ao estresse biótico isoladamente foram de 30,43% e 77,19%, aos 29 e 30 dias após a inoculação, nos experimentos 1 e 2, respectivamente (Fig. 13A e B). Os valores de áreas abaixo das curvas (AUC) de  $A$  foram significativamente menores em goiabeiras inoculadas e submetidas à limitação hídrica simultaneamente que aqueles obtidos nos demais tratamentos, em ambos os experimentos (Tabela 6). No experimento 1, os valores de AUC de  $A$  em goiabeiras sadias e com limitação

hídrica foram equivalentes aos valores de AUC de *A* em goiabeiras inoculadas e sem limitação hídrica, os quais foram significativamente menores que os de AUC de *A* em goiabeiras sadias e sem limitação hídrica (Tabela 6). No experimento 2, os valores de AUC de *A* em goiabeiras inoculadas e sem limitação hídrica foram significativamente menores que os valores de AUC de *A* em goiabeiras sadias e com limitação hídrica (Tabela 6). Os valores de AUC de *A* em goiabeiras sadias e sem limitação hídrica no experimento 2 foram significativamente maiores em relação aos demais tratamentos (Tabela 6).



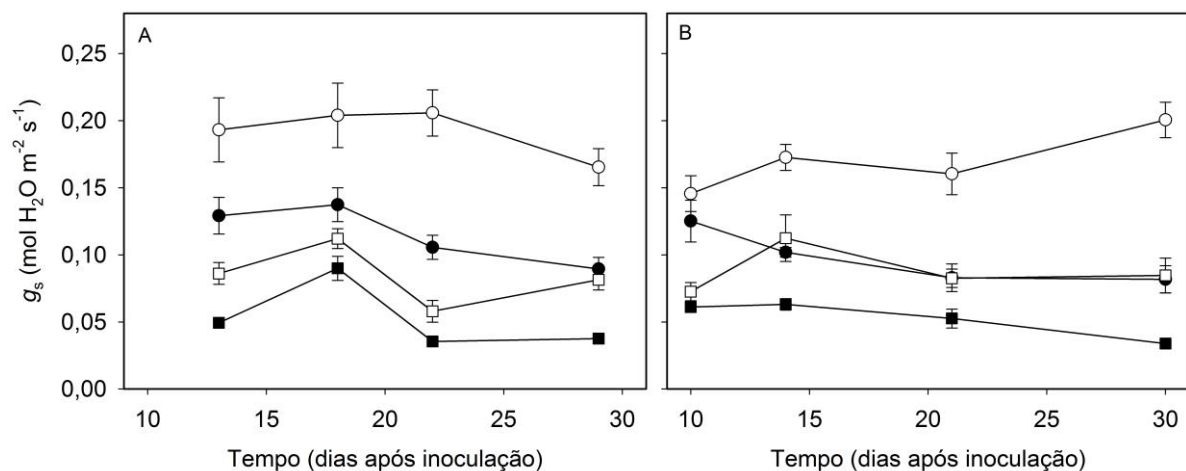
**Figura 13.** Assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  (A) em goiabeiras cv. Paluma sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, submetidas ou não à limitação hídrica moderada, nos experimentos 1 (A) e 2 (B). As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). Círculos brancos representam plantas sadias não submetidas à limitação hídrica; quadrados brancos representam plantas sadias submetidas à limitação hídrica; círculos pretos representam plantas inoculadas não submetidas à limitação hídrica; quadrados pretos representam plantas inoculadas submetidas à limitação hídrica. A primeira avaliação foi realizada após o aparecimento dos primeiros sintomas de ferrugem.

**Tabela 6.** Valores das áreas abaixo das curvas de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  (AUCA) e de transpiração (AUCE) em goiabeiras cv. Paluma sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, submetidas ou não à limitação hídrica moderada, nos dois experimentos.

Tratamento		Experimento 1		Experimento 2	
<i>A. psidii</i>	Limitação hídrica	AUCA $\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$	AUCE $\text{kmol H}_2\text{O m}^{-2}$	AUCA $\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$	AUCE $\text{kmol H}_2\text{O m}^{-2}$
Sadia	–	8,49 a	1,82 a	11,24 a	2,06 a
	+	4,72 b	0,93 c	7,76 b	1,26 b
Inoculada	–	4,72 b	1,23 b	5,55 c	1,21 b
	+	3,13 c	0,64 d	2,49 d	0,75 c

Símbolos + indicam presença de limitação hídrica e –, ausência de limitação hídrica. Valores seguidos pela mesma letra na coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

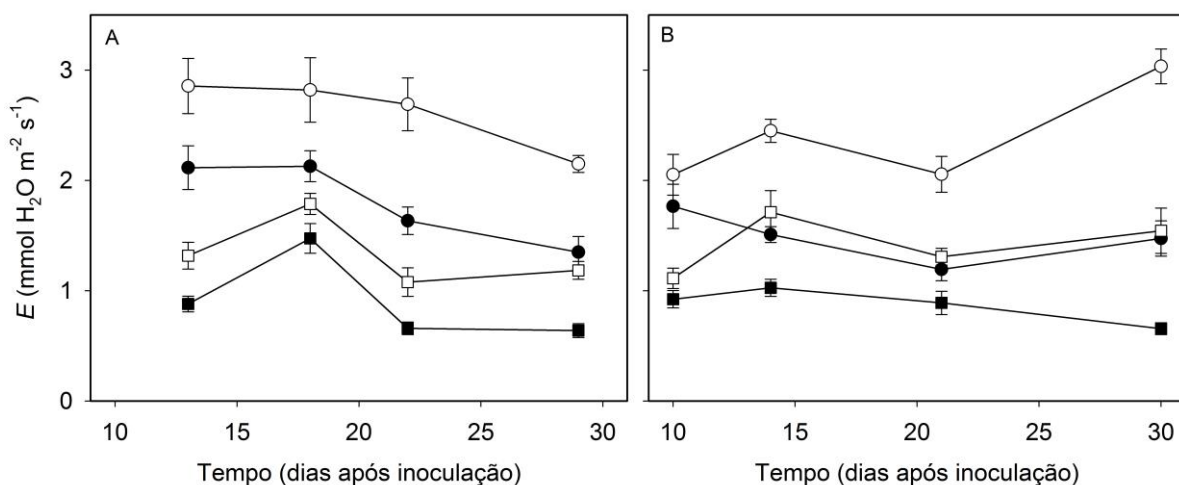
Os valores médios de condutância estomática ( $g_s$ ) das goiabeiras sadias sem e com limitação hídrica no experimento 1, aos 29 dias após a inoculação, foram de  $0,165 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $0,081 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 14A). No experimento 2, os valores médios de  $g_s$  das goiabeiras sadias sem e com limitação hídrica, aos 30 dias após a inoculação, foram de  $0,201 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $0,085 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 14B). Os valores médios de  $g_s$  das goiabeiras inoculadas sem e com limitação hídrica no experimento 1, aos 29 dias após a inoculação, foram de  $0,089 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $0,038 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 14A). No experimento 2, os valores médios de  $g_s$  das goiabeiras inoculadas sem e com limitação hídrica, aos 30 dias após a inoculação, foram de  $0,082 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $0,034 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 14B). A porcentagem média de redução no valor de  $g_s$  das goiabeiras inoculadas e com limitação hídrica simultaneamente em relação às goiabeiras expostas ao estresse biótico isoladamente foi de aproximadamente 58%, aos 30 dias após a inoculação, em ambos os experimentos (Fig. 14A e B).



**Figura 14.** Condutância estomática ( $g_s$ ) em goiabeiras cv. Paluma sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, submetidas ou não à limitação hídrica moderada, nos experimentos 1 (A) e 2 (B). As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). Círculos brancos representam plantas sadias não submetidas à limitação hídrica; quadrados brancos representam plantas sadias submetidas à limitação hídrica; círculos pretos representam plantas inoculadas não submetidas à limitação hídrica; quadrados pretos representam plantas inoculadas submetidas à limitação hídrica. A primeira avaliação foi realizada após o aparecimento dos primeiros sintomas de ferrugem.

Os valores médios de transpiração ( $E$ ) das goiabeiras sadias sem e com limitação hídrica no experimento 1, aos 29 dias após a inoculação, foram de  $2,15 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $1,18 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 15A). No experimento 2, os valores médios de

$E$  das goiabeiras sadias sem e com limitação hídrica, aos 30 dias após a inoculação, foram de  $3,03 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $1,54 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 15B). Os valores médios de  $E$  das goiabeiras inoculadas sem e com limitação hídrica no experimento 1, aos 29 dias após a inoculação, foram de  $1,35 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $0,63 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 15A). No experimento 2, os valores médios de  $E$  das goiabeiras inoculadas sem e com limitação hídrica, aos 30 dias após a inoculação, foram de  $1,47 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $0,66 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 15B). A porcentagem média de redução no valor de  $E$  das goiabeiras inoculadas e com limitação hídrica simultaneamente em relação às goiabeiras expostas ao estresse biótico isoladamente foi de aproximadamente 54%, aos 30 dias após a inoculação, em ambos os experimentos (Fig. 15A e B). Os valores de AUC de  $E$  foram significativamente menores em goiabeiras inoculadas e submetidas à limitação hídrica simultaneamente que aqueles obtidos nos demais tratamentos, em ambos os experimentos (Tabela 6). No experimento 1, os valores de AUC de  $E$  em goiabeiras inoculadas e sem limitação hídrica foram significativamente maiores que os valores de AUC de  $E$  em goiabeiras sadias e com limitação hídrica (Tabela 6). No experimento 2, os valores de AUC de  $E$  em goiabeiras sadias e com limitação hídrica foram equivalentes aos valores de AUC de  $E$  em goiabeiras inoculadas e sem limitação hídrica, os quais foram significativamente menores que os obtidos para a AUC de  $E$  em goiabeiras sadias e sem limitação hídrica (Tabela 6). Em ambos os experimentos, os valores de AUC de  $E$  em goiabeiras sadias e sem limitação hídrica foram significativamente maiores em relação aos demais tratamentos (Tabela 6).



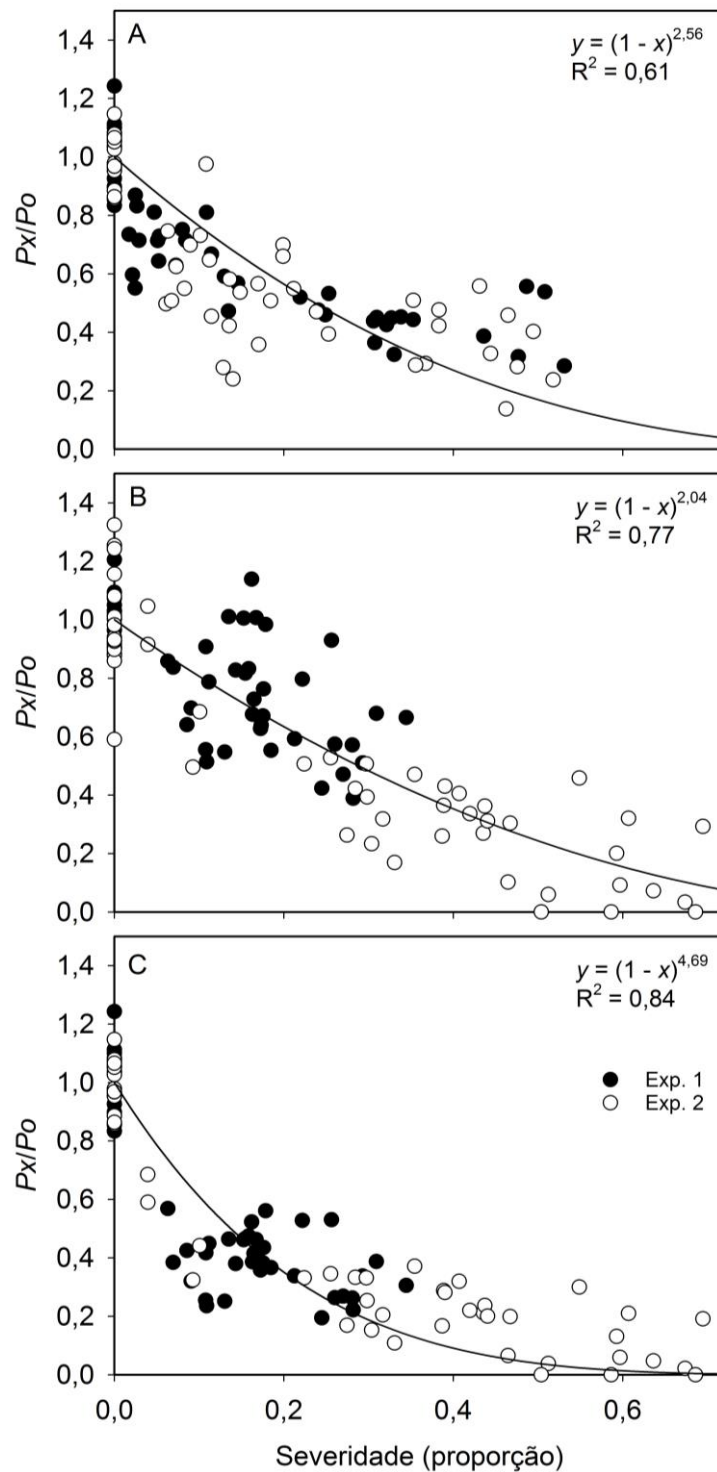
**Figura 15.** Transpiração ( $E$ ) em goiabeiras cv. Paluma sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, submetidas ou não à limitação hídrica moderada, nos experimentos 1 (A) e 2 (B). As barras de erro

correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). Círculos brancos representam plantas sadias não submetidas à limitação hídrica; quadrados brancos representam plantas sadias submetidas à limitação hídrica; círculos pretos representam plantas inoculadas não submetidas à limitação hídrica; quadrados pretos representam plantas inoculadas submetidas à limitação hídrica. A primeira avaliação foi realizada após o aparecimento dos primeiros sintomas de ferrugem.

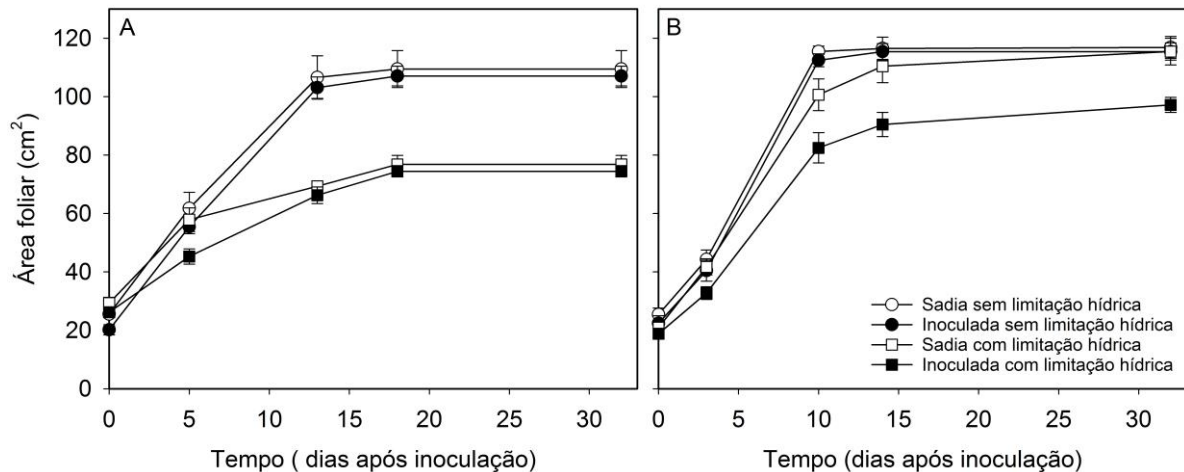
As reduções dos valores de fotossíntese líquida relativa ( $P_x/P_o$ ) causadas pela ferrugem em goiabeiras sem e com limitação hídrica foram proporcionais à severidade da doença, como indicado pelos parâmetros  $\beta$  de 2,56 e 2,04, respectivamente (Fig. 16A e B). De acordo com o modelo de Bastiaans, severidade da ferrugem de 50% reduziu 83% e 76% da  $P_x/P_o$  de goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente (Fig. 16A e B). No entanto, o valor do parâmetro  $\beta$  aumentou para 4,69 quando a  $P_x/P_o$  é expressa pela fotossíntese líquida de goiabeiras doentes submetidas à limitação hídrica em relação à média de fotossíntese líquida de goiabeiras sadias não submetidas à limitação hídrica (Fig. 16C). Nesse caso, severidade da ferrugem de 50% reduziu 96% da  $P_x/P_o$  de goiabeiras doentes e submetidas à limitação hídrica, em relação às goiabeiras sadias não submetidas à limitação hídrica (Fig. 16C).

No experimento 1, as médias de massa seca da parte aérea de goiabeiras inoculadas e submetidas à limitação hídrica, de maneira isolada e combinada, não diferiram estatisticamente entre si. A diferença foi observada somente entre as goiabeiras sadias e sem limitação hídrica e as goiabeiras inoculadas e com limitação hídrica, na qual a massa seca da parte aérea daquelas foi significativamente maior que destas. Em contrapartida, no experimento 1, não foi observado efeito negativo dos estresses aplicados simultaneamente sobre a massa seca da raiz das goiabeiras. No experimento 2, não houve diferença significativa, entre os tratamentos, nas massas secas da parte aérea e da raiz das goiabeiras (Tabela 7). O crescimento dos ramos, no entanto, foi significativamente menor em goiabeiras submetidas à limitação hídrica, sadias e inoculadas, quando comparadas às goiabeiras não submetidas à limitação hídrica (Tabela 8). No experimento 1, as áreas foliares de folhas jovens também foram menores em goiabeiras submetidas à limitação hídrica (Fig. 17A). No experimento 2, esse efeito negativo da limitação hídrica sobre a expansão das folhas de goiabeira foi observado somente quando a limitação hídrica esteve associada ao estresse biótico (Fig. 17B). Nos dois experimentos, a ferrugem isoladamente não afetou a área foliar das goiabeiras (Fig. 17).





**Figura 16.** Relações entre fotossíntese líquida relativa ( $Px/Po$ ) e a severidade da ferrugem (*Austropuccinia psidii*) em goiabeiras cv. Paluma submetidas ou não à limitação hídrica moderada. Fotossíntese líquida de goiabeiras doentes não submetidas à limitação hídrica ( $Px$ ) em relação à fotossíntese líquida média de goiabeiras sadias não submetidas à limitação hídrica ( $Po$ ) (A); fotossíntese líquida de goiabeiras doentes submetidas à limitação hídrica em relação à fotossíntese líquida média de goiabeiras sadias submetidas à limitação hídrica (B); fotossíntese líquida de goiabeiras doentes submetidas à limitação hídrica em relação à fotossíntese líquida média de goiabeiras sadias não submetidas à limitação hídrica (C). Os círculos pretos representam dados do experimento 1 e os círculos brancos representam dados do experimento 2 ( $n = 100$ ). As linhas representam o modelo [ $Px/Po = (1 - x)^\beta$ ].



**Figura 17.** Área foliar de folhas de goiabeiras cv. Paluma sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, submetidas ou não à limitação hídrica moderada, nos experimentos 1 (A) e 2 (B). As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ).

**Tabela 7.** Médias de massas secas (g) da parte aérea e da raiz de goiabeiras cv. Paluma sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, submetidas ou não à limitação hídrica moderada, nos dois experimentos.

Tratamento		Experimento 1		Experimento 2	
<i>A. psidii</i>	Limitação hídrica	Parte aérea	Raiz	Parte aérea	Raiz
Sadia	–	63,98 a	32,58 a	40,13 a	9,05 a
	+	45,84 ab	18,62 b	44,42 a	10,95 a
Inoculada	–	59,07 ab	31,78 a	41,86 a	9,18 a
	+	42,68 b	25,22 ab	44,06 a	10,71 a

Símbolos + indicam presença de limitação hídrica e –, ausência de limitação hídrica. Valores seguidos pela mesma letra na coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 8.** Número de pares de folhas em goiabeiras cv. Paluma sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, submetidas ou não à limitação hídrica moderada, nos dois experimentos.

Tratamento		Experimento 1			Experimento 2		
<i>A. psidii</i>	Limitação hídrica	0 dai	34 dai	Crescimento dos ramos	0 dai	34 dai	Crescimento dos ramos
Sadia	–	7,8	12,1	4,3 a	12,4	18,4	6,0 a
	+	7,6	10,6	2,6 b	13,2	17,4	4,2 b
Inoculada	–	7,9	11,9	4,0 a	13,0	19,0	6,0 a
	+	7,4	9,8	2,4 b	13,4	17,8	4,4 b

Símbolos + indicam presença de limitação hídrica e –, ausência de limitação hídrica. dai = dias após a inoculação. Valores seguidos pela mesma letra na coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 3.4. Discussão

Os períodos de latência estimados para a ferrugem em goiabeira cv. Paluma, no experimento 1 (12,1 e 13,3 dias) foram mais longos do que aqueles estimados no experimento 2 (8,2 e 8,4 dias), em goiabeiras sem e com limitação hídrica, respectivamente. Os períodos de latência observados no experimento 2 foram similares aos observados para a cv. Paluma no capítulo 2 e aos relatados para as goiabeiras cv. IAPAR Rosa Arredondada, Ruby Supreme e Santa Alice, onde variaram de 7,6 a 8,5 dias (Castro et al., 1983). O período de latência da ferrugem observado para a goiabeira cv. Pirassununga Vermelha foi mais longo, de 11,8 dias (Coelho et al., 2001), assim como os observados para a cv. Paluma no experimento 1. A variação no período de latência da ferrugem também foi observada em outras mirtáceas, como *Eucalyptus grandis*, *Syzygium jambos* e *Metrosideros excelsa*, com registros de 7,2 a 12 dias (Castro et al., 1983; Ruiz et al., 1989; Coelho et al., 2001; Beresford et al., 2020). Apesar da diferença entre os períodos de latência dos dois experimentos, nota-se que não houve diferença expressiva entre os tratamentos em cada experimento. Na esporulação das lesões também não houve diferença significativa entre os tratamentos. Goiabeiras sem e com limitação hídrica produziram, em média,  $7,0 \cdot 10^3$  e  $3,7 \cdot 10^3$  urediniosporos por lesão, respectivamente. A elevada produção de urediniosporos parece ser uma característica marcante de *A. psidii*, visto que isso também foi observado no capítulo 2 desta dissertação e em outro trabalho com *A. psidii* em *E. grandis* e *E. pellita* (Castro et al., 1984).

A densidade de lesões esporulantes de *A. psidii* foi maior em goiabeiras submetidas à limitação hídrica do que naquelas não submetidas à limitação hídrica, em ambos os experimentos. A severidade da ferrugem, no entanto, foi maior em goiabeiras submetidas à limitação hídrica (41%) do que em goiabeiras somente inoculadas com *A. psidii* (24%), apenas no experimento 2. Não há estudos sobre o impacto do estresse hídrico no comportamento de ferrugens. Entretanto, já é relatado na literatura, em outros patossistemas, como *Xyllela fastidiosa* – *Parthenocissus quinquefolia* (McElrone et al., 2001) e *X. fastidiosa* – *Vitis vinifera* (Choi et al., 2013), que a intensidade da doença em plantas inoculadas e expostas à limitação hídrica simultaneamente é maior em comparação àquelas somente inoculadas com o patógeno. Mudanças de temperatura, precipitação e frequência de eventos extremos podem interferir na epidemiologia das doenças (Chakraborty et al., 2000). A deficiência hídrica pode alterar a predisposição do hospedeiro ao ataque de patógenos, na qual geralmente resulta em aumento da suscetibilidade ao organismo invasor (Boyer, 1995). Uma das hipóteses que explicaria esse comportamento é que a tolerância a estresses abióticos pode

aumentar a suscetibilidade das plantas aos patógenos. Um dos mecanismos da planta de tolerância ao estresse abiótico é a extinção não fotoquímica, que tem como finalidade reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio, as quais estão envolvidas na defesa das plantas aos patógenos (Sowden et al., 2017). Além disso, algumas estratégias de tolerância aos estresses abióticos, como a limitação hídrica, são ativadas por meio da sinalização mediada pelo ácido abscísico. A via de sinalização do ácido abscísico é antagonista às vias de sinalização do ácido salicílico e do ácido jasmônico, envolvidas nas respostas de defesa das plantas a patógenos biotróficos e necrotróficos, respectivamente. Assim o ácido abscísico, envolvido na resposta da planta ao estresse hídrico, pode suprimir a defesa contra patógenos biotróficos e necrotróficos (Sowden et al., 2017). A maior intensidade da ferrugem em goiabeiras expostas a estresses combinados, portanto, pode ser explicada pelo antagonismo existente entre as diferentes vias de sinalização ativadas por estresses bióticos e abióticos.

A ferrugem isoladamente não afetou a expansão da área foliar e tampouco o crescimento dos ramos e as massas secas da parte aérea e da raiz das goiabeiras. Diferentemente da ferrugem asiática da soja (Yang et al., 1990) e da videira (Nogueira Júnior et al., 2017), onde a desfolha das plantas doentes é severa, a ferrugem da goiabeira não causa desfolha precoce. Além disso, a ferrugem da goiabeira infecta somente folhas jovens, sendo as folhas maduras resistentes ao patógeno, como demonstrado no capítulo 2. Esses fatos explicam porque a doença isoladamente não afetou a área foliar e a massa seca da parte aérea das goiabeiras. As massas secas da parte aérea e da raiz de goiabeiras não foram significativamente afetadas pelos estresses biótico e abiótico aplicados de maneira isolada ou combinada. Isso se deve, provavelmente, ao período reduzido de condução dos experimentos, de aproximadamente 30 dias. O crescimento dos ramos e a área foliar, no entanto, foram reduzidos apenas em goiabeiras expostas à limitação hídrica, isoladamente ou em associação com a ferrugem. Assim como observado neste trabalho, a área foliar de *P. quinquefolia* foi reduzida apenas nas plantas submetidas ao estresse hídrico, isoladamente ou em combinação com *X. fastidiosa*, ou seja, a doença isoladamente não afeta a área foliar das videiras (McElrone et al., 2001). Embora quase não haja informação sobre o efeito da limitação hídrica na cultura da goiabeira, já é consenso que o estresse hídrico tem efeito deletério no crescimento e no desenvolvimento das plantas, em função do desequilíbrio das relações hídricas (Taiz et al., 2017).

As trocas gasosas de goiabeiras sadias submetidas à limitação hídrica foram reduzidas significativamente em comparação às de goiabeiras sadias não submetidas à limitação hídrica. As reduções médias da assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), condutância

estomática ( $g_s$ ) e transpiração ( $E$ ) em goiabeiras sadias expostas à limitação hídrica foram de 39%, 54% e 47% aos 30 dias após a inoculação, respectivamente, quando comparadas com goiabeiras sadias não expostas à limitação hídrica. A  $E$  é uma consequência inevitável do processo de fotossíntese, haja vista que a  $A$  está acoplada à perda de água por meio de uma rota difusional comum, onde à medida que o  $CO_2$  se difunde para dentro das folhas, o vapor de água difunde-se para fora. O desequilíbrio entre a absorção e o transporte de água e a  $E$ , ocasionado pela deficiência hídrica, tem efeito direto no processo de fotossíntese da planta (Taiz et al., 2017). A ferrugem isoladamente, também causou efeitos negativos nas trocas gasosas da goiabeira. Aos 30 dias após a inoculação, goiabeiras doentes sem limitação hídrica apresentaram reduções médias de 56%, 44% e 52% na  $A$ ,  $g_s$  e  $E$ , respectivamente, em relação às goiabeiras sadias sem limitação hídrica. No experimento 1, o efeito negativo da ferrugem e da limitação hídrica aplicadas isoladamente sobre a  $A$  das goiabeiras foi estatisticamente igual, enquanto no experimento 2, o efeito da ferrugem isoladamente na redução da  $A$  das goiabeiras foi maior do que aquele causado pela limitação hídrica isoladamente. O efeito negativo dos patógenos sobre as trocas gasosas das plantas é relatado para várias ferrugens, como *Puccinia sorghi* em milho, *Puccinia recondita* em trigo (Shtienberg, 1992), *Uromyces appendiculatus* em feijoeiro (Bassanezi et al., 2001), *Phakopsora pachyrhizi* em soja (Kumudini et al., 2010), *A. psidii* em eucalipto (Alves et al., 2011) e *Neophytopella tropicalis* em videira (Nogueira Júnior et al., 2017). No entanto, não se sabe se o impacto causado pelas ferrugens nas trocas gasosas das plantas é intensificado quando essas doenças estão associadas à limitação hídrica.

Nos dois experimentos, a redução da  $A$  foi maior em goiabeiras doentes e submetidas à limitação hídrica simultaneamente, do que naquelas em que os estresses foram aplicados isoladamente. Aos 30 dias após a inoculação, as porcentagens médias de redução nos valores de  $A$ ,  $g_s$  e  $E$  das goiabeiras doentes e expostas à limitação hídrica simultaneamente foram de aproximadamente 53%, 58% e 54%, respectivamente, quando comparadas às goiabeiras expostas ao patógeno isoladamente. Nos patossistemas *Macrophomina phaseolina* – *Phaseolus vulgaris* (Mayek-Pérez et al., 2002) e *X. fastidiosa* – *P. quinquefolia* (McElrone et al., 2003; McElrone & Forseth, 2004), as reduções de  $A$ ,  $g_s$  e  $E$  de plantas expostas ao patógeno e ao estresse hídrico simultaneamente também foram de magnitude maior do que em plantas expostas apenas ao patógeno.

Os valores de  $\beta$  estimados pela equação 6 para a ferrugem em goiabeiras sem e com limitação hídrica foram de 2,56 e 2,04, respectivamente. Esses valores foram semelhantes ao estimado no capítulo 2 ( $\beta = 2,13$ ) e aos valores de  $\beta$  relatados para a maioria das ferrugens,

como, por exemplo, a ferrugem do feijoeiro (*U. appendiculatus*), que apresenta  $\beta = 2,1$  (Bassanezi et al., 2001) e a ferrugem asiática da soja (*P. pachyrhizi*), na qual os valores de  $\beta$  variam de 2,1 a 2,5 (Kumudini et al., 2010). De modo geral, em relações biotróficas as reduções fotossintéticas causadas pela doença pouco excedem a área lesionada (Shtienberg, 1992). Entretanto, o valor do parâmetro  $\beta$  aumenta para 4,69 quando a fotossíntese líquida relativa ( $P_x/P_o$ ) é obtida em goiabeiras doentes submetidas à limitação hídrica em relação às goiabeiras sadias não submetidas à limitação hídrica. Desse modo, quando a ferrugem da goiabeira é associada à limitação hídrica há severa redução na fotossíntese do tecido verde adjacente às lesões. Isso implica dizer que o efeito negativo dos estresses biótico e abiótico combinados sobre a  $P_x/P_o$  da goiabeira é maior do que aquele ocasionado pela ferrugem isoladamente. Valores de  $\beta$  mais altos são comuns em relações necrotróficas, onde a alta agressividade do patógeno resulta em severa redução da  $P_x/P_o$  (Shtienberg, 1992), como observado na brusone do arroz (Bastiaans et al., 1991) e na antracnose e mancha angular do feijoeiro (Bassanezi et al., 2001).

O maior produtor brasileiro de goiabas é o Estado de São Paulo, responsável por 37% da produção nacional (IBGE, 2019), onde apenas 38,7% da área cultivada com goiabas estão sob irrigação e esse montante não está homogeneamente distribuído no Estado (Francisco et al., 2010). A irrigação é aplicada primordialmente em cultivares de goiabeira de mesa, como a cv. Kumagai, enquanto que em cultivares destinadas à industrialização, como a cv. Paluma, a maioria dos pomares são conduzidos sem irrigação. O período crítico de ocorrência da ferrugem da goiabeira se estende entre os estádios fenológicos de brotação até os frutos atingirem 3 cm de diâmetro. Na maioria das regiões produtoras do Brasil, a poda é realizada ainda no inverno e a brotação ocorre ao final desta estação (Sampaio et al., 2011). Projeções futuras de mudanças climáticas para a Região Sudeste do Brasil apontam redução na precipitação durante o inverno, a primavera e o outono (Hamada et al., 2011). A partir dessas informações, é possível inferir que períodos de limitação hídrica e de ocorrência da ferrugem da goiabeira podem coincidir em condições de campo. Essa situação é preocupante, haja vista que os resultados observados neste estudo mostram que a ocorrência simultânea de estresses abiótico e biótico pode provocar danos às trocas gasosas da planta de magnitude superior aos causados pela ocorrência dos estresses de maneira isolada.

## Referências

- Alves, A.A.; Guimarães, L.M.S.; Chaves, A.R.M.; DaMatta, F.M.; Alfenas, A.C. 2011. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence of *Eucalyptus urophylla* in response to *Puccinia psidii* infection. *Acta Physiology Plant* 33: 1831-1839.
- Anderson, J.P.; Badruzaufari, E; Schenk, P.M.; Manners, J.M.; Desmond, O.J.; Ehlert, C.; Maclean, D.J.; Ebert, P.R.; Kazan, K. 2004. Antagonistic interaction between abscisic acid and jasmonate-ethylene signaling pathways modulates defense gene expression and disease resistance in Arabidopsis. *Plant Cell* 16: 3460-3479.
- Atkinson, N.J.; Lilley, C.J.; Urwin, P.E. 2013. Identification of genes involved in the response of arabidopsis to simultaneous biotic and abiotic stresses. *Plant Physiology* 162: 2028-2041.
- Atkinson, N.J.; Urwin, P.E. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany* 63: 3523-3544.
- Bassanezi, R.B.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Hau, B.; Berger, R.D. 2001. Accounting for photosynthetic efficiency of bean leaves with rust, angular leaf spot and anthracnose to assess crop damage. *Plant Pathology* 50: 443-452.
- Bastiaans, L. 1991. Ratio between virtual and visual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of rice due to leaf blast. *Phytopathology* 81: 611-615.
- Bates, B.C.; Kundzewicz, Z.W.; Wu, S.; Palutikof, J.P. (Ed.). 2008. *Climate Change and Water*. Technical Paper of the Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC Secretariat, Geneva. 210 p.
- Bedendo, I.P.; Amorim, L.; Mattos-Jr, D. 2018. Ambiente e doença. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A. (Ed.). *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. v.1. 5ª. Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p. 93-103.
- Beenken, L. 2017. *Austropuccinia*: a new genus name for the myrtle rust *Puccinia psidii* placed within the redefined family Sphaerophragmiaceae (Pucciniales). *Phytotaxa* 297: 053-061.
- Bergamin Filho, A.; Amorim, L. 1996. *Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico*. São Paulo: Agronômica Ceres, 289 p.
- Bergamin Filho, A. 2018. Análise temporal de epidemias. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A. (Ed.). *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. v.1. 5ª. Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p. 519-530.

- Boyer, J.S. 1995. Biochemical and biophysical aspects of water deficits and the predisposition to disease. *Annual Review of Phytopathology* 33: 251-274.
- Carnegie, A.J.; Kathuria, A.; Pegg, G.S.; Entwistle, P.; Nagel, M.; Giblin, F.R. 2016. Impact of the invasive rust *Puccinia psidii* (myrtle rust) on native Myrtaceae in natural ecosystems in Australia. *Biological Invasions* 18: 127-144.
- Carnegie, A.J.; Pegg, G.S. 2018. Lessons from the incursion of myrtle rust in Australia. *Annual Review of Phytopathology* 56: 21.1-21.22.
- Casaroli, D.; Jong van Lier, Q. 2008. Critérios para determinação da capacidade de vaso. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 32: 59-66.
- Castro, H.A.; Bergamin Filho, A.; Krugner, T.L. 1984. Padrão de produção de uredosporos em mudas de *Eucalyptus* spp. inoculadas artificialmente com *Puccinia psidii*. *Summa Phytopathologica* 10: 155-170.
- Castro, H.A.; Krugner, T.L.; Ideriha, C.H.F.; Cappello, M.S.C.; Marchi, A.B. 1983. Inoculação cruzada de *Eucalyptus*, goiaba (*Psidium guajava*) e jambeiro (*Syzygium jambos*) com *Puccinia psidii*. *Fitopatologia Brasileira* 8: 491-497.
- Chakraborty, S.; Newton, A.C. 2011. Climate change, plant diseases and food security: an overview. *Plant Pathology* 60: 2-14.
- Chakraborty, S.; von Tiedemann, A.; Teng, P.S. 2000. Climate change: potential impact on plant diseases. *Environmental Pollution* 108: 317-326.
- Choi, H.K.; Landolino, A.; Silva, F.G.; Cook, D.R. 2013. Water deficit modulates the response of *Vitis vinifera* to the pierce's disease pathogen *Xylella fastidiosa*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 26: 643-657.
- Coakley, E.M.; Scherm, H.; Chakraborty, S. 1999. Climate change and plant disease management. *Annual Review of Phytopathology* 37: 399-426.
- Coelho, E.F.; Souza, V.F.; Netto, A.O.A.; Oliveira, A.S. 2000. Manejo de irrigação em fruteiras tropicais. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura (Circular Técnica nº 40), 48 p.
- Coelho, L.; Alfenas, A.C.; Ferreira, F.A. 2001. Variabilidade fisiológica de *Puccinia psidii* – ferrugem do eucalipto. *Summa Phytopathologica* 27: 295-300.
- Costa, A.N.; Costa, A.F.S. 2003. Solos, nutrição e adubação da goiabeira. In: Costa, A.F.S.; Costa, A.N. (Ed.). *Tecnologias para produção de goiaba*. Vitória: Incaper, p. 123-156.
- Coutinho, T.A., Wingfield, M.J., Alfenas, A.C., Crous, P.W. 1998. *Eucalyptus* rust: a disease with the potential for serious international implications. *Plant Disease* 82: 819-825.



- Dixon, G.R. 2012. Climate change – impact on crop growth and food production, and plant pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology* 34: 362-379.
- Eastburn, D.M.; McElrone, A.J.; Bilgin, D.D. 2011. Influence of atmospheric and climatic change on plant-pathogen interactions. *Plant Pathology* 60: 54-69.
- Ferreira, F.A. 1981. Ferrugem do eucalipto – ocorrências, temperatura para germinação de uredosporos, produção de teliósporos, hospedeiro alternativo e resistência. *Fitopatologia Brasileira* 6: 603-604.
- Fitt, B.D.L.; Fraaije, B.A.; Chandramohan, P.; Shaw, M.W. 2011. Impacts of changing air composition on severity of arable crop disease epidemics. *Plant Pathology* 60: 44-53.
- Francisco, V.L.F.R.; Fagundes, P.R.S.; Baptistella, C.S.L.; Amaro, A.A. 2010. Cultura da goiaba no Estado de São Paulo: Projeto LUPA 2007/08. *Informações Econômicas* 40: 68-76.
- Frizzone, J.A. 2017. *Necessidade de Água para Irrigação*. Piracicaba, ESALQ, 56 p.
- Garrett, K.A.; Forbes, G.A.; Savary, S.; Skelsey, P.; Sparks, A.H.; Valdivia, C.; van Bruggen, A.H.C.; Willocquet, L.; Djurle, A.; Duveiller, E.; Eckersten, H.; Pande, S.; Vera Cruz, C.; Yuen, J. 2011. Complexity in climate-change impacts: an analytical framework for effects mediated by plant disease. *Plant Pathology* 60: 15-30.
- Ghini, R.; Bettiol, W.; Hamada, E. 2011. Diseases in tropical and plantation crops as affected by climate changes: current knowledge and perspectives. *Plant Pathology* 60: 122-132.
- Ghini, R.; Hamada, E.; Bettiol, W. 2008. Climate change and plant diseases. *Scientia Agricola* 65: 98-107.
- Hamada, E.; Ghini, R.; Marengo, J.A.; Thomaz, M.C. 2011. Projeções de mudanças climáticas para o Brasil no final do século XXI. In: Ghini, R.; Hamada, E.; Bettiol, W. (Ed.). *Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 41-74.
- Harvell, C.D.; Mitchell, C.E.; Ward, J.R.; Altizer, S.; Dobson, A.P.; Ostfeld, R.S.; Samuel, M.D. 2002. Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science* 296: 2158-2163.
- Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review Plant Physiology* 24: 519-570.
- Hunt, P. 1968. Cuticular penetration by germinating uredospores. *Transactions of the British Mycological Society* 51: 103-112.

- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. 2019. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Produção Agrícola Municipal. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: 29 de abril de 2019.
- Juroszek, P.; von Tiedemann, A. 2011. Potential strategies and future requirements for plant disease management under a changing climate. *Plant Pathology* 60: 100-112.
- Kriticos, D.J.; Morin, L.; Leriche, A.; Anderson, R.C.; Caley, P. 2013. Combining a climatic niche model of an invasive fungus with its host species distributions to identify risks to natural assets: *Puccinia psidii* sensu lato in Australia. *PLoS ONE* 8: e64479.
- Kumudini, S.; Godoy, C.V.; Kennedy, B.; Prior, E.; Omielan, J.; Boerma, H.R.; Hershman, D. 2010. Role of host-plant resistance and disease development stage on leaf photosynthetic competence of soybean rust infected leaves. *Crop Science* 50: 2533-2542.
- Lawson, S.A.; Carnegie, A.J.; Cameron, N.; Wardlaw, T.; Venn, T.J. 2018. Risk of exotic pests to the Australian forest industry. *Australian Forestry* 81: 3-13.
- Luck, J.; Spackman, M.; Freeman, A.; Trebicki, P.; Griffiths, W.; Finlay, K.; Chakraborty, S. 2011. Climate change and diseases of food crops. *Plant Pathology* 60: 113-121.
- Martins, M.V.V.; Silveira, S.F.; Maffia, L.A. 2014. Guava fruit loss caused by rust. *Summa Phytopathologica* 40: 107-113.
- Mayek-Pérez, N.; García-Espinosa, R.; López-Castañeda, C.; Acosta-Gallegos, J.A.; Simpson, J. 2002. Water relations, histopathology and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during pathogenesis of *Macrophomina phaseolina* under drought stress. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 60: 185-195.
- McElrone, A.J.; Forseth, I.N. 2004. Photosynthetic responses of a temperate liana to *Xylella fastidiosa* infection and water stress. *Journal of Phytopathology* 152: 9-20.
- McElrone, A.J.; Sherald, J.L.; Forseth, I.N. 2001. Effects of water stress on symptomatology and growth of *Parthenocissus quinquefolia* infected by *Xylella fastidiosa*. *Plant Disease* 85: 1160-1164.
- McElrone, A.J.; Sherald, J.L.; Forseth, I.N. 2003. Interactive effects of water stress and xylem-limited bacterial infection on the water relations of a host vine. *Journal of Experimental Botany* 54: 419-430.
- Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Sciences* 11: 15-19.
- Nogueira Júnior, A.F.; Ribeiro, R.V.; Appezzato-da-Glória, B.; Soares, M.K.M.; Rasera, J.B.; Amorim, L. 2017. *Phakopsora euvitis* causes unusual damage to leaves and modifies carbohydrate metabolism in grapevine. *Frontiers in Plant Science* 8: 1675.

- Pegg, G.; Taylor, T.; Entwistle, P.; Guymer, G.; Giblin, F.; Carnegie, A. 2017. Impact of *Austropuccinia psidii* (Myrtle rust) on Myrtaceae-rich wet sclerophyll forests in south east Queensland. PLoS ONE 12: e0188058.
- Piccinin, E.; Pascholati, S.F.; Di Piero, R.M.; Cia, P.; Silva, B.M.P. 2018. Doenças da goiabeira. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. (Ed.). Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas. v.2. 5ª. Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p. 463-468.
- Prasch, C.M.; Sonnewald, U. 2013. Simultaneous application of heat, drought, and virus to arabidopsis plants reveals significant shifts in signaling networks. Plant Physiology 162: 1849-1866.
- Ramegowda, V.; Senthil-Kumarb, M. 2015. The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: mechanistic understanding from drought and pathogen combination. Journal of Plant Physiology 176: 47-54.
- Ruiz, R.A.R.; Alfenas, A.C.; Ferreira, F.A.; Vale, F.X.R. 1989. Influência da temperatura, do tempo de molhamento foliar, fotoperíodo e da intensidade de luz sobre a infecção de *Puccinia psidii* em eucalipto. Fitopatologia Brasileira 14: 55-61.
- Sampaio, A.C. (Coord.); Jacomino, A.P.; Almeida, A.M.; Piza Júnior, C.T.; Fernandes, D.M.; Simionato, E.M.R.S.; Hernandez, F.B.T.; Cavalin, F.C.; Watanabe, H.; Fischer, I. H.; Büll, L.T.; Arruda, M.C.; Garcia, M.J.M.; Souza-Filho, M.F.; Bertani, R.M.A.; Leonel, S.; Fumis, T.F.; Costa, V.A. 2011. Goiaba: do plantio a comercialização. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral – CATI (Manual Técnico), 125 p.
- Savary, S.; Nelson, A.; Sparks, A. H.; Willocquet, L.; Duveiller, E.; Mahuku, G.; Forbes, G.; Garrett, K.A.; Hodson, D.; Padgham, J.; Pande, S.; Sharma, M.; Yuen, J.; Djurle, A. 2011. International agricultural research tackling the effects of global and climate changes on plant diseases in the developing world. Plant Disease 95: 1204-1216.
- Shaw, M. W.; Osborne, T. M. 2011. Geographic distribution of plant pathogens in response to climate change. Plant Pathology 60: 31-43.
- Shtienberg, D. 1992. Effects of foliar diseases on gas exchange processes: a comparative study. Phytopathology 82: 760-765.
- Silva, J.G.F.; Coelho, E.F. 2003. Manejo da irrigação. In: Costa, A.F.S.; Costa, A.N. (Ed.). Tecnologias para produção de goiaba. Vitória: Incaper, p. 159-204.
- Silva-Souza, R.R.; da Silva, A.C.; Rodella, R.A.; Serrão, J.E.; Zanuncio, J.C.; Furtado, E.L. 2017. Pre-infection stages of *Austropuccinia psidii* in the epidermis of *Eucalyptus* hybrid leaves with different resistance levels. Forests 8: 1-12.

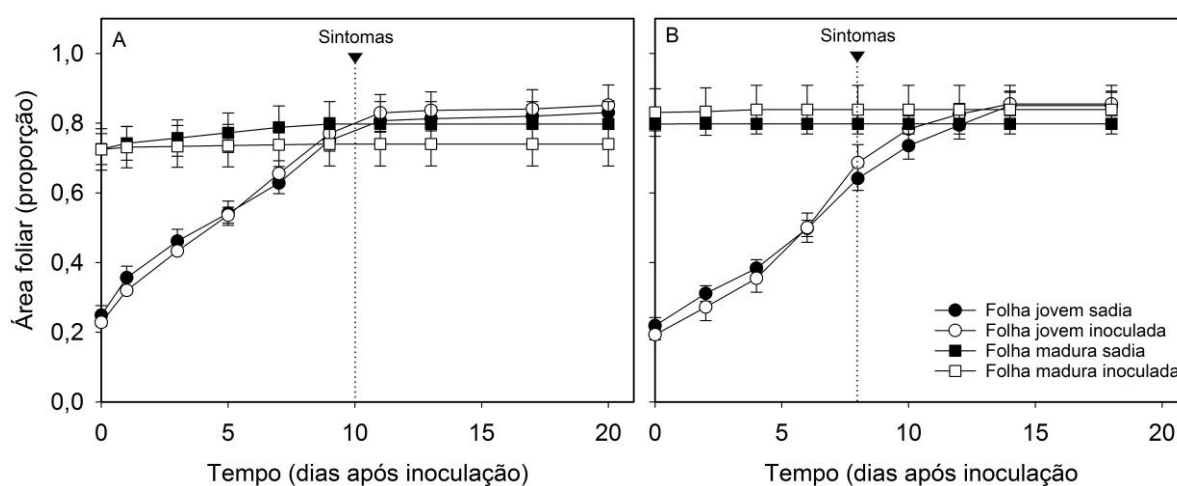
- Soewarto, J.; Giblin, F.; Carnegie, A.J. 2019. *Austropuccinia psidii* (Myrtle rust) global host list. Version 2. Australian Network for Plant Conservation, Canberra, ACT. Disponível em: <http://www.anpc.asn.au/myrtle-rust>. Acesso em: 17 de novembro de 2020.
- Sowden, R.G.; Watson, S.J.; Jarvis, P. 2017. The role of chloroplasts in plant pathology. *Essays in Biochemistry* 62: 21-39.
- Sturrock, R.N.; Frankel, S.J.; Brown, A.V.; Hennon, P.E.; Kliejunas, J.T.; Lewis, K.J.; Worrall, J.J.; Woods, A.J. 2011. Climate change and forest diseases. *Plant Pathology* 60: 133-149.
- Suzuki, N.; Rivero, R.M.; Shulaev, V.; Blumwald, E.; Mittler, R. 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist* 203: 32-43.
- Taiz, L.; Zeiger, E.; Møller, I.M.; Murphy, A. 2017. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6ª. Ed. Porto Alegre: Artmed, 858 p.
- Teixeira, P.C.; Donagemma, G.K.; Fontana, A.; Teixeira, W.G. (Ed.). 2017. *Manual de Métodos de Análise de Solo*. 3ª. Ed. Brasília, DF: Embrapa, 574 p.
- Tommerup, I.C.; Alfenas, A.C.; Old, K.M. 2003. Guava rust in Brazil – a threat to *Eucalyptus* and other Myrtaceae. *New Zealand Journal of Forestry Science* 33: 420-428.
- Vale, F.X.R.; Fernandes Filho, E.I.F.; Liberato, J.R. 2001. “QUANT – a software for plant disease severity assessment” in *Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Congress of Plant Pathology*, Christchurch, New Zealand.
- Velásquez, A.C.; Castroverde, C.D.M.; Yang He, S. 2018. Plant-pathogen warfare under changing climate conditions. *Current Biology* 28: R619-R634.
- Winzer, L.F.; Carnegie, A.J.; Pegg, G.S.; Leishman, M.R. 2018. Impacts of the invasive fungus *Austropuccinia psidii* (myrtle rust) on three Australian Myrtaceae species of coastal swamp woodland. *Austral Ecology* 43: 56-68.
- Xavier, A.A.; Alfenas, A.C.; Matsuoka, K.; Hodges, C.S. 2001. Infection of resistant and susceptible *Eucalyptus grandis* genotypes by urediniospores of *Puccinia psidii*. *Australasian Plant Pathology* 30: 277-281.
- Xavier, A.A.; Silva, A.C.; Guimarães, L.M.S.; Matsuoka, K.; Hodges, C.S.; Alfenas, A.C. 2015. Infection process of *Puccinia psidii* in *Eucalyptus grandis* leaves of different ages. *Tropical Plant Pathology* 40: 318-325.
- Yang, X.B.; Royer, M.H.; Tchanz, A.T.; Tsai, B.Y. Analysis and quantification of soybean rust epidemics from seventy-three sequential planting experiments. *Phytopathology* 80: 1421-1427.

- Yong, W.T.L.; Ades, P.K.; Tibbits, J.F.G.; Bossinger, G.; Runa, F.A.; Sandhu, K.S.; Taylor, P.W.J. 2019. Disease cycle of *Austropuccinia psidii* on *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus obliqua* leaves of different rust response phenotypes. *Plant Pathology* 68:547-556.
- Zhang, H.; Sonnewald, U. 2017. Differences and commonalities of plant responses to single and combined stresses. *The Plant Journal* 90: 839-855.

## APÊNDICES



**APÊNDICE A.** Muda de goiabeira cv. Paluma conduzida com duas hastes em vaso de 7 L contendo 6 L de substrato, (A) e ramo de goiabeira com setas indicando folhas jovens (2-3 dias após a emergência) e maduras (10-13 dias após a emergência) no dia da inoculação com *Austropuccinia psidii*.



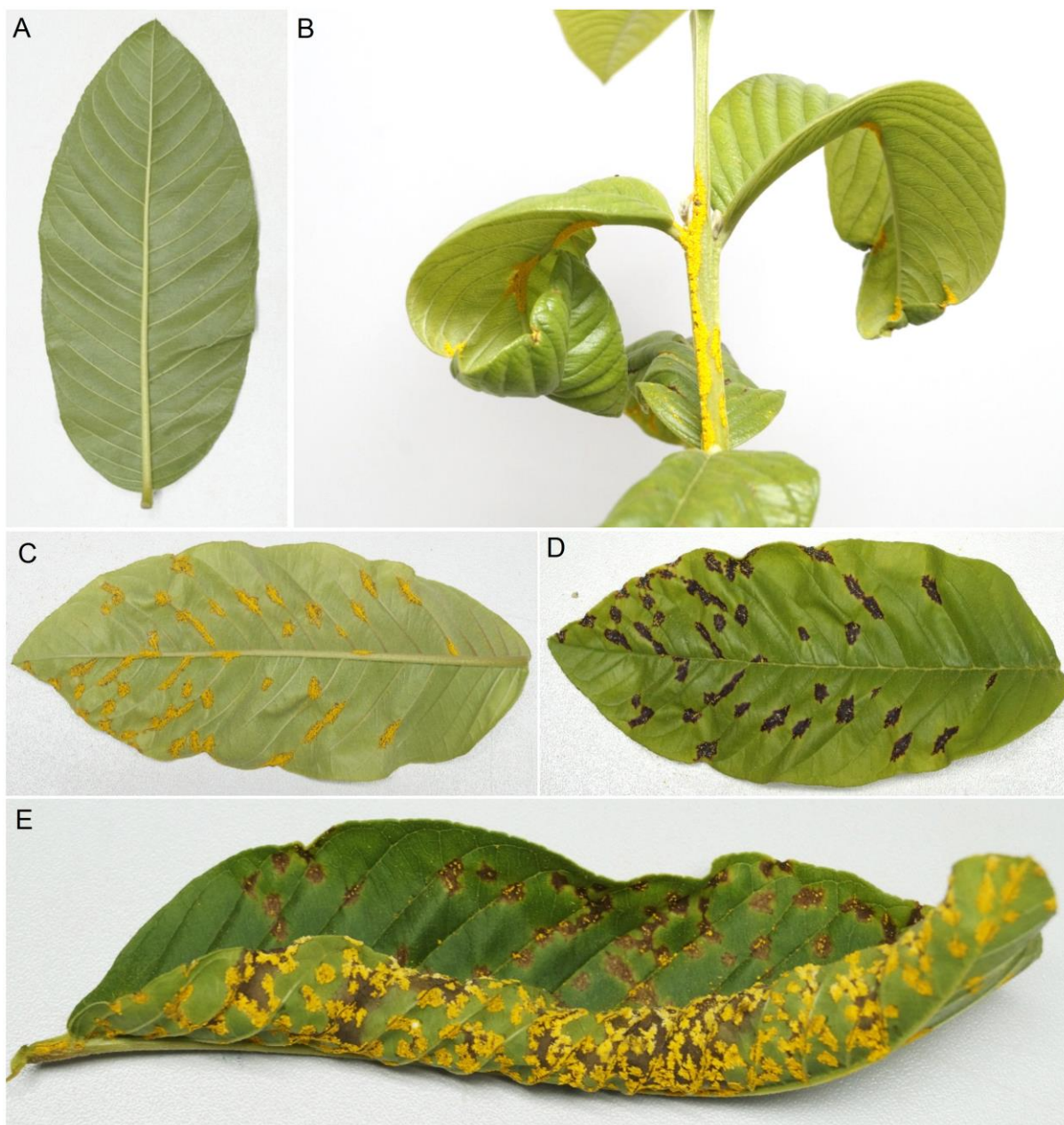
**APÊNDICE B.** Áreas de folhas jovens e maduras de goiabeira cv. Paluma, sadias e inoculadas com *Austropuccinia psidii*, expressas em proporção (área foliar estimada/área foliar máxima em cada experimento). A e B, referem-se aos experimentos 1 e 2, respectivamente. As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ( $n = 5$ ). As setas e as linhas pontilhadas indicam o aparecimento dos primeiros sintomas de ferrugem.

**APÊNDICE C.** Sequência de nucleotídeos do isolado monopustular de *Austropuccinia psidii* obtida por meio dos pares de *primers* (ITS1 e ITS4) e (Rust2inv e NL4).

```

1  CTTCCGTAGG TGAACCTGCG GAAGGATCAT TATTAACAAA ATGAGTGCAC TTAATTGTGG
61 CTCAAATTTT TAAAATTTAA ACAACTTCTA CCTTATTACA TGTAGCTTTA TTGAAACATA
121 GTAATTTGGT ATACGTGGCA AAGATATTAA TCTTTGTAC ATTACCCCC TTATTATTAT
181 TGTCTAAAAT CAAGTTTTAA GAATGTAAAA ACCAAAAAAT TATATAACTT TTAACAATGG
241 ATCTCTAGGC TCTCACATCG ATGAAGAACA CAGTGAAATG TGATAAGTAA TGTGAATTGC
301 AGAATTCAGT GAATCATCGA ATCTTTGAAC GCACCTTGCG CCTTTTGGTA TTCCAAAAGG
361 CACACCTGTT TGAGTGTTCAT GAAACCTTCT CATTAATTAA TTTTATTTTA TTAAGATTTT
421 TTAATGGATT TTGAGTGTTG CTGTAATTGG CTCACTTTAA ATATATAAGT TTTTTTCATA
481 CTTTGATTTG GATTGACTTA ATGTGATATA TTATCTTCAT TAAGAAGTGT ATCTTTTTTA
541 GATACTGCCA TTCTTTTATA GTAATGAAAT TGCTTCTAAC CTGTCAATAT GACAAATTCT
601 TTTTTTAAGA CCTCAAATCA GGTGGGACTA CCTGCTGAAC TTAAGCATAT CAATAAGCAG
661 AGGAAAAGAA ACTAACAAGG ATTCCCCTAG TAACGGCGAG TGAAGAGGGA AAAGCCCAA
721 TTTGTAATCT GGCTCTTTTA GAGTCCGAGT TGTAATTTGA AGAGCTGTTT TCTGTGCTAC
781 CCCATTTATA AGTCTGTTGG AAAACAGCAT CATTGAGGGT GATAATCCCG TTTATGGAAT
841 GGATAAGTAG TACTATATGA TACAGTCTCT AAGAGTCGAG TTGTTTGGGA ATGCAGCTCA
901 AAGTGGGTGG TAAATTCCAT CTAAGGCTAA ATATAGGTGA GAGACCAATA GCAAACAAGT
961 ACCGTGAGGG AAAGATGAAA AGAAGTTTGG AAAGAGAGTT AACAGTACGT GAAATTGTTA
1021 AAAGGGAAAC ATTTGAAGTT AGACTTGTTA TTGTTAGTTC AACTTTTTTA AAGGTGTATT
1081 CTAATGATTA ACAGACCAAC ATCAATCTTT GAATGTTGGA GAAGGTTTTT GGAGATGTTA
1141 CAGTTTAGGC TGTGTTATAA TCCTTAAATT TGATACAATG TTTAAGATTG AGGATCGCAA
1201 GCCATTT ATTTGGTAAA ACAAATTAAT

```



**APÊNDICE D.** Sintomas da ferrugem (*Austropuccinia psidii*) em folhas jovens de goiabeira cv. Paluma. Folha madura aos 30 dias após a inoculação com *A. psidii* (A); esporulação da ferrugem em folhas jovens e no ramo (B); lesões esporulantes (C) e lesões necróticas (D) nas faces inferior e superior da folha, respectivamente; esporulação em ambas as faces da folha, predominantemente na face inferior (E).