



**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**ESPECIALIZAÇÃO FISIOLÓGICA DE *Puccinia triticina*, AGRESSIVIDADE E SENSIBILIDADE DE RAÇAS A FUNGICIDAS**

**VÂNIA BIANCHIN**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Doutora em Agronomia – Área de Concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, março 2011

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**ESPECIALIZAÇÃO FISIOLÓGICA DE *Puccinia triticina*, AGRESSIVIDADE E SENSIBILIDADE DE RAÇAS A FUNGICIDAS**

**VÂNIA BIANCHIN**

**Orientador: Ph.D. Erlei Melo Reis**

**Co-orientador: Dra. Amarilis Labes Barcellos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Doutora em Agronomia – Área de Concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, março 2011



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a tese

“Especialização fisiológica de *Puccinia triticina*, agressividade e sensibilidade de raças à fungicidas”

Elaborada por

VÂNIA BIANCHIN

Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
“Doutor em Agronomia – Área de Fitopatologia”

Aprovada em: 31/03/2011  
Pela Comissão Examinadora

Dr. Erlei Melo Reis  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientador

Dr. Vilson Antonio Klein  
Coordenador PPGAgro

Dra. Amarilis Labes Barcelos  
OR Sementes  
Co-orientadora

Dr. Hélio Carlos Rocha  
Diretor FAMV

Dr. Ricardo Lima de Castro  
Embrapa Trigo

Dra. Marcia Soares Chaves  
Embrapa Trigo

Dra. Marta Maria Casa Blum  
URI

B577e Bianchin, Vânia

Especialização fisiológica de *Puccinia triticina*,  
agressividade e sensibilidade de raças a fungicidas /  
Vânia Bianchin. – 2011.

130 f. : il. color. ; 24 cm.

Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade  
de Passo Fundo, 2011.

Orientador: Ph. D. Erlei Melo Reis.

Co-orientador: Dra. Amarilis Labes Barcellos.

1. Trigo – Cultivo. 2. Plantas – Efeito dos  
fungicidas. 3. Fungos na agricultura. 4. Fitopatologia.  
5. Fungicidas. I. Reis, Erlei Melo, orientador. II.  
Barcellos, Amarilis Labes, orientador. III. Título.

## **FORMAÇÃO ACADÊMICA**

Engenheira Agrônoma formada no ano de 2003 pela Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages – SC e, Mestre em fitopatologia no ano de 2008 pela Universidade de Passo Fundo – UPF, Passo Fundo - RS.

*“O segredo da felicidade está em olhar todas as maravilhas do mundo, e nunca se esquecer das duas gotas de óleo na colher.”*

*(Paulo Coelho)*

*A Misteriosa Energia  
Que nos dá força quando  
pensamos que não a temos  
mais*

**DEDICO E OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

*“Quando vem a ordem de mudança, o guerreiro vê todos os amigos que criou durante o tempo que seguiu o caminho. A alguns ensinou como escutar os sinos de um templo submerso, a outros contou histórias em torno da fogueira.*

*Seu coração fica triste, mas sabe que sua espada está consagrada e deve obedecer as ordens Daquele a quem ofereceu sua luta.*

*Então, o guerreiro agradece os companheiros de jornada, respira fundo, e segue adiante, carregado com lembranças de uma jornada inesquecível.”*

*(Paulo Coelho)*

### **AGRADEÇO:**

#### **A Deus**

Por tudo....

#### **A Família**

Que renunciou, junto a mim, momentos únicos e importantes. A meus pais, Adão e Leda, pelo exemplo de força de vontade, responsabilidade e compromisso com o que nos propomos fazer. A minha irmã Graciane pelo bom humor, que é o único remédio às vezes, e por dizer chegaaa...pare um pouco...

Ao Alfredo, pelo ponto de apoio, paciência, compreensão e ajuda.

#### **Aos Amigos**

Parte fundamental, uns mais próximos outros mais distantes, mas sempre presentes.

A Elaine Deuner pelo ombro amigo e pela cúmplice amizade.

A Camila Turra pela ajuda e disponibilidade sempre, sem você esse momento demoraria muito a acontecer.

A Cinara e ao Paulo por atenderem da melhor forma sempre os nossos apelos e pela amizade.

Ao Anderson pela disponibilidade em ajudar sempre que solicitado.

Aos demais colegas, amigos que fizeram parte da minha vida neste momento e, estarão sempre na lembrança.

#### **Aos Orientadores...**

Ao Professor Erlei, pela sabedoria, ensinamentos e disponibilidade sempre. Por ser um ícone da fitopatologia e uma pessoa simples e amiga.

A Dra. Amarilis, mãe das ferrugens do trigo, pelo carinho, afeto, disponibilidade e sabedoria. Pela segurança em estarmos simplesmente por perto.

#### **Outras Pessoas**

A muitas outras pessoas que não sei se são família ou amigos ou ambos, que não farei nomes, mas que são igualmente importantes agradeço a presença e a torcida.

#### **Outros Agradecimentos**

À Universidade de Passo Fundo, aos seus professores e funcionários pela oportunidade de realizar o curso;

À CAPES pela concessão da bolsa viabilizando os estudos.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Agronomia, pelos ensinamentos, amizade e disponibilidade.

Aos membros da banca, pela ajuda e pela paciência.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xi
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xvi
<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	8
2.1 Ferrugem da folha do trigo .....	8
2.1.1 Etiologia.....	9
2.1.2 História da taxonomia.....	9
2.1.3 Gama de hospedeiros.....	11
2.1.4 Ciclo de vida do fungo.....	12
2.1.4.1 Relação patógeno x hospedeiro.....	14
2.1.4.2 Sobrevivência e fontes de inóculo.....	16
2.1.4.3 Remoção e transporte do inóculo.....	18
2.1.4.4 Deposição, germinação e penetração.....	18
2.1.4.4.1 Processo de infecção em trigo.....	19
2.1.4.4.2 Colonização.....	20
2.1.5 Interferência do parasitismo na fisiologia do hospedeiro.....	21
2.1.6 Sintomatologia.....	22
2.1.7 Especialização de <i>Puccinia triticina</i> no Brasil.....	23
2.1.8 Estratégias de controle da ferrugem da folha do trigo.....	28
2.1.8.1 Melhoramento genético.....	28
2.1.8.2 Controle químico.....	30
2.1.8.2.1 Fatores de risco de redução da sensibilidade de fungos.....	31
2.1.8.2.2 Redução da sensibilidade aos IQE (Inibidores da Quinona Externa).....	34
2.1.8.2.3 Redução da sensibilidade aos DMI (Inibidores da Desmetilação).....	35
2.1.8.2.4 Fatores determinantes da redução da sensibilidade.....	35

<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>SENSIBILIDADE <i>in vivo</i> DE <i>Puccinia triticina</i> A FUNGICIDAS TRIAZÓIS E ESTROBILURINAS APLICADOS PREVENTIVA E CURATIVAMENTE.....</b>	<b>37</b>
RESUMO.....	37
ABSTRACT.....	38
1 INTRODUÇÃO.....	40
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4 CONCLUSÕES.....	54
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>SENSIBILIDADE DE <i>Puccinia triticina</i> A FUNGICIDAS AO LONGO DO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO.....</b>	<b>55</b>
RESUMO.....	55
ABSTRACT.....	56
1 INTRODUÇÃO.....	58
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
4 CONCLUSÕES.....	68
<b>CAPÍTULO 3</b>	
<b>EFEITO DE CONTATO DOS FUNGICIDAS TRIAZÓIS E ESTROBILURINAS NA GERMINAÇÃO DOS ESPOROS DE <i>Puccinia triticina</i>.....</b>	<b>69</b>
RESUMO.....	69
ABSTRACT.....	70
1 INTRODUÇÃO.....	72
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	73
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
4 CONCLUSÕES.....	82
<b>CAPÍTULO 4</b>	
<b>EPIDEMIOLOGIA COMPARATIVA ENTRE RAÇAS DE <i>Puccinia triticina</i> EM RELAÇÃO A AGRESSIVIDADE E SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS.....</b>	<b>83</b>

RESUMO.....	83
ABSTRACT.....	85
1 INTRODUÇÃO.....	86
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	87
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	93
4 CONCLUSÕES.....	104
<b>CAPÍTULO 5</b>	
<b>EFEITOS DA LUZ, TEMPERATURA E TEMPO DE</b>	
<b>EXPOSIÇÃO NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE</b>	
<b><i>Puccinia triticina</i></b> .....	105
RESUMO.....	105
ABSTRACT.....	107
1 INTRODUÇÃO.....	108
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	109
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	111
4	121
CONCLUSÕES.....	
<b>CONCLUSÕES</b>	122
<b>FINAIS</b> .....	
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	123

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>		
1	Meses de semeadura e de colheita do trigo na América do Sul.....	17
2	Raças fisiológicas de <i>Puccinia triticina</i> sob nomenclatura brasileira identificadas no Brasil segundo as fórmulas de virulência.....	25
3	Raças fisiológicas de <i>Puccinia triticina</i> (nomenclatura brasileira) identificadas no Brasil, ano da primeira detecção, código norte-americano correspondente e possíveis variações de reações conferidas pelos genes da série diferencial.....	26
<b>CAPÍTULO 1</b>		
<b>SENSIBILIDADE <i>in vivo</i> DE <i>Puccinia triticina</i> A FUNGICIDAS TRIAZÓIS E ESTROBILURINAS APLICADOS PREVENTIVA E CURATIVAMENTE</b>		
1	Fungicidas, nome comercial do produto, formulação e concentrações dos fungicidas utilizados.....	44
2	Valores estimados da CI <sub>50</sub> do fungicida tebuconazol em aplicações preventivas para diferentes raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	48
3	Valores estimados da CI <sub>50</sub> do fungicida tebuconazol em aplicações curativas para diferentes raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	48

4	Valores estimados da $CI_{50}$ do fungicida ciproconazol em aplicações preventivas para diferentes raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	49
5	Valores estimados da $CI_{50}$ do fungicida ciproconazol em aplicações curativas para diferentes raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	49
6	Valores estimados da $CI_{50}$ do fungicida protioconazol em aplicações preventivas para diferentes raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	49
7	Valores estimados da $CI_{50}$ do fungicida protioconazol em aplicações curativas para diferentes raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	50
8	Valores estimados da $CI_{50}$ do fungicida piraclostrobina em aplicações preventivas para diferentes raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	50
9	Valores estimados da $CI_{50}$ do fungicida piraclostrobina em aplicações curativas para diferentes raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	50
10	Valores estimados da $CI_{50}$ do fungicida azoxistrobina em aplicações preventivas para diferentes raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	51
11	Valores estimados da $CI_{50}$ do fungicida azoxistrobina em aplicações curativas para diferentes raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	51
12	Fator de redução da sensibilidade (FRS) de raças de <i>Puccinia triticina</i> aos fungicidas tebuconazol e ciproconazol em aplicações preventivas e curativas.....	52

13	Fator de redução da sensibilidade (FRS) de raças de <i>Puccinia triticina</i> aos fungicidas prothioconazol e piraclostrobina em aplicações preventivas e curativas.....	53
14	Fator de redução da sensibilidade (FRS) de raças de <i>Puccinia triticina</i> ao fungicida azoxistrobina em aplicações preventivas e curativas.....	53

**CAPÍTULO 2**  
**SENSIBILIDADE DE *Puccinia triticina* A**  
**FUNGICIDAS AO LONGO DO**  
**DESENVOLVIMENTO DO TRIGO**

1	Identificação de raças ocorrentes durante o ciclo de desenvolvimento da cultura do trigo em duas cultivares, Ônix e Fundacep Nova Era.....	63
2	Valores estimados da $CI_{50}$ do fungicida tebuconazol em aplicações preventivas para raças de <i>Puccinia triticina</i> provenientes de distintas coletas ao longo do ciclo do trigo (cultivar Ônix e Fundacep Nova Era).....	65
3	Valores estimados da $CI_{50}$ do fungicida azoxistrobina em aplicações preventivas para raças de <i>Puccinia triticina</i> provenientes de distintas coletas ao longo do ciclo do trigo (cultivar Ônix e Fundacep Nova Era).....	65
4	Fator de redução da sensibilidade (FRS) de raças de <i>Puccinia triticina</i> (distintas coletas) aos fungicidas tebuconazol e azoxistrobina em aplicações preventivas, experimento 1 e 2.....	67

**CAPÍTULO 3**  
**EFEITO DE CONTATO DOS FUNGICIDAS**  
**TRIAZÓIS E ESTROBILURINAS NA**  
**GERMINAÇÃO DOS ESPOROS DE *Puccinia triticina***

1	Fungicidas, nome comercial do produto, formulações, concentrações e doses dos fungicidas utilizados no ensaio 1.....	75
2	Fungicidas, nome comercial do produto, formulações, concentrações e doses dos fungicidas utilizados no ensaio 2.....	75
3	Ação de contados de fungicidas sobre a germinação (%) de esporos de <i>Puccinia triticina</i> determinada nos tempos zero (0), seis (6), 12, 24 e 48 horas após a aplicação.....	80
4	Ação de contato a fungicidas sobre a germinação (%) dos esporos de <i>Puccinia triticina</i> seis horas após a aplicação de fungicidas triazóis e estrobilurinas em diferentes doses.....	81

**CAPÍTULO 4**  
**EPIDEMIOLOGIA COMPARATIVA ENTRE RAÇAS**  
**DE *Puccinia triticina* EM RELAÇÃO A**  
**AGRESSIVIDADE E SENSIBILIDADE A**  
**FUNGICIDAS**

1	Período latente de raças de <i>Puccinia triticina</i> e formação de urédias secundárias.....	93
2	Controle (%) dias após a aplicação preventiva de tebuconazol (750 mL.ha <sup>-1</sup> ) e azoxistrobina (250mL.ha <sup>-1</sup> ) (aplicações preventivas) para as raças MDK-MR (B55 4002S) e MCG-MN (B34)..	101

- 3 Controle (%) dias após aplicações curativa de tebuconazol ( $750\text{mL}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) e azoxistrobina ( $250\text{mL}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) sob infecções latentes (dias após a inoculação), das raças MDK-MR (B55 4002S) e MCG-MN (B34)..... 103

**CAPÍTULO 5**  
**EFEITOS DA LUZ, TEMPERATURA E TEMPO DE**  
**EXPOSIÇÃO NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE**  
*Puccinia triticina*

- 1 Germinação (%) de esporos na presença e ausência de luz, nos tempos 3, 6, 10 e 24 horas para as raças MCG-MN (B34) e MDK-MR (B55 4002S). Experimento 1 (temperaturas de -5,5, -1, 0, 12, 17, 30, 31, 33, 38 e  $40^{\circ}\text{C}$ ) e experimento 2 (temperaturas de 0, 10, 20, 30 e  $40^{\circ}\text{C}$ )..... 118
- 2 Estimativa da temperatura ótima ( $^{\circ}\text{C}$ ) para germinação dos esporos e percentual estimado para a raça MDK-MR (B55 4002S) de *Puccinia triticina* em diferentes tempos e condição de presença e ausência de luz..... 119
- 3 Estimativa da temperatura ótima ( $^{\circ}\text{C}$ ) para germinação dos esporos e percentual estimado para a raça MCG-MN (B34) de *Puccinia triticina* em diferentes tempos e condição de presença e ausência de luz..... 120

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>		
1	Ciclo de vida do fungo <i>Puccinia triticina</i> (Fonte: AGRIOS, 2005).....	14
2	Ciclos primário e secundários da ferrugem da folha do trigo no Hemisfério Sul (Fonte: REIS et al., 2009).....	15
3	Urédias com uredosporos de <i>Puccinia triticina</i> causador da ferrugem da folha do trigo.....	23
<b>CAPÍTULO 4</b>		
<b>EPIDEMIOLOGIA COMPARATIVA ENTRE RAÇAS DE <i>Puccinia triticina</i> EM RELAÇÃO A AGRESSIVIDADE E SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS</b>		
1	Flutuação na produção diária de esporos por urédia em raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	96
2	Produção média diária de esporos por urédia em raças de <i>Puccinia triticina</i> (C.V.% = 21,4).....	96
3	Germinação (%) dos esporos de raças de <i>Puccinia triticina</i> no 12º dia após a inoculação (C.V.% = 2,2).....	97
4	Massa (mg) total de esporos produzidos em cem urédias de raças de <i>Puccinia triticina</i> (coleta acumulada - doze dias de esporulação).....	99

5	Tamanho ( $\mu\text{m}$ ) médio das urédias medidas no sentido do comprimento de raças de <i>Puccinia triticina</i> .....	100
---	---	-----

**CAPÍTULO 5**  
**EFEITOS DA LUZ, TEMPERATURA E TEMPO DE EXPOSIÇÃO NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE *Puccinia triticina***

1	Germinação (%) de uredosporos de <i>Puccinia triticina</i> na presença de luz, experimento 1; a) MDK-MR 4002S (B55 4002S); b) MCG-MN. ( $p>0,05$ ).....	114
2	Germinação (%) de uredosporos de <i>Puccinia triticina</i> na presença de luz, experimento 2; a) MDK-MR 4002S (B55 4002S); b) MCG-MN. ( $p>0,05$ ).....	115
3	Germinação (%) de uredosporos de <i>Puccinia triticina</i> na ausência de luz, experimento 1; a) MDK-MR 4002S (B55 4002S); b) MCG-MN. ( $p>0,05$ ).....	116
4	Germinação (%) de uredosporos de <i>Puccinia triticina</i> na ausência de luz, experimento 2; a) MDK-MR 4002S (B55 4002S); b) MCG-MN. ( $p>0,05$ ).....	117

# **ESPECIALIZAÇÃO FISIOLÓGICA DE *Puccinia triticina*, AGRESSIVIDADE E SENSIBILIDADE DE RAÇAS A FUNGICIDAS**

**VÂNIA BIANCHIN<sup>1</sup>**

**RESUMO** – O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma das culturas mais importantes do mundo. O Brasil busca a auto-suficiência na produção e, as tecnologias empregadas no cultivo, são fundamentais para acréscimos de produtividade. Várias doenças reduzem o rendimento de grãos desta cultura e a ferrugem da folha, causada pelo fungo *Puccinia triticina* Eriks., é uma das mais importantes. Os principais manejos desta doença consistem na obtenção de cultivares resistentes e controle químico. Com o objetivo de avaliar se as novas raças identificadas em 2008 (TDP-MR, TPT-HT e TDP-HR) e 2009 (MDP-MR 4002S – B58 4002S) permanecem com a sensibilidade reduzida aos triazóis, estudou-se a concentração inibitória. Além destas raças, foram testadas a SNJ-RR e a padrão sensível MCG-MN. Determinou-se a  $CI_{50}$  dos fungicidas triazóis (IDMs), ciproconazol e tebuconazol e das estrobilurinas (IQEs), azoxistrobina e piraclostrobina aplicados preventiva e curativamente. As raças SNJ-RR e MCG-MN (B34) apresentaram maior sensibilidade aos fungicidas e as raças TDP-HR e M(F)DP-MT(R) mostraram as maiores reduções na sensibilidade para os fungicidas tebuconazol e ciproconazol. Foi realizado também o

---

<sup>1</sup>Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>., doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), Área de Concentração em Fitopatologia.

monitoramento da sensibilidade ao longo do desenvolvimento do trigo, não tendo sido verificada alteração significativa da sensibilidade de uma mesma raça no decorrer do cultivo. Em outros ensaios foi possível verificar a ação de contato de fungicidas (triazóis e estrobilurinas) sobre os esporos. Nenhum dos fungicidas aplicados inibiu a germinação de forma eficiente. Conduziram-se, ainda, estudos sobre epidemiologia comparativa entre raças. Existem diferenças significativas entre as raças em todos os aspectos analisados. As raças SNJ-RR e MCG-MN são as que deixam menos descendentes, tem maior período de latência e, portanto, menor capacidade de competição e prevalência. O fungicida tebuconazol para raça B34 controlou infecções latentes de até seis dias (86%) e confere proteção até nove dias (29%) após aplicação, enquanto que para a B55 4002S controla infecções latentes de até cinco dias (56%) e no quarto dia após a aplicação já não confere mais proteção satisfatória (16%). A inibição da germinação dos esporos pela luz foi maior na raça B34 que na raça B55 4002S. A temperatura ótima para a germinação dos esporos em presença de luz para a raça B55 4002S foi de 18,5°C e em ausência de luz foi de 8,9°C, enquanto que para B34 foi de 16,2°C e 10,8°C, respectivamente.

**Palavras-chave:** *Triticum aestivum*, ferrugem da folha, resistência a fungicidas.

**PHYSIOLOGIC SPECIALIZATION OF *Puccinia Triticina*,  
AGGRESSIVENESS AND SENSITIVITY OF RACES TO  
FUNGICIDES**

**VÂNIA BIANCHIN, ERLEI MELO REIS, AMARILIS LABES  
BARCELLOS E CAMILA TURRA**

**ABSTRACT** – Wheat (*Triticum aestivum* L.) is one of the most important crops in the world. Brazil is seeking self-sufficiency in wheat production and the employed technologies in farming are key factors to increase productivity. Several diseases can reduce wheat grain yield and leaf rust caused by *Puccinia triticina* Eriks. is one of the most important. The primary management of this disease is the development of resistant cultivars and chemical control. The fungus shows a large variability, resulting in the selection of new races throughout the years. Triazole (IDM) and strobilurin (IQE) are the only two chemical groups of fungicides recommended to control leaf rust. In 2007 was reported by the first time in Brazil, sensitivity reduction for MDP-MR, MR-MDT, MDK-MR-HT and MFH races of *P. triticina*. Aiming to evaluate whether the new identified new races in 2008 (TDP-MR, TPT-HT e TDP-HR) and 2009 (MDP-MR 4002S – B58 4002S) remain with altered sensitivity in addition to the old races. Sensitivity of the new race SNJ-RR was compared to pattern-sensitive MCG MN. Inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of triazole fungicides (IDMs), and tebuconazole cyproconazole and strobilurin (IQEs), azoxystrobin and pyraclostrobin preventive and curative applied were

determined. Races SNJ-RR and MCG-MN showed greater sensitivity to fungicides and races TDP-HR and M (F) MT-DP (R) showed the greatest reductions in sensitivity to tebuconazole and cyproconazole fungicides. It was also shown no sensitivity shift during the wheat development. In other tests it was possible to study the contact action of fungicides (triazoles and strobilurin) on the *P. triticina* uredospores germination. None of the applied fungicides inhibited germination efficiently through contact action. On comparative epidemiology, significant differences were found among races in all aspects analyzed. Races SNJ-RR-MN and MCG showed low sporulation rate, greater latency period. Tebuconazole fungicide was efficient to control the sensitive B34 race. Spores germination inhibition by light was greater in race B34 than for B55 4002S. The optimum temperature for spores germination in the presence of light for the race B55 4002S was 18.5°C, and in the dark 8.9°C, while for B34 was 16.2°C and 10.8°C, respectively.

**Keywords:** *Triticum aestivum*, leaf rust, fungicide resistance.

.

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do trigo, especialmente na região sul do Brasil, desempenha papel fundamental na agricultura pela utilização da área no inverno. Devido às políticas econômicas e às condições adversas de clima a área cultivada com trigo no Brasil é instável, desde 3.900.000 mil hectares na safra de 1986/1987 até um milhão de hectares em 1995/1996. Em 2010/2011 a área plantada foi de 2.150.000 hectares (CONAB, 2011).

O Brasil busca a auto-suficiência na produção do trigo, mas assim como a área, esta também oscila e ainda se mantém abaixo do consumo interno de 11 milhões de toneladas. Em 2010, a área de cultivo foi 11,5% menor que a área da safra anterior, no entanto, a produção aumentou em 17%. Isto significa que se ganhou em produtividade, devido a tecnologia aplicada e ao ambiente favorável (CONAB, 2011).

A Região sul do Brasil, responsável por 94% da produção de trigo (CONAB, 2011), sofre com o clima instável durante o período de cultivo. As precipitações pluviais freqüentes resultam em períodos de molhamento prolongados e as temperaturas altas tornam a produção dos cereais de inverno um desafio. A ocorrência e a severidade de doenças relacionadas com estas adversidades climáticas constituem a principal causa da instabilidade das safras.

As doenças, de modo geral, reduzem a produtividade e, dentre elas, a ferrugem da folha do trigo (*Puccinia triticina* Erik.) é a mais

importante, uma vez que pode causar danos de até 63% (BARCELLOS & IGNACZAC, 1978).

Ao mesmo tempo em que as pesquisas avançam os problemas em relação a esta doença persistem. Novas cultivares resistentes a ferrugem são lançadas todos os anos no mercado, entretanto, a resistência é do tipo específica (com poucos genes) e facilmente vencida pela mutação e seleção do patógeno. A durabilidade dependerá da pressão de seleção, isto é, da área cultivada com o material resistente. Geralmente, a resistência de uma cultivar dura em torno de quatro anos. Algumas cultivares possuem resistência não específica (resistência de planta adulta), que é o resultado do efeito aditivo de vários genes. Esta resistência é durável, entretanto, materiais com esta característica são mais difíceis de serem conseguidos.

Outra forma eficaz de se controlar esta doença é a utilização de fungicidas, contudo, o seu uso constante em larga escala pode promover a seleção de linhagem de fungos menos sensíveis comprometendo a eficiência do método de controle (GHINI & KIMATI, 2000).

Recentemente no Brasil foi relatada a redução de sensibilidade do fungo *P. triticina* em relação aos triazóis. Estudos foram conduzidos em laboratório a partir de relatos de falha no controle no campo e, então, confirmada a suspeita (ARDUIM et al., 2009).

Após a constatação de redução da sensibilidade do fungo causador da ferrugem da folha do trigo (ARDUIM, 2009), surgiu a necessidade de se monitorar a alteração da sensibilidade das novas

raças que surgiram nas safras subseqüentes (2008 e 2009) e, ainda, comparar fatores epidemiológicos entre as raças que possam explicar a maior ou menor adaptação.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Ferrugem da folha do trigo**

A denominação, ferrugem, se deu devido à cor laranja/amarelado dos uredosporos, os quais conferem às lesões aspecto ferruginoso. Há milhares de anos a ferrugem coexiste com o trigo. Existem relatos de ferrugens em literaturas clássicas da Grécia e de Roma e também na Bíblia (CHESTER, 1946).

Na Roma antiga, cerca de 700 anos antes de Cristo, as lavouras já eram dizimadas pela ferrugem. O fato era explicado como castigo dos deuses. O deus Robigus era o deus da ferrugem e, para acalmá-lo, era glorificado na cerimônia chamada Robigalia. Entre os rituais estava incluído o sacrifício de animais de pelagem avermelhada como cães, vacas, raposas, a fim de abrandar a ira do deus. Esta prática religiosa foi mantida por aproximadamente 1700 anos, até o declínio do Império Romano (CHESTER, 1946).

O centro de origem da ferrugem da folha do trigo é o mesmo de seu hospedeiro, segundo Zhukovsky (1959, 1965) a região da Transcaucasia que corresponde a Georgia, Azerbaijão e Armênia é o centro primário do gênero *Triticum*.

O surgimento desta ferrugem no Brasil provavelmente ocorreu entre os anos de 1811 e 1814, sendo apontada como a principal razão pelo desaparecimento da cultura do trigo em 1823, ressurgindo anos mais tarde por volta de 1875 (CUNHA, 1999).

A ferrugem da folha do trigo é uma doença de ocorrência freqüente e regular em cultivos de trigo de todo o mundo. A importância da doença cresceu juntamente com o aumento da freqüência das epidemias e, ainda, com a amplitude da distribuição nas regiões tritícolas. Os danos são devido a redução no número de grãos e no tamanho das espigas (BOLTON et al., 2008).

### **2.1.1 Etiologia**

O agente causal da ferrugem da folha do trigo é o fungo *Puccinia triticina* Eriks. Pertence ao filo Basidiomycota, classe Urediniomycetes, ordem Uredinales, família Pucciniaceae e gênero *Puccinia* (BOLTON et al., 2008).

Este fungo é macrocíclico por possuir a fase sexual e assexual com a formação de cinco tipos de esporos (0, picniosporos; I, aeciosporos; II, uredosporos; III, teliosporos e IV, basidiósporos). É heteróico porque necessita de duas espécies botânicas distintas para completar o ciclo de vida (AGRIOS, 2005).

### **2.1.2 História da taxonomia**

A classificação dos patógenos causadores de ferrugens vem passando por muitas revisões. O agente causal da ferrugem da folha do trigo inicialmente foi designado como *Uredo rubigo-vera* por Augustin de Cadolle em 1815. Em 1884 o agente causal da ferrugem da folha foi incluído por Winter em um complexo de espécies

denominada *Puccinia rubigo-vera*. Eriksson em 1899 foi o primeiro a descrevê-la como uma espécie única e específica para o trigo, chamando de *Puccinia triticina*.

Cummins e Caldwell (1956) incluíram a ferrugem da folha do trigo entre o complexo das espécies de *P. recondita* pela semelhança na morfologia dos esporos e pela gama de hospedeiros intermediários. Baseado nos hospedeiros, *P. recondita* foi subdividida em “*formae speciales*” e o agente causal da ferrugem da folha foi denominado *P. recondita* f.sp. *tritici* (WILSON & HENDERSON, 1966). Mais recentemente, Anikster et al. (1997) sugeriram que ferrugens da folha que possuíssem como hospedeiro intermediário a espécie botânica *Thalictrum speciosissimum* L. (família Ranunculaceae) fossem consideradas uma espécie distinta das ferrugens que tivessem como hospedeiro intermediário *Anchusa* spp. L. (família Boraginaceae).

Ferrugem da folha do trigo, que possuem *T. speciosissimum* como hospedeiro intermediário são sexualmente incompatíveis com as ferrugens que têm como hospedeiro intermediário *Anchusa* spp.

Baseado na incompatibilidade sexual foi sugerida a separação do agente causal da ferrugem da folha do trigo do complexo *P. recondita*. É sustentado, ainda, pela análise filogenética da seqüência de ADN ribossomal (ZAMBINO & SZABO, 1993), morfologia do esporo (SAVILE, 1984) e morfologia da estrutura infecciosa (SWERTZ, 1994). A nomenclatura aceita hoje é *Puccinia triticina* Eriks.

### 2.1.3 Gama de hospedeiros

Em todo o mundo o hospedeiro primário da *P. triticina* é o trigo hexaplóide (*Triticum aestivum* L.) (ROELFS et al., 1992). Entretanto *P. triticina* também ocorre em trigo tetraplóide (*Triticum turgidum* L. e *Triticum durum* Desf.), nos ancestrais *Triticum dicoccoides* (Koern. ex Aschers. and Graebn.) e *Triticum dicoccon* Schrank e, ainda, em triticales (X Tritico-secale Wittmack). Em Israel uma forma do fungo foi encontrada em espécies diplóides como *Aegilops speltoides* Tausch. (forma esta não encontrada em trigo) em uma área limitada (YEHUDA et al. 2004). *P. triticina* pode ainda infectar *Aegilops cylindrica* L. O fungo *P. triticina* tem a peculiaridade de possuir grandes diferenças genéticas (variabilidade) e uma gama bem restrita de hospedeiros. Isolados que ocorrem em *T. durum* e *Aegilops speltoides* provavelmente poderão ser considerados duas *formae speciales* (BOLTON et al., 2008).

Em condições naturais não foram observadas infecções nas espécies de trigo selvagem como *Aegilops sharonensis* Eig., *Aegilops tauschii* Coss., *Aegilops bicornis* Forsk., *Aegilops longissima* Schweinf. & Muschl., *Aegilops ovata* L., *Aegilops variabilis* Eig., *Triticum timopheevi* Zhuk e *Triticum urartu* Tum., entretanto em inoculações artificiais é possível obter a doença (ANIKSTER et al., 1997).

A fase sexual da *P. triticina* raramente é encontrada na América do Norte (em *Thalictrum* spp.) (LEVINE & HILDRETH, 1957). No sul da Europa o ciclo é completado em *Thalictrum*

*speciosissimum* L. (YOUNG & D'OLIVEIRA, 1982). Infecções em *Isopyrum fumaroides* L. são restritas a uma única região da Sibéria.

#### **2.1.4 Ciclo de vida do fungo**

O fungo *P. triticina* é macrocíclico, isto é, apresenta ciclo assexual e sexual, nos quais são produzidos cinco tipos de esporos distintos morfológica e funcionalmente (REIS, 1991), e heteróico, necessita de duas espécies (botânicas) hospedeiras taxonomicamente distintas para completar o ciclo (*T.aestivum* x espécies da família Ranunculaceae) (Figura 1).

Os uredosporos são produzidos no ciclo assexual do patógeno e são os únicos esporos infectivos, no Brasil, e, portanto, responsáveis pelas epidemias. Em locais do hemisfério norte, o ciclo da ferrugem é completo devido a presença de hospedeiros intermediários (REIS, 1991).

Os uredosporos são dicarióticos, medem de 15 a 20 µm de diâmetro, apresentam parede espessa e equinulada e possuem 3 a 8 poros de germinação (CUMMINS & HIRATSUKA, 2003).

No final do ciclo do trigo (maturação) inicia o desenvolvimento das télias, lesões escuras que produzem outro tipo de esporo, os teliosporos. Estes esporos são formados por duas células dicarióticas, medem aproximadamente 16 µm de largura e possuem parede celular lisa. Quando as condições ambientais estão favoráveis uma ou as duas células emitem uma hifa chamada pro-micélio. O núcleo diplóide sofre meiose e forma quatro núcleos haplóides que

migram dentro do pro-micélio, então, este é subdividido em quatro células separadas por septos, cada célula com um núcleo haplóide. Uma estrutura chamada de esterigma é formada no ápice de cada célula para onde o núcleo migra. Cada esterigma forma um basidiosporo, cujo núcleo sofre mitose dando origem a dois núcleos idênticos. Os basidiosporos medem cerca de 6  $\mu\text{m}$ . Quatro horas depois da maturação, os basidiosporos são ejetados e carregados pelo vento até atingir o hospedeiro intermediário (BOLTON et al., 2008).

A infecção causada pelo basidiosporo no hospedeiro intermediário origina as picnias. Cada picnia forma picniosporos, medindo 2 - 3  $\mu\text{m}$  (gameta masculino) e hifa receptiva (gameta feminino). O fungo *P. triticina* é heterotálico, então, picniosporos e hifas receptivas formadas na mesma picnia são incompatíveis. Os picniosporos são liberados juntamente com um exsudato que atrai insetos que os dispersam assim como os respingos de chuva. Quando pares compatíveis se encontram ocorre a fusão dos gametas e a formação de um micélio dicariótico, que se desenvolve através da folha e forma aécia na face inferior da folha do hospedeiro intermediário, diretamente abaixo da picnia (BOLTON et al., 2008).

Aeciosporos medem cerca de 20  $\mu\text{m}$  e são formados em cadeia, removidos e disseminados pelo vento, podendo infectar tanto trigo como hospedeiro intermediário. O ciclo se completa quando da infecção dos aeciosporos são formados os uredosporos (BOLTON et al., 2008).

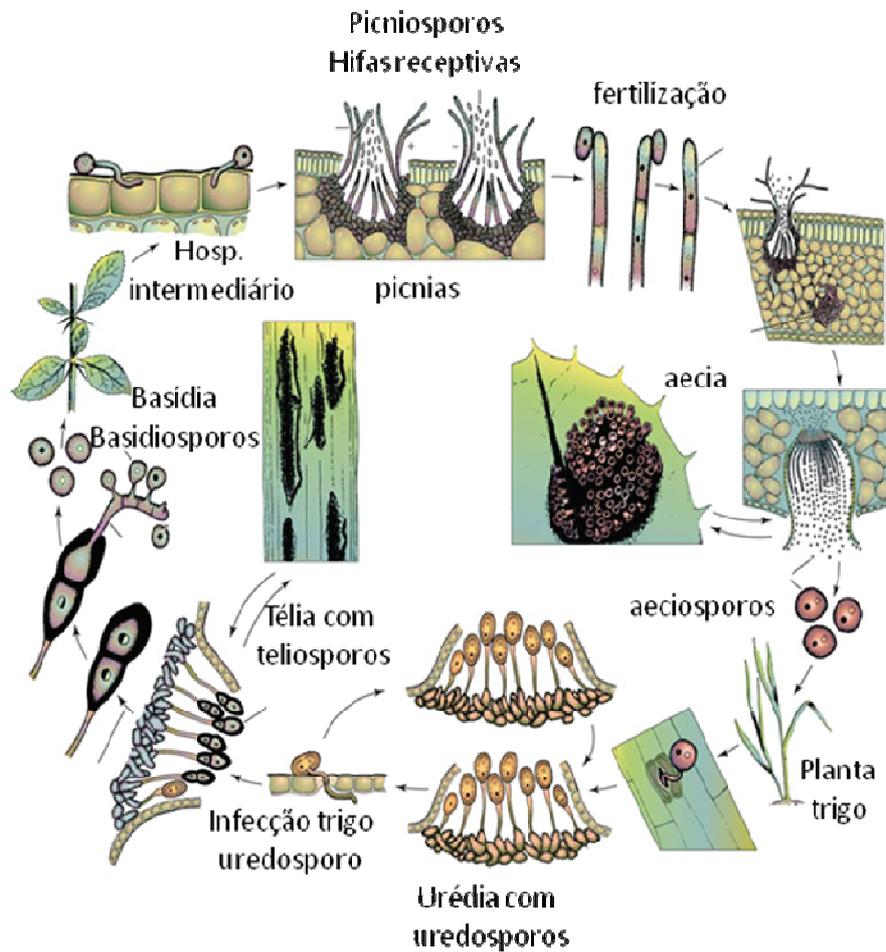


Figura 1: Ciclo de vida do fungo *Puccinia triticina* (Fonte: AGRIOS, 2005).

#### 2.1.4.1 Relação patógeno x hospedeiro

No Hemisfério Norte o ciclo da ferrugem é completo, onde o fungo produz os cinco tipos diferentes de esporos: uredosporos, teliosporos, basidiosporos, picniosporos e aeciosporos (AGRIOS, 2005). Isto devido à presença das plantas que cumprem o papel de hospedeiros intermediários.

Os hospedeiros intermediários do agente causal da ferrugem, provavelmente não ocorrem no Hemisfério Sul. Por este motivo, no Brasil o ciclo é incompleto, sendo produzidos apenas dois tipos de esporos, os uredosporos e os teliosporos (Figura 2). Destes somente os primeiros cumprem função biológica causando infecção em plantas de trigo e triticale. Apesar de *P. triticina* ser infectivo a triticale, nem todas as raças possuem alta agressividade a esta espécie e os materiais atualmente plantados têm resistência às raças predominantes de *P. triticina* (INFORMAÇÕES..., 2008).

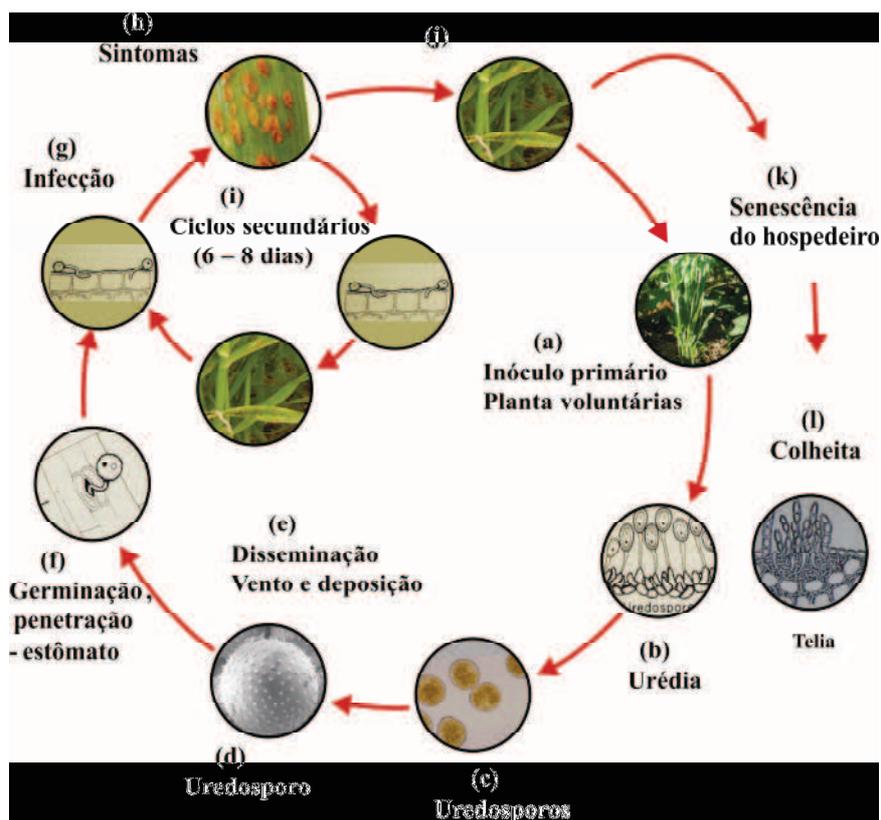


Figura 2: Ciclos primário e secundários da ferrugem da folha do trigo no Hemisfério Sul (Fonte: REIS et al., 2009).

Não estão disponíveis informações a respeito da germinação dos teliosporos nas condições climáticas da América do Sul, mas mesmo que germinem não cumprem função biológica por falta de plantas suscetíveis aos basidiósporos.

Durante o cultivo do trigo, em condições favoráveis (temperatura em torno de 20°C e molhamento da lâmina foliar), depois da deposição do inóculo primário no hospedeiro, sucedem infecções advindas da esporulação das primeiras urédias, ciclos secundários, e assim a doença aumenta resultando em epidemia (Figura 2). Uma vez que o inóculo é introduzido na lavoura, a doença cresce em intensidade graças aos ciclos secundários, resultando infecções em novas folhas e plantas e aumento do número de urédias por folha (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996). Em algumas safras a epidemia é tão intensa que resulta na morte de folhas (ROELFS, 1992).

#### **2.1.4.2 Sobrevivência e fontes de inóculo**

O agente causal da ferrugem da folha do trigo é parasita biotrófico e, por isso, somente sobrevive na fase parasitária em (plantas vivas) lavouras e em plantas voluntárias ao longo de caminhos, estradas e rodovias (REIS e CASA, 2007). Nestas plantas de trigo não cultivadas são produzidas urédias com uredosporos que são removidos e transportados pelo vento para os cultivos de trigo.

Merece destaque também a manutenção e multiplicação do inóculo durante todo o ano em lavouras de trigo. Em quase todos os

meses do ano, na América do Sul, é possível encontrar trigo em cultivo (folhas verdes) como representado na Tabela 1 (REIS et al., 2009).

Tabela 1. Meses de semeadura e de colheita do trigo na América do Sul\*

País/Região/Estado	Semeadura	Colheita
Bolívia: Vales Santa Cruz	Outubro – Abril	Abril – Outubro
Goiás (Sequeiro - Irrigado)	Fevereiro – Maio	Agosto – Setembro
São Paulo – Sul	Março	Agosto
Paraguai	Março – Maio	Julho – Agosto
Paraná – Norte	Março – Abril	Agosto
Paraná – Campos Gerais	Junho – Julho	Novembro – Dezembro
RS – Fronteira	Maio	Agosto – Setembro
RS – Vacaria	Junho – Julho	Dezembro – Janeiro
Uruguai	Abril – Julho	Novembro – Dezembro
Argentina – Norte (Salta, Santiago Del Estero, Tucumán)	Maio – Junho	Novembro
Argentina – Sul (Bordenave)	Julho	Dezembro – Janeiro
Chile – Sul	Setembro - outubro	Janeiro – Fevereiro

(\*) Não se trata de épocas recomendadas, mas efetivamente semeadas (REIS et al., 2009).

Infere-se que em todos os meses, em algum lugar ou região do Cone Sul, plantas de trigo recebem o inóculo transportado pelo vento. Nesta grande região os esporos migram pelo vento de lavoura para lavoura ao longo de toda a área mantendo o fungo viável ao longo dos anos. Esta evidência é reforçada pelas novas raças encontradas em cada País, por exemplo, raças que surgem em um ano específico na Argentina, dois anos mais tarde são encontradas no Brasil. As plantas voluntárias reforçam a sobrevivência do fungo nas proximidades das lavouras (REIS et al., 2009).

### **2.1.4.3 Remoção e transporte do inóculo**

A remoção dos uredosporos de *P. triticina* depende principalmente de dois fatores: velocidade do vento e umidade relativa do ar. Os uredosporos são esporos secos e leves (MAUDE, 1996) sendo facilmente removidos das frutificações (urédias) quando em condições de baixa umidade e alta radiação. Quanto maior a velocidade do vento maior também a remoção. O transporte é realizado pelo vento a curtas e longas distâncias. Dependendo da turbulência e do movimento das massas de ar, os esporos podem ser carregados verticalmente atingindo cerca de 1,5 quilômetros e então “viajar” por milhares de quilômetros atravessando oceanos e continentes ou podem ser carregados a curtas distâncias por movimentos chamados horizontais. Desta forma os esporos são carregados passivamente e disseminados para várias direções (ROELFS, 1985).

### **2.1.4.4 Deposição, germinação e penetração**

Os uredosporos transportados pelo vento são depositados em diversas superfícies como solo, plantas hospedeiras e não hospedeiras, causando infecção ao encontrarem plantas suscetíveis de trigo e condições de molhamento e temperatura favoráveis (ROELFS, 1985).

Quando os esporos são advindos de longas distâncias, cerca de 80 a 90% deles são depositados através de gotículas de chuva que

carregam os esporos presentes em camadas mais altas da atmosfera (ROELFS, 1985).

Havendo lâmina de água sobre a superfície, os esporos germinam emitindo o pró-micélio ou tubo germinativo, formam apressório sobre a abertura estomatal e penetram no hospedeiro (ROELFS, 1985).

#### **2.1.4.4.1 Processo de infecção em trigo**

Para germinação dos uredosporos é necessário molhamento da superfície foliar. O esporo embebe água, entumece e emite o tubo germinativo. Este processo ocorre de 4 a 8 horas após a inoculação com temperatura de 20°C. Contudo, se não houver molhamento o esporo ficará viável por um a três dias após a deposição. O crescimento do tubo germinativo é orientado por uma resposta ao tigmotropismo da topografia da superfície foliar, crescendo perpendicularmente às nervuras da folha. O tubo germinativo cresce enquanto houver reservas do esporo e, caso não encontre um estômato, o tubo é degenerado (BOLTON et al., 2008).

Quando encontra o estômato a elongação do tubo é paralisada, o protoplasma é deslocado para a extremidade para formar o apressório sobre a abertura estomatal. A formação do apressório ocorre 24 horas após a deposição. Os dois núcleos do uredosporo migram para dentro do apressório onde ocorre a mitose. Para a formação de um septo, a fim de isolar o meio externo, o estômato é prontamente fechado. Um novo tubo inicia o crescimento a partir do

apressório, inicia a formação de uma vesícula sub-estomatal e a translocação do citoplasma e dos núcleos para dentro dela, a partir desta vesícula, cresce nos espaços intercelulares uma hifa infectiva propriamente dita. Esta entra em contato com uma célula do mesófilo, é formado um septo que delimita a célula mãe do haustório. Através da membrana especializada do haustório, o fungo retira da célula do hospedeiro os nutrientes necessários para seu desenvolvimento. Partindo deste evento, outras hifas infectivas serão formadas e novos haustórios serão emitidos para dentro das células hospedeiras resultando em uma grande rede de micélio do fungo. Sete a 10 dias após a inoculação o tecido da epiderme da folha será rompido e os uredosporos liberados. Em hospedeiros altamente suscetíveis, urédias secundárias são formadas ao redor da primeira urédia rompida (BOLTON et al., 2008).

#### **2.1.4.4.2 Colonização**

É considerada colonização a etapa em que o fungo inicia sua nutrição a partir do conteúdo celular do hospedeiro. O micélio cresce nos espaços intercelulares. Somente o haustório penetra na célula, causando o menor dano possível ao hospedeiro, característica típica de parasitas biotróficos.

### **2.1.5 Interferência do parasitismo na fisiologia do hospedeiro**

Em quatro a seis dias após a infecção pelo fungo *P. triticina* algumas mudanças podem ser observadas no hospedeiro. Na célula ocorre um aumento do retículo endoplasmático e do complexo de Golgi. O núcleo da célula hospedeira se alonga formando uma vesícula que frequentemente entra em contato com o haustório do patógeno (BUSHNELL, 1984).

Dez dias depois da inoculação as organelas citoplasmáticas da célula do hospedeiro começam a se degenerar e os cloroplastos a serem atingidos, com a redução da clorofila e surgindo regiões de clorose. Dentre as ferrugens, a ferrugem da folha do trigo é a que menos dano celular causa ao hospedeiro (BUSHNELL, 1984).

Durante a esporulação, a senescência dos tecidos do hospedeiro é acelerada, resultando na digestão dos constituintes celulares, que provavelmente são utilizados como nutrientes ao patógeno (BUSHNELL, 1984).

O espaço ocupado pelo crescimento do micélio intercelularmente também afeta o hospedeiro, podendo causar danos físicos de rompimento de células, incluída a toxidez de metabólitos excretados pelo fungo. Estes metabólitos passam a ser mais prejudiciais com o passar do tempo (fase de digestão das organelas celulares do hospedeiro) (BUSHNELL, 1984).

Há evidências que a citocinina seja o hormônio mais produzido no estágio inicial da infecção, resultando na formação de ilhas verdes nas folhas do hospedeiro. Já as auxinas são mais produzidas durante a

fase de esporulação, podendo ser também responsáveis pelo aumento da respiração. O etileno e o ácido abscísico também tem incremento em folhas com a doença, sendo provavelmente responsáveis pela aceleração da autólise das células ocasionando amarelecimento e morte (BUSHNELL, 1984).

### **2.1.6 Sintomatologia**

Os sintomas em trigo podem manifestar-se em todos os órgãos verdes, desde o surgimento das primeiras folhas até a maturação da planta. Inicialmente, surgem pequenas urédias arredondadas, com cerca de 1,5 mm de diâmetro, amarelo-alaranjadas, dispostas sem ordenação, de preferência localizadas na face superior das folhas, estendendo-se às bainhas. No interior das urédias são produzidos os esporos, denominados uredosporos (Figura 3). As pústulas téliais, pretas e ovais, sucedem as urédias, sempre recobertas pela epiderme até o final do ciclo da planta (AGRIOS, 2005).

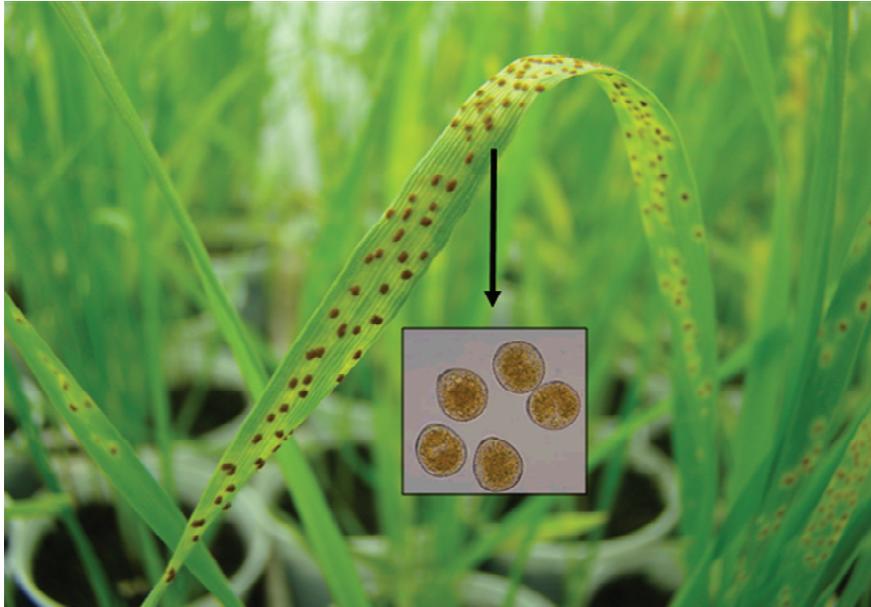


Figura 3: Urédias com uredosporos de *Puccinia triticina* causador da ferrugem da folha do trigo.

### 2.1.7 Especialização de *Puccinia triticina* no Brasil

O fungo *P. triticina* possui grande variabilidade genética causada por vários mecanismos como recombinação meiótica, heterocariose, parasexualismo, heteroploidismo, herança citoplasmática e mutação (AGRIOS, 2005). A mutação é responsável pela maior parte da variação no patógeno, que dará origem às raças que apresentam a característica de não diferirem morfologicamente e infectarem genótipos distintos do hospedeiro de mesma espécie (ROELFS, 1992).

Os estudos de especialização fisiológica de *P. triticina* no Brasil foram iniciados por Vallega em 1941. Neste período, as raças não eram denominadas da forma atual, com a letra “B” e o número

correspondente, eram simplesmente denominadas com a numeração correspondente à ordem de identificação, exemplo as raças 19, 64 e 105 (BARCELLOS, 1982).

Utilizando a série diferencial internacional foram identificadas 26 raças no período compreendido entre 1949-1952. As raças 20, 77 e 31 foram as mais freqüentes (SILVA et al., 1955 *apud* BARCELLOS, 1982). A partir de 1952, 28 raças e 10 sub-raças foram determinadas. A identificação das raças foi baseada nas séries diferenciais descritas por Silva et al. (1960) e Cenoz (1961).

As raças 25 e 26 foram determinadas pela primeira vez em 1961, a raça 27 em 1962 e a raça 28 em 1970. Dentre as raças identificadas entre os anos de 1958 até 1974, as mais importantes em ocorrência foram as raças 4 e 19. Nos anos de 1975 e 1976 a população patogênica foi alterada e a raça 19 perdeu a importância (BARCELLOS, 1982).

Desde o ano de 1977 a diferenciação de raças de *P. triticina* tem sido realizada conforme combinação de virulência obtida pelas reações das linhas portadoras dos genes de resistência *Lr*. Em 1978 as fórmulas de virulência passaram a ser denominadas com a sigla “B” (Brasil) seguida da numeração em ordem de identificação (BARCELLOS, 1982). Da raça B1 até B9 a série diferencial era diferente da utilizada nos anos subseqüentes, não sendo, por esta razão possível comparar estas raças com B10 até B58 (última raça com nomenclatura brasileira) (Tabela 3 e 4).

Tabela 2: Raças fisiológicas de *Puccinia triticina* sob nomenclatura brasileira identificadas no Brasil segundo as fórmulas de virulência

Raças	Formulas de avirulência/virulência	
	Genes efetivos <i>Lr</i>	Genes inefetivos <i>Lr</i>
B1	2a, 2c, 2d, 9, 10, 16, 17, 18, 21	1, 3, 3ka, 14a
B2	2a, 2c, 2d, 9, 16, 17, 18, 21	1, 3, 3ka, 10, 14a
B3	2a, 3, 3ka, 9, 10, 16, 17, 18	1, 2c, 2d, 14a, 21
B4	2a, 3, 3ka, 9, 10, 16, 17, 18, 21	1, 2c, 2d, 14a
B5	2a, 3, 3ka, 9, 16, 17, 18	1, 2c, 2d, 10, 14a, 21
B6	2a, 3, 3ka, 9, 16, 17, 18, 21	1, 2c, 2d, 10, 14a
B7	2a, 3, 9, 16, 17, 18, 21	1, 2c, 2d, 3ka, 10, 14a
B8	3, 3ka, 9, 16	1, 2a, 2c, 2d, 10, 14a, 17, 18, 21
B9	3, 3ka, 9, 16, 21	1, 2a, 2c, 2d, 10, 14a, 17, 18
B10	2a, 3, 3ka, 9, 10, 16, 17, 18, 21, 23, 24, 26	1, 2c, 2d, 14a, 14b
B11	2a, 3, 3ka, 9, 10, 16, 17, 18, 21, 24, 26	1, 2c, 2d, 14a, 14b, 23
B12	2a, 3, 3ka, 9, 10, 16, 17, 18, 21, 23, 24, 26	1, 2c, 2d, 10, 14a, 14b
B13	2a, 3, 9, 16, 17, 18, 21, 23	1, 2c, 2d, 3ka, 10, 14a, 14b
B14	3, 3ka, 9, 16, 21, 23, 24, 26	1, 2a, 2c, 2d, 10, 14a, 14b, 17, 18,
B15	1, 2a, 3, 3ka, 9, 10, 16, 17, 18, 21, 23, 24, 26	2c, 2d, 14a, 14b
B16	2a, 2c, 2d, 3, 3ka, 9, 10, 16, 17, 18, 21, 24, 26	1, 14a, 14b, 23
B17	3, 3ka, 9, 10, 14a, 16, 21, 23, 24, 26	1, 2a, 2d, 17, 18
B18	2a, 2d, 9, 10, 16, 17, 18, 21, 24, 26	1, 3, 3ka, 14a, 14b, 23
B19	1, 2a, 3, 3ka, 9, 10, 16, 17, 18, 21, 24, 26	2d, 14a, 14b, 23
B20	1, 2a, 3, 3ka, 9, 10, 16, 17, 18, 21, 23, 26	2d, 14a, 14b, 24
B21	2a, 2d, 3, 3ka, 9, 16, 17, 18, 21, 24, 26	1, 10, 14a, 14b, 23
B22	2a, 3, 3ka, 9, 16, 17, 18, 21, 24, 26	1, 2d, 10, 14a, 14b, 23
B23	2a, 2d, 3, 9, 16, 17, 18, 21, 24, 26	1, 3ka, 10, 14a, 14b, 23
B24	2a, 3, 3ka, 9, 10, 16, 17, 18, 21, 23, 24, 26	1, 2d, 14a, 14b

Tabela 3: Raças fisiológicas de *Puccinia triticina* (nomenclatura brasileira) identificadas no Brasil, ano da primeira detecção, código norte-americano correspondente e possíveis variações de reações conferidas pelos genes da série diferencial

Raças	Ano	Nomenclatura norte-americana	Possíveis variações no código norte-americano
B10	-	NBG-GR	-
B12	-	NB(B)-LR	NB(B/C/D/F/H/K/G/J)-LR
B14	-	SBJ-LQ	-
B22	-	NB(K)-MR	NB(K/C/D/F/H/B/G/J)-MR
B25	1982	LC(B)-(M)S	LC(B/C/D/F/H/K/G/J)-(M/R)S
B26	1982	NC(B)-TR	NC(B/C/D/F/H/K/G/J)-TR
B27	1983	MB(R)-(M)(R)	MB(R/T)-(M/R)(R/Q)
B28	1983	MB(G)-ML	MB(G/H/J)-ML
B29	1984	TD(R)-(G)L	TD(R/T)-(G/B)L
B30	1983	SD(G)-QR	SD(G/H/J/K)-QR
B31	1985	CB(Q)-HQ	CB(Q/R/S/T)-HQ
B32	1986	LL(B)-HQ	LL(B/C/D/F/H/K/G/J)-HQ
B33	1986	TG(B)-BH	TG(B/C/D/F/H/K/G/J)-BH
B34	1989	MC(G)-(R)(L)	MC(G/Q/S/T/F/H/K/R/J)-(R/M/L/N/C/H)(L/N/S)
B35	1989	MC(R)-(C)(S)	MC(R/G/C/H/J/K/Q/R/T)-(C/H)(S/N)
B36	1989	MBR-RL	-
B37	1988	SL(K)-HQ	SL(K/B/C/D/F/G/H/J)-HQ
B38	1991	TB(J)-(R)(R)	TB(J/B/C/H/D/F/G)-(R/Q/M)(R/Q)
B39	1993	CG(T)-CQ	CG(T/R)-CQ
B40	1994	MF(T)-(K)(S)	MF(T/G/H/J/K/L/Q/R/S/T)-(K/C/H)(S/M/L)
B41	1995	SB(B)-BR	SB(B/C/D/F/H/J/K/G)-BR
B42	1995	LF(G)-(M)S	LF(G/B/C/D/F/H/J)-(M/R)(S/Q)
B43	1995	TD(F)-(R)R	TD(F/C/D/F/G/H/J/K)-(R/Q/M)R
B44	1997	LP(G)-(R)S	LP(G/H/J/K)-(R/M)S
B45	1997	CHT-(C)Q	CHT-(C/G)Q
B46	1998	KDJ-QR	-
B47	1998	TDK-(B)L	TDK-(B/G)L
B48	1999	M(C)(N)-(M)T	M(C/H)(N/D/G/J/K/P/Q/R/S/T/C/F)-(M/P/R/L/Q/S)T
B49	2001	TF(T)-(C)S	TF(T/K)-(C/H)S
B50	2002	SPJ-RS	-
B51	2002	M(D)(T)-(C)(R)	M(D/F)(T/R)-(C/H)(R/T)
B52	2003	MF(J)-(M)N	MF(J/S)-(M/M)N
B53	2003	MHT-LS	-
B54	2003	TF(T)-(C)T	TF(T/R/K)-(C/H)T
-	2003	MBD-MR	-
-	2003	MCD-MN	-

Continuação da tabela

4...

-	2003	SNJ-RR	-
-	2003	TDT-CR	-
B55	2004	M(D)(T)-(M)(R)	M(D/F)(T/K/R/H)-(M/R)(R/T)
B56	2005	MFP-CT	-
B55 4002 S	2007	M(D)(T)-(M)(R)	M(D/F)(T/K/R/H)-(M/R)(R/T)
B57	2007	TD(T)-MR	TD(T/R/K)-MR
B58	2005	MD(P)-MR	MD(P/M/F)-MR
-	2007	M(F)(P)-H(T)	M(F/D)(P/K/H/R)-H(T/P)
-	2008	TDP-MR	-
-	2008	TPT-HT	-
-	2008	TDP-H(R)	T(D/F)P-H(R/T)
B58 4002S	2009	MD(P)-MR	MD(P/M/F)-MR(T)

Letras entre parêntesis significam as possíveis variações das raças, devido a instabilidade de resposta de alguns genes em função das condições de ambiente.

(-) não encontrado ou não existente

Das raças identificadas até o início dos anos 80, têm-se informações dos genes *Lr* efetivos e inefetivos, entretanto, há dificuldades em determinar a raça pelo código norte-americano atual, porque nem todos os genes que são considerados hoje faziam parte da série diferencial (Tabela 3).

Nos anos de 1977 a 1980 as raças mais expressivas foram a B12, B10, B14 e B11, respectivamente (BARCELLOS, 1982). Nos anos de 1984 e 1985 a raça B25 foi a mais importante (BARCELLOS, 1986).

No período de 1990 a 1993 foram identificadas 17 raças, entretanto, a expressividade em 1990 da B32 foi maior, em 1991 da B35, em 1992 da B38 e em 1993 da B25. Em termos de importância podem ser destacadas, neste período, as raças B25 e B35 (MEDEIROS & BARCELLOS, 1994).

No período de 1999 a 2002 as raças que predominaram foram a B40 e B48. Em 2002 a frequência foi de 41% e 12 %, respectivamente

(CHAVES & BARCELLOS, 2006). Em 2004 a raça B55 foi identificada pela primeira vez e, a partir de 2005, passou a predominar e a causar danos em todas as áreas tritícolas. Em 2007 esta raça aparentemente sofre uma modificação e passa a ser chamada de B55 4002S a qual predomina até o último levantamento em 2009 (informação pessoal, dados OR Melhoramento de Sementes Ltda).

## **2.1.8 Estratégias de controle da ferrugem da folha do trigo**

### **2.1.8.1 Melhoramento genético**

A melhor estratégia de controle desta doença e, largamente utilizada nos programas de melhoramento, é a busca por materiais resistentes, embora a resistência específica não tenha longa duração, sendo facilmente vencida pela capacidade de especialização do patógeno. A resistência de planta adulta pode conferir longa duração da resistência, entretanto, é mais difícil de ser obtida e sendo um grande desafio aos melhoristas.

No germoplama da região do Cone Sul da América do Sul, a maior parte da resistência efetiva encontrada para *P. triticina*, nos materiais cultivados, é conferida pela combinação de genes maiores, presentes. Os genes de resistência mais comuns no germoplasma brasileiro são *Lr10*, *Lr23*, *Lr24* e *Lr26* (ZOLDAN e BARCELLOS, 2002). Os genes de resistência de planta adulta presentes nos genótipos brasileiros são *Lr13* e *Lr34* (ZOLDAN e BARCELLOS, 2002). Resistência deste tipo foi descrita na cultivar Toropi, tendo sido

denominados temporariamente *Trp1* e *Trp2* (BARCELLOS et al., 2000) e, de acordo com Brammer et al. (2004) um gene, não identificado, na cultivar BR35.

Na Argentina foram identificados os genes *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37* e *Lr47* em 98 cultivares recentes, isolados ou em combinações de dois ou três (DEMICHELIS et al., 2008). No Uruguai, foram encontrados os genes *Lr3*, *Lr10*, *Lr14b*, *Lr16*, *Lr17a*, *Lr24* e *Lr26* para resistência de plântula e, os genes *Lr13* e *Lr34* para resistência de planta adulta (GERMÁN, 2009).

Alguns genes aditivos menores conferem resistência da planta adulta e têm sido empregados em programas de melhoramento (SINGH et al., 2009). Exemplos de materiais com estes genes menores aditivos são: Parula (*Lr34*, *Lr46* + um ou dois genes menores), Chapio (*Lr34* + três ou quatro genes menores), Amadina (quatro genes menores) dentre outras linhas com esse tipo de resistência (SINGH et al., 2003). Estes genótipos distribuídos pelo CIMMYT são utilizados em cruzamentos com materiais adaptados em programas de melhoramento na América do Sul.

A piramidização de genes a fim de se obter efeito aditivo dos mesmos é uma estratégia viável. Em uma única cultivar, através de técnicas de melhoramento são introduzidos vários genes com objetivo de obter maior eficiência em resistência ao fungo e também resistência mais duradoura. Entretanto, a desvantagem está em expor muitos genes ao mesmo tempo sob risco de adaptação do patógeno. Outra estratégia de controle genético é o cultivo de combinações diferentes de genes e a inclusão da rotação dos genes, através da utilização de

cultivares com diferentes genes de resistência a *P. triticina* em anos consecutivos de cultivo. Contudo, esta é na prática difícil de ser implementada, pois necessita comprometimento de todos os envolvidos no cultivo (ROELFS et al., 1992).

A mistura de variedades e a utilização de multilinhas, a qual compreende a utilização da mesma variedade com adição de genes distintos (através de retrocruzamento) em linhas separadas compondo o todo para posterior cultivo, proporciona a grande vantagem de manter a população do patógeno abaixo do nível capaz de causar epidemia. A desvantagem do uso de multilinhas é o risco de se selecionar uma raça com super virulência, capaz de inefetivar vários genes ao mesmo tempo e também a dificuldade de se obter estas linhas resistentes à ferrugem, conjuntamente com resistências a outras doenças, além do alto custo e o tempo para o desenvolvimento das mesmas (ROELFS et al., 1992).

#### **2.1.8.2 Controle químico**

Como as cultivares lançadas para cultivo, normalmente, têm resistência pouco durável à ferrugem da folha do trigo, a utilização de fungicidas é de fundamental importância na manutenção da produtividade daquelas cultivares que já não são mais resistentes.

Dois grupos de fungicidas são utilizados no controle das doenças da parte aérea do trigo, os triazóis e as estrobilurinas. A gama restrita de mecanismos de ação propicia riscos maiores de redução da

sensibilidade dos fungos, uma vez que a mesma pressão de seleção é repetida ano após ano (GHINI & KIMATI, 2000).

#### **2.1.8.2.1 Fatores de risco de redução da sensibilidade de fungos**

Vários fatores influenciam a velocidade do desenvolvimento da resistência a fungicidas: a base genética da resistência, a adaptabilidade da linhagem resistente na presença ou ausência do fungicida, a natureza do patógeno e da doença e a pressão de seleção exercida pelo fungicida (DEKKER, 1995).

Se a redução da sensibilidade for oligogênica (qualitativa), um alto grau poderá ser obtido de uma só vez, com exceção para as estrobilurinas que apesar de ser oligogênica, o gene codificante está localizado na mitocôndria, e a sensibilidade terá redução gradual dependendo do número de mitocôndrias com a característica mutante. No caso oligogênico, a alta pressão de seleção proporcionada por um fungicida poderá causar um rápido e abrupto aumento da frequência de indivíduos resistentes e o problema de falha no controle poderá surgir, na prática, após uma ou duas estações de cultivo onde se utiliza o fungicida em questão (GHINI & KIMATI, 2000).

Quando a redução da sensibilidade é poligênica (quantitativa), muitos genes mutantes contribuem para a resistência, sendo cada um deles responsável por efeito aditivo. O desenvolvimento da resistência até níveis comprometedores, na prática, poderá levar mais tempo. Um exemplo é o que ocorre com a sensibilidade aos inibidores da biossíntese do ergosterol, onde o risco de resistência é considerado

mais baixo, não sendo descartado o surgimento da resistência após um período de intensa pressão de seleção do fungicida (BRENT, 1995; GHINI & KIMATI, 2000).

O risco é proporcional à capacidade de adaptação das linhagens pouco sensíveis a campo. Quanto menores forem as alterações fisiológicas pelas quais o fungo passa, maiores serão suas chances de se adaptar ao ambiente, isto ocorre com as reduções de sensibilidade oligogênicas onde menos genes importantes para a sobrevivência são modificados (GHINI & KIMATI, 2000).

A adaptabilidade está diretamente relacionada com os genes envolvidos e o mecanismo de resistência e, estes, por sua vez, estão relacionados com o modo de ação do fungicida. Algumas alterações metabólicas que conferem resistência estão ligadas a uma menor adaptabilidade na ausência do fungicida, outras não. Assim sendo, alguns fungicidas são mais vulneráveis à ocorrência de resistência do que outros. Porém, também há a possibilidade de que linhagens, cuja resistência estava associada a uma menor adaptabilidade na ausência do fungicida, tenham a adaptabilidade aumentada no decorrer do tempo, sob pressão de seleção do fungicida (ZAMBOLIM et al., 2007).

Segundo Forcelini et al. (2001) um aspecto pouco explorado na avaliação do risco de resistência a fungicidas é a influência das cultivares utilizadas. Sub-populações resistentes selecionadas por um fungicida, tem sua adaptação e predominância facilitada se realizados cultivos contínuos de um mesmo material genético. Caso contrário, a população do fungo passa por uma dupla seleção: para resistência e

para virulência. O uso de várias cultivares, ou a utilização alternada de materiais com genes diferentes para resistência à doença, dificultará a adaptação das linhagens resistentes a fungicidas.

O ciclo de vida de um patógeno é importante fator epidemiológico a contribuir para o risco de resistência, pois quanto menor o tempo de cada geração, normalmente, mais freqüente será a exposição ao fungicida. Quanto maior o número de descendentes e disseminação de um patógeno, maior o número de esporos liberados na cultura e maiores as chances de mutação e seleção. Também a localização do patógeno no dossel influencia na seleção de linhagens resistentes, pois fungos que se encontram em partes de plantas não atingidas pelo fungicida, sofrerão menor pressão de seleção, podendo sobreviver sub-populações sensíveis para competir com a resistente (GHINI & KIMATI, 2000).

A pressão de seleção exercida pelo fungicida também é um fator de risco para ocorrência da resistência e está associada, principalmente, ao seu mecanismo de ação, dose, número de aplicações, persistência na planta ou no solo (GHINI & KIMATI, 2000).

A dose do fungicida exerce efeito diferenciado conforme o tipo de resistência envolvida. Na resistência qualitativa, a seleção para a resistência é favorecida pelo uso de doses elevadas, as quais eliminam a maior parte da população sensível, permitindo que os naturalmente menos sensíveis predominem. Doses baixas retardam o desenvolvimento da resistência oligogênica (GHINI et al., 1994). Na resistência quantitativa o uso contínuo de sub-doses permite selecionar

indivíduos menos sensíveis, resultando resistência gradual ao fungicida (BRENT, 1995). Brent & Hollomon (2007) relatam que a velocidade de desenvolvimento da resistência quantitativa é maior com o uso de doses intermediárias às aquelas recomendadas pelos fabricantes.

O risco de resistência é proporcional ao número de aplicações de fungicida ao longo do período de ocorrência da doença. Tratamentos sucessivos não permitem que a sub-população sensível se recomponha, facilitando a seleção dos indivíduos resistentes (FORCELINI et al., 2001).

#### **2.1.8.2.2 Redução da sensibilidade aos IQE (Inibidores da Quinona Externa)**

As mutações para este tipo de fungicida (estrobilurinas) se dão no gene do citocromo b, presente na mitocôndria, e não no núcleo da célula. Este é o primeiro caso onde o sítio de ação do fungicida é codificado por um gene extra nuclear. Provavelmente, esta seja uma resistência de múltiplos passos e o aumento será gradativo dependendo do número de mitocôndrias com esta mutação (GHINI & KIMATI, 2000). Também um gene nuclear foi relatado por Ziogas (1997), aumentando a produção alternativa de oxidase e conferindo redução da sensibilidade às estrobilurinas.

### **2.1.8.2.3 Redução da sensibilidade aos DMI (Inibidores da Desmetilação)**

A redução da sensibilidade aos fungicidas triazóis é poligênica, havendo presença de vários genes com efeito aditivo. São poucos os estudos genéticos que confirmam esta aditividade, entretanto, a distribuição da alteração da sensibilidade indica que seja mesmo poligênica. A mudança é lenta e gradual e com o passar dos anos pelo monitoramento é possível verificar a redução gradativa da sensibilidade (GHINI & KIMATI, 2000).

### **2.1.8.2.4 Fatores determinantes da redução da sensibilidade**

A adoção das medidas deve ser tomada antecipadamente a ocorrência do problema e preservar a eficiência do fungicida ao longo dos anos. Sua aplicação começa ainda na fase de desenvolvimento do produto e seu alcance é proporcional ao nível de integração e adoção das estratégias pelos produtores, técnicos e fabricantes dos produtos (GHINI & KIMATI, 2000).

As principais estratégias se relacionam à forma como os fungicidas são utilizados, conforme descrito por Forcelini et al. (2001). Deve ser evitado o uso isolado de fungicidas com ação específica. Recomenda-se, então, a utilização de misturas com produtos que atuem em processos metabólicos diferentes. A redução no número de aplicações por cultivo também reduz a pressão de

seleção sobre o patógeno e conseqüente risco e a dose do fungicida aplicada deve ser a recomendada pelo fabricante.

Outro aspecto importante é o monitoramento da resistência. A detecção e avaliação de alterações da sensibilidade que estejam ocorrendo na população de um patógeno podem ser feitas comparando-se a sensibilidade de isolados que foram expostos ao fungicida em relação a outros não submetidos ao tratamento. Para isso é necessário conhecer a variabilidade inicial do patógeno quanto a sensibilidade ao novo fungicida, a qual pode apontar a ocorrência de isolados menos sensíveis que podem originar problemas futuros com resistência (FORCELINI et al., 2001).

## CAPÍTULO 1

### **SENSIBILIDADE *in vivo* DE *Puccinia triticina* A FUNGICIDAS TRIAZÓIS E ESTROBILURINAS APLICADOS PREVENTIVA E CURATIVAMENTE**

**VÂNIA BIANCHIN<sup>1</sup>, ERLEI MELO REIS<sup>2</sup>, AMARILIS LABES BARCELLOS<sup>3</sup> E CAMILA TURRA<sup>4</sup>**

**RESUMO** \_ Em 2007 foi relatada, no Brasil, a redução da sensibilidade das raças MDP-MR, MDT-MR, MDK-MR e MFH-HT de *Puccinia triticina* a fungicidas. Com o objetivo de avaliar se as novas raças identificadas em 2008 e 2009 permanecem com a sensibilidade reduzida e, a proporção desta alteração, foram conduzidos experimentos em câmaras climatizadas (19°C +/- 1°C e fotoperíodo de 12 horas). Foram testadas três novas raças identificadas em 2008, TDP-MR, TDP-HR e TPT-HT, uma em 2009, M(F)DP-MT(R) 4002S e uma raça identificada pela primeira vez em 2003, SNJ-RR, além da raça padrão sensível MCG-MN. Determinou-se a CI<sub>50</sub> dos fungicidas triazóis (IDMs), ciproconazol, protioconazol e

---

<sup>1</sup>Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>., doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), Área de Concentração em Fitopatologia.

<sup>2</sup>Orientador, Eng.-Agr., Ph.D. em Fitopatologia, professor do PPGAgro e FAMV da UPF.

<sup>3</sup>Co-orientadora, Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>, Doutora em Genética e Biologia Molecular, pesquisadora, OR Melhoramento de Sementes Ltda.

<sup>4</sup>Bióloga, OR Melhoramento de Sementes Ltda.

tebuconazol e das estrobilurinas (IQEs), azoxistrobina e piraclostrobina. As concentrações utilizadas em  $\text{mg.L}^{-1}$  para os IDMs foram de 0; 0,02; 0,2; 2; 20; 50 e 100 e para os IQEs de 0; 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10 e 100  $\text{mg.L}^{-1}$ . As aplicações dos fungicidas foram preventivas, 24 horas antes da inoculação das plântulas com uredosporos de cada raça e curativas, 48 horas após. Os efeitos dos tratamentos foram avaliados através da quantificação do número de urédias. $\text{cm}^{-2}$  tomadas na porção da folha com maior severidade e com as urédias distribuídas uniformemente. As raças SNJ-RR e MCG-MN apresentaram maior sensibilidade aos fungicidas triazóis e estrobilurinas e as raças TDP-HR e M(F)DP-MT(R) mostraram as maiores reduções na sensibilidade para os fungicidas tebuconazol e ciproconazol.

**Palavras-chave:** Ferrugem da folha, *Triticum aestivum*, redução da sensibilidade.

***In vivo* SENSITIVITY OF *Puccinia triticina* TO TRIAZOLE AND STROBILURIN FUNGICIDES APPLIED PREVENTIVE AND CURATIVELY**

**VÂNIA BIANCHIN, ERLEI MELO REIS, AMARILIS LABES  
BARCELLOS E CAMILA TURRA**

**ABSTRACT** – In 2007 growing season was reported by the first time in Brazil, the sensitivity reduction of MDP-MR, MR-MDT, MDK-MR-

HT and HMF races of *Puccinia triticina* to fungicides. Aiming to evaluate whether the new races identified in 2008 and 2009 remain with the sensitivity reduced, experiments were conducted in growth chambers under semi-controlled conditions. Three new races identified in 2008, TDP-MR, HR and TDP-TPT-HT, one in 2009, M (F) MT-DP (R) 4002S and a race first identified in 2003 SNJ-RR and race MCG-MN, taken as race-sensitive standard. It was determined the inhibitory concentration of triazole fungicides (IDMs) tebuconazole cyproconazole and strobilurins (IQEs), azoxystrobin and pyraclostrobin. The concentrations used in  $\text{mg.L}^{-1}$  for the IDMs were 0, 0.02, 0.2, 2, 20, 50 and 100 and for the IQEs 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1; 10 and 100  $\text{mg.L}^{-1}$ . Fungicides were preventively applied 24 hours before inoculation with uredospores of each race and curative, 48 hours after inoculation. Treatment effects were assessed by quantifying the number of uredia in  $\text{cm}^{-2}$  taken in the leaf blade site with greater severity and evenly distributed pustules. Races SNJ-RR and MCG-MN showed greater sensitivity to strobilurin and triazole fungicides and races TDP-HR and M (F) MT-DP (R) showed the greatest reduction in sensitivity to the fungicides tebuconazole and cyproconazole.

**Keywords:** leaf rust, *Triticum aestivum*, sensitivity reduction.

## 1 INTRODUÇÃO

Como as cultivares de trigo *Triticum aestivum* L. lançadas no mercado, normalmente, têm resistência pouco durável a *Puccinia triticina* Eriks., a utilização de fungicidas no seu controle é de fundamental importância na manutenção da produtividade do trigo.

Dois grupos de fungicidas são utilizados no controle de doenças de parte aérea do trigo, os triazóis e as estrobilurinas (INFORMAÇÕES..., 2010). A gama limitada de mecanismos de ação aumenta os riscos de redução da sensibilidade do fungo, uma vez que a mesma pressão de seleção é repetida ano após ano (DELP, 1988).

Após a segunda guerra mundial, iniciou o desenvolvimento de fungicidas penetrantes dos tecidos das plantas com algum movimento via xilema, protegendo locais não atingidos na deposição e também, controlando os fungos após a infecção. Estes fungicidas apresentaram maior especificidade em relação aos fungos e, em consequência, maior eficiência, mas isso também foi a causa da maior vulnerabilidade (KIMATI, 1987). As mudanças genéticas nos patógenos, que resultam em menor sensibilidade, ocorrem com maior facilidade com compostos que atuam primeiramente em um ou poucos processos do metabolismo celular (DELP, 1988).

Por isso, até a década de 70, com predominância de produtos de amplo espectro de controle (mecanismos menos específicos), os casos de redução na sensibilidade se limitaram a menos de 10 gêneros de fungos. Em contrapartida, em 1988, pelo intenso uso dos

novos fungicidas penetrantes, cerca de 60 gêneros de espécies fitopatogênicas já tinham sido relatados (DELP, 1988).

A alteração na sensibilidade ocorre devido a capacidade de adaptação que estes organismos possuem. Albrecht Von Haller em uma carta enviada a Carolus Linnaeus por volta de 1745 se referiu aos fungos como “uma tribo mutável e ardilosa”. Valendo-se da alta produção de propágulos (alta população e muitas gerações por cultivo) a ocorrência de mutação é grande em *P. triticina*. Dentre estes eventos, assim como para a patogenicidade, surgem indivíduos capazes de “driblar” os mecanismos de ação dos fungicidas. O uso contínuo do mesmo ingrediente ativo seleciona o indivíduo mutante, que passa a se multiplicar e se tornar predominante na população (GUINI & KIMATI, 2000).

Os fungicidas triazóis lançados no mercado em 1970 apresentaram em testes de laboratórios menor probabilidade de redução da sensibilidade em fungos. Dois anos depois do uso de triadimefom no controle de *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* Em. Marchal. foi relatada, na Inglaterra, a redução de sensibilidade, mostrando a vulnerabilidade também deste grupo químico (BRENT, 1995).

Recentemente no Brasil, foi relatada a redução da sensibilidade do fungo *P. triticina* aos triazóis (ARDUIM et al., 2009).

Este trabalho teve por objetivo avaliar se as novas raças de *P. triticina* que surgiram nos anos de 2008 e 2009 (TDP-MR, TDP-HR e TPT-HT e M(F)DP-MT(R) 4002S) permaneceram com a

sensibilidade reduzida aos fungicidas triazóis e se continuam sensíveis em relação as estrobilurinas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido nas dependências da OR Melhoramento de Sementes Ltda e no Laboratório de Fitopatologia - Micologia da Universidade de Passo Fundo – UPF, em Passo Fundo – RS, no período de abril de 2010 a janeiro de 2011.

Para a identificação das novas raças ocorrentes foram coletadas folhas de trigo com ferrugem da folha nas principais regiões tritícolas do Brasil. As amostras foram acondicionadas em envelopes de papel encerado e encaminhadas ao laboratório de ferrugens da OR Melhoramento de sementes Ltda.

As raças foram identificadas utilizando a metodologia descrita por McIntosh et al. (1995), caracterizadas conforme o sistema de nomenclatura norte-americano (LONG & KOLMER, 1989) e o nacional correspondente, pela avirulência/virulência a 19 genes denominados *Lr* (Leaf rust): *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3*, *Lr3ka*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr18*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr23*, *Lr24*, *Lr26* e *Lr30* inseridos individualmente na cultivar Thatcher.

A sensibilidade das novas raças ocorrentes nas regiões tritícolas brasileiras (2008 e 2009) foi comparada a uma raça mais antiga [B34 - MCG-MN (descrita pela primeira vez em 1989)], que em trabalhos anteriores (ARDUIM, et al., 2009) comportou-se como sensível aos fungicidas triazóis e estrobilurinas.

Nos testes conduzidos *in vivo* (em câmaras climatizadas - 19°C +/- 1°C e fotoperíodo de 12 horas) utilizaram-se as cultivares de trigo Ônix e Abalone, Fundacep Nova Era e BRS 220 de domínio genético da OR – Melhoramento de Sementes, Fundacep e Embrapa, respectivamente, conforme a virulência da raça em teste. As plântulas (cinco por vaso) foram cultivadas em recipientes de 300mL de capacidade contendo substrato (solo) corrigido conforme recomendação para a cultura (INFORMAÇÕES..., 2008).

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro repetições. Para maior confiabilidade cada ensaio foi conduzido duas vezes.

A metodologia descrita em FRAC (1991 e 1992) para fungos biotróficos foi a utilizada para a quantificação da sensibilidade. A ferramenta utilizada foi a  $CI_{50}$  (Concentração inibitória de 50% do número de urédias) determinada *in vivo*.

Foram testados três fungicidas IDM (Inibidores da desmetilação), protioconazol, ciproconazol e tebuconazol nas concentrações de ingrediente ativo em  $mg.L^{-1}$  de 0; 0,02; 0,2; 2; 20; 50 e 100 e duas estrobilurinas (Inibidores da quinona externa, IQE), piraclostrobin e azoxistrobin nas concentrações de ingrediente ativo em  $mg.L^{-1}$  de 0; 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10; 100 aplicados preventiva (24 horas antes da inoculação) e curativamente (48 horas depois da inoculação) sobre as folhas das plântulas de trigo (HEWITT, 1998).

Tabela 1: Fungicidas, nome comercial do produto, formulação e concentrações dos fungicidas utilizados

Fungicidas	Nome comercial	Formulação	Concentração g/L
Azoxistrobina	Priori	SC	250
Ciproconazol	Alto 100	SC	100
Piraclostrobina	Comet	CE	250
Protioconazol	Proline	CE	250
Tebuconazol	Folicur	CE	200

Para a aplicação dos fungicidas, foram utilizados pulverizadores manuais (tipo borrifador), um para cada dose e para cada fungicida.

Quatorze dias após a semeadura, estágio 12 (duas folhas expandidas) (ZADOKS et al., 1974) foi realizada a inoculação dos uredosporos de *P. tritricina* em suspensão com óleo mineral Soltrol, aspergidos com atomizador acoplado a ar comprimido. Após, pulverizou-se água com Tween 20 (Polioxietilenosorbitano monolaurato – Synth, 4 gotas por litro) até o ponto anterior ao escorrimento.

Na incubação, as plantas foram mantidas por 48 horas em câmara úmida, sendo as primeiras 24 horas na ausência de luz. Cada bandeja contendo 24 vasos com plantas inoculadas foi envolta por saco plástico a fim de propiciar umidade relativa de 100%.

As avaliações foram realizadas aos 12 dias após a inoculação, quando as urédias estavam rompidas. As avaliações foram realizadas através da determinação da densidade de urédias.

Cada unidade experimental constou de dez círculos delimitando o local de contagem. A área delimitada pelo círculo

(dois por folha) foi de 0,7 cm<sup>2</sup>, tomada na porção da folha com maior severidade e com as urédias distribuídas uniformemente. A contagem foi realizada sob microscópio estereoscópico com aumento de 40 vezes. O delineamento foi em blocos ao acaso com quatro repetições.

Para a determinação da CI<sub>50</sub> foi utilizado o software R. Os dados foram submetidos ao modelo de Weibull equação quatro ( $y = d \exp\{-\exp [b(\log x - e)]\}$ ), descrito por Knezevic et al. (2007).

A alteração da sensibilidade foi calculada com o fator de redução da sensibilidade (FRS) baseado na média dos experimentos 1 e 2 da raça MCG-MN. O  $FRS = CI_{50}$  da raça suspeita/ $CI_{50}$  da raça sensível (MCG-MN). Quando não ocorre alteração na sensibilidade, o valor do FRS é 1 e havendo e se  $> 1$  ocorre redução da sensibilidade com diferentes magnitudes (RUSSEL, s.d.).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ano de 2008 três raças novas foram identificadas, TDP-MR, TDP-HR e TPT-HT e no ano de 2009 uma nova raça M(F)DP-MT(R) 4002S, provavelmente uma variante da raça B58 (M(F)DP-MT(R)). As quatro raças foram testadas quanto à sensibilidade aos fungicidas descritos na metodologia. Além destas raças (novas), a raça SNJ-RR, identificada pela primeira vez no ano de 2003 foi incluída nos testes por ter o código distinto das demais.

Para se afirmar que um fungo sofreu redução da sensibilidade a um fungicida é necessário que se compare ao efeito do fungicida com um isolado ou raça, no caso de *P. triticina*, sensível (BRENT,

1995). Para tanto, utilizou-se a raça MCG-MN (B34) como padrão de sensibilidade, identificada pela primeira vez em 1989 e utilizada por Arduim et al. (2009).

A raça mais sensível dentre as testadas, incluindo a MCG-MN (padrão de sensibilidade) foi a raça SNJ-RR, para todos os fungicidas tanto triazóis como estrobilurinas em aplicações curativas ou preventivas (Tabelas 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11). Os dados foram comprovados com a repetição do experimento. A sensibilidade da raça SNJ-RR foi de tal magnitude que as concentrações utilizadas não permitiram calcular a  $CI_{50}$ . Para que seja possível o cálculo, neste caso, devem-se fazer os testes com concentrações ainda mais baixas. O resultado obtido prova que a variabilidade existente para este fungo vai além da especialização das raças em relação ao hospedeiro.

A raça TDP-MR também não apresentou alteração significativa na sensibilidade, sendo 4,75 o maior valor da  $CI_{50}$  em aplicação curativa do fungicida ciproconazol no experimento 1 (Tabela 5) e 7,88 para o fungicida piraclostrobina, aplicação preventiva no experimento 1 (Tabela 8). Ambos os resultados não foram confirmados pelo experimento 2.

A sensibilidade referente à raça TPT-HT apresentou valores superiores ao das raças consideradas sensíveis para os fungicidas tebuconazol (preventivo e curativo) e protioconazol (preventivo). Neste caso, houve uma redução da sensibilidade. Os IDMs têm por característica o desenvolvimento lento e gradual da alteração da

sensibilidade por ser do tipo poligênico ou resistência quantitativa (BRENT, 1995).

A redução da sensibilidade do fungo aos fungicidas IDMs pode ser revertida a uma condição de maior sensibilidade do fungo quando estes fungicidas são utilizados menos intensivamente e/ou quando fungicidas alternativos são usados no controle da doença (BRENT, 1995).

Arduim et al. (2009) verificaram redução na sensibilidade a cinco triazóis, aplicados preventivamente, para as raças MDK-MR (B55 4002S), MDT-MR (B55) e MDP-MR (B58) e uma redução menor na sensibilidade para a raça MFH-HT (raça identificada em 2007). Note-se que as três primeiras são semelhantes quanto ao código, enquanto que a última não.

As raças TDP-HR e M(F)DP-MT(R) (B58 4002S) apresentaram valores de  $CI_{50}$  altos para o fungicida tebuconazol em aplicação preventiva no experimento 1, 55,7 e 117,7, respectivamente e, no experimento 2 valores de 27,3 e 51,4, respectivamente (Tabela 2). Para aplicações curativas do mesmo fungicida os valores de  $CI_{50}$  foram mais baixos, entretanto alterados em relação ao padrão de sensibilidade (Tabela 3). As mesmas raças para o fungicida ciproconazol apresentaram alterações menores (Tabelas 4 e 5) e para o fungicida protioconazol, testado em um único experimento para a raça M(F)DP-MT(R), o valor foi 22,6 quando aplicado preventivamente (Tabela 6).

Valores considerados altos de  $CI_{50}$  foram encontrados para a raça MCG-MN (padrão sensível) para o fungicida protioconazol em

aplicações preventivas, sendo os valores mais altos encontrados para esta raça dentre todos os fungicidas.

Como esperado, para as estrobilurinas os valores de  $CI_{50}$  foram baixos, tendo sido consideradas sensíveis todas as raças testadas (Tabelas 8, 9, 10 e 11), com exceção da raça TDP-MR no experimento 1 com o fungicida piraclostrobina em aplicações preventivas, que apresentou o valor de 7,88. Entretanto, este valor não foi confirmado no experimento 2 (Tabela 8).

Tabela 2: Valores estimados da  $CI_{50}$  do fungicida tebuconazol em aplicações preventivas para diferentes raças de *Puccinia triticina*

Raças	Experimento 1		Experimento 2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
MCG-MN	0,0018	0,0024	0,0191	0,0219
SNJ-RR	0,0592	0,0466	0,0000	0,0000
TDP-MR	0,0341	0,0474	0,07248	0,0895
TDP-HR	55,7530	8,5617	27,3190	1,8422
TPT-HT	3,7832	2,9222	4,0482	0,0557
M(F)DP-MT(R)	117,7100	92,4720	51,3840	11,7620

Tabela 3: Valores estimados da  $CI_{50}$  do fungicida tebuconazol em aplicações curativas para diferentes raças de *Puccinia triticina*

Raças	Experimento 1		Experimento 2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
MCG-MN	0.0168	0.0153	0,0328	0,0227
SNJ-RR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
TDP-MR	1,4665	0,9075	1,0169	0,5596
TDP-HR	7,2747	6,1612	2,9738	1,6580
TPT-HT	2,0978	1,0705	3,6320	0,2792
M(F)DP-MT(R)	12,5810	4,3374	0,1803	0,0845

Tabela 4: Valores estimados da CI<sub>50</sub> do fungicida ciproconazol em aplicações preventivas para diferentes raças de *Puccinia triticina*

Raças	Experimento 1		Experimento 2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
MCG-MN	2,7645	1,6879	0,0005	0,0009
SNJ-RR	0,0349	0,0537	0,0000	0,0000
TDP-MR	0,0542	0,0492	0,9925	0,8643
TDP-HR	28,0070	8,3143	1,3525	1,3531
TPT-HT	0,0167	0,0314	0,0195	0,0300
M(F)DP-MT(R)	4,2937	8,4476	7,1454	4,8119

Tabela 5: Valores estimados da CI<sub>50</sub> do fungicida ciproconazol em aplicações curativas para diferentes raças de *Puccinia triticina*

Raças	Experimento 1		Experimento 2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
MCG-MN	0,0171	0,0138	0,0008	0,0015
SNJ-RR	0,0012	0,0021	0,0000	0,0000
TDP-MR	4,7490	1,8478	0,6266	0,5277
TDP-HR	2,1281	0,4680	0,4202	0,2230
TPT-HT	0,0577	0,0309	0,1372	0,0653
M(F)DP-MT(R)	0,9619	0,6420	2,4634	0,8016

Tabela 6: Valores estimados da CI<sub>50</sub> do fungicida protioconazol em aplicações preventivas para diferentes raças de *Puccinia triticina*

Raças	Experimento 1		Experimento 2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
MCG-MN	1,3061	0,6230	14,744	13,851
SNJ-RR	0,0077	0,0038	0,0000	0,0000
TDP-MR	-	-	0,2496	0,2885
TPT-HT	6,1157	1,0460	1,57419	0,3747
M(F)DP-MT(R)	-	-	22,635	7,3692

(-) não testado

Tabela 7: Valores estimados da  $CI_{50}$  do fungicida protioconazol em aplicações curativas para diferentes raças de *Puccinia triticina*

Raças	Experimento 1		Experimento 2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
MCG-MN	0,8200	0,5700	0,0594	0,0474
SNJ-RR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
TDP-MR	-	-	1,3819	0,7222
TPT-HT	0,0107	0,0107	0,0035	0,0032
M(F)DP- MT(R)	-	-	0,4934	0,1928

(-) não testado

Tabela 8: Valores estimados da  $CI_{50}$  do fungicida piraclostrobina em aplicações preventivas para diferentes raças de *Puccinia triticina*

Raças	Experimento 1		Experimento 2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
MCG-MN	0,0830	0,0214	0,0005	0,0009
SNJ-RR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
TDP-MR	7,8852	4,0237	0,0004	0,0005
TDP-HR	2,2804	1,3887	0,0017	0,0019
TPT-HT	0,1017	0,0473	0,0059	0,0046
M(F)DP- MT(R)	0,7608	0,5888	1,9027	0,4045

Tabela 9: Valores estimados da  $CI_{50}$  do fungicida piraclostrobina em aplicações curativas para diferentes raças de *Puccinia triticina*

Raças	Experimento 1		Experimento 2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
MCG-MN	2,5527	6,3609	0,0032	0,0026
SNJ-RR	0,0134	0,0160	0,0000	0,0000
TDP-MR	0,1431	0,1814	0,1083	0,1567
TDP-HR	0,3895	0,3693	0,0434	0,0146
TPT-HT	0,0504	0,6911	0,0212	0,0148
M(F)DP- MT(R)	0,9317	0,3336	0,1288	0,0907

Tabela 10: Valores estimados da  $CI_{50}$  do fungicida azoxistrobina em aplicações preventivas para diferentes raças de *Puccinia triticina*

Raças	Experimento 1		Experimento 2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
MCG-MN	0,7206	0,9165	0,0997	0,0490
SNJ-RR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
TDP-MR	0,0036	0,0036	0,0001	0,0023
TDP-HR	0,3746	0,2277	0,0005	0,0004
TPT-HT	0,0493	0,0160	0,0020	0,0010
M(F)DP-MT(R)	0,4319	0,2679	0,0154	0,7032

Tabela 11: Valores estimados da  $CI_{50}$  do fungicida azoxistrobina em aplicações curativas para diferentes raças de *Puccinia triticina*

Raças	Experimento 1		Experimento 2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
MCG-MN	0,0646	0,0387	0,0101	0,0060
SNJ-RR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
TDP-MR	0,0692	0,1019	0,1133	0,0630
TDP-HR	0,1027	0,0164	0,3023	0,2341
TPT-HT	0,0809	0,0658	0,0002	0,0001
M(F)DP-MT(R)	0,2797	0,0967	0,0788	0,0395

O fator de redução da sensibilidade (FRS) é útil para comparar as raças suspeitas de redução na sensibilidade com uma raça ou isolado considerado sensível (RUSSEL, s.d.). Na bibliografia consultada não foi encontrado reflexo do FRS na eficiência do controle a campo.

Para os valores de FRS encontrados, merecem destaque o das raças TDP-HR e M(F)DP-MT(R) (B58 4002S) em relação ao fungicida tebuconazol especialmente quando aplicado preventivamente. Para estas raças também foram encontradas

reduções na sensibilidade para ciproconazol aplicado curativamente e para piraclostrobina aplicado preventivamente (Tabelas 12 e 13).

Para a raça TDP-MR encontrou-se FRS de 299 nos testes com o fungicida ciproconazol em aplicações curativas e valores alterados, porém mais baixos para os fungicidas tebuconazol (preventiva e curativamente) e piraclostrobina (preventivo). Para a raça TPT-HT encontrou-se redução para o fungicida tebuconazol (Tabelas 12, 13 e 14).

Quando em comparação com os estudos realizados por Arduim et al. (2009) os valores de FRS encontrados, em alguns casos, foram superiores. Em uma análise mais criteriosa, constata-se que os valores de  $CI_{50}$  para a raça MCG-MN (padrão sensível) encontrados no presente trabalho, em geral, foram menores, o que teve reflexo em elevar o valor de FRS. Salienta-se ainda que os valores de FRS para o fungicida protioconazol podem estar “mascarados” uma vez que a raça padrão sensível apresentou elevada  $CI_{50}$  para o referido fungicida.

Tabela 12: Fator de redução da sensibilidade (FRS) de raças de *Puccinia triticina* aos fungicidas tebuconazol e ciproconazol em aplicações preventivas e curativas

Raças	Tebuconazol		Ciproconazol	
	Preventivo	Curativo	Preventivo	Curativo
MCG-MN	1,00	1,00	1,00	1,00
SNJ-RR	2,84	0,00	0,01	0,07
TDP-MR	5,11	49,95	0,38	299,41
TDP-HR	3978,79	206,12	10,62	141,94
TPT-HT	375,09	49,50	0,01	10,86
M(F)DP-MT(R)	8098,88	256,66	4,14	190,79

Tabela 13: Fator de redução da sensibilidade (FRS) de raças de *Puccinia triticina* aos fungicidas protioconazol e piraclostrobina em aplicações preventivas e curativas

Raças	Protioconazol		Piraclostrobina	
	Preventivo	Curativo	Preventivo	Curativo
MCG-MN	1,00	1,00	1,00	1,00
SNJ-RR	0,00	0,00	0,00	0,01
TDP-MR	0,03	3,14	94,25	0,10
TDP-HR	-	-	27,28	0,17
TPT-HT	0,10	0,02	1,29	0,03
M(F)DP-MT(R)	2,82	1,12	31,83	0,41

Tabela 14: Fator de redução da sensibilidade (FRS) de raças de *Puccinia triticina* ao fungicida azoxistrobina em aplicações preventivas e curativas

Raças	Azoxistrobina	
	Preventivo	Curativo
MCG-MN	1,00	1,00
SNJ-RR	0,00	0,00
TDP-MR	0,00	2,44
TDP-HR	0,46	5,42
TPT-HT	0,06	1,09
M(F)DP-MT(R)	0,55	4,80

#### 4 CONCLUSÕES

A raça SNJ-RR é a mais sensível aos fungicidas (tebuconazol, ciproconazol, protioconazol, piraclostrobina e azoxistrobina) comparada as raças de *Puccinia triticina* utilizadas nos testes de sensibilidade. As raças TDP-HR e M(F)DP-MT(R) identificadas em 2008 e 2009, respectivamente, apresentaram redução da sensibilidade ao fungicida tebuconazol.

As raças novas identificadas nos anos 2008 e 2009 são sensíveis aos fungicidas IQEs.

**CAPÍTULO 2**  
**SENSIBILIDADE DE *Puccinia triticina* A FUNGICIDAS AO**  
**LONGO DO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO**

**VÂNIA BIANCHIN<sup>1</sup>, ERLEI MELO REIS<sup>2</sup>, AMARILIS LABES**  
**BARCELLOS<sup>3</sup> E CAMILA TURRA<sup>4</sup>**

**RESUMO** - Os grupos de fungicidas utilizados no controle das doenças em trigo são os triazóis e as estrobilurinas, porém o intenso uso dos triazóis por longo período resultou na redução da sensibilidade de algumas raças de *Puccinia triticina*. Com o monitoramento da sensibilidade do fungo ao longo do desenvolvimento do trigo objetivou-se verificar se a sensibilidade de uma mesma raça é alterada durante o ciclo de uma mesma cultivar. Foram realizadas quatro coletas do patógeno em diferentes estádios fenológicos em duas cultivares, Ônix e Fundacep Nova Era. Foram identificadas as raças ocorrentes em cada amostra e verificada a sensibilidade (CI<sub>50</sub>) *in vivo* do fungo ao fungicida tebuconazol (concentrações em mg.L<sup>-1</sup> de 0; 0,02; 0,2; 2; 20; 50 e 100) e azoxistrobina (concentrações em mg.L<sup>-1</sup> de 0; 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10 e 100 mg.L<sup>-1</sup>). As aplicações dos

---

<sup>1</sup>Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>., doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), Área de Concentração em Fitopatologia.

<sup>2</sup>Orientador, Eng.-Agr., Ph.D. em Fitopatologia, professor do PPGAgro e FAMV da UPF.

<sup>3</sup>Co-orientadora, Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>, Doutora em Genética e Biologia Molecular, pesquisadora, OR Melhoramento de Sementes Ltda.

<sup>4</sup>Bióloga, OR Melhoramento de Sementes Ltda.

fungicidas foram realizadas preventivamente, 24 horas antes da inoculação das plântulas com uredosporos. Os efeitos dos tratamentos foram avaliados através da quantificação do número de urédias.cm<sup>-2</sup> tomadas na porção da folha com maior severidade e com as urédias distribuídas uniformemente. Foi possível verificar que uma cultivar suscetível a várias raças pode apresentar raças distintas em diferentes estádios de seu desenvolvimento e, quando a mesma raça, pouco sensível ao fungicida tebuconazol (B55 4002S em Ônix) prevaleceu em todo o ciclo da planta, houve a redução de sua sensibilidade ao longo do ciclo da planta.

**Palavras-chave:** Ferrugem da folha, *Triticum aestivum*, triazol, estrobilurina.

## **SENSITIVITY OF *Puccinia triticina* TO FUNGICIDES DURING WHEAT CROP DEVELOPMENT**

**VÂNIA BIANCHIN, ERLEI MELO REIS, AMARILIS LABES BARCELLOS E CAMILA TURRA**

**ABSTRACT** – The groups of fungicides used to control diseases in wheat are the triazole and strobilurin. The intense use of triazoles for long time resulted in reduced the sensitivity to some races of *Puccinia triticina*. By monitoring sensitivity of the fungus throughout the development cycle of wheat was tried to verify if the sensitivity of a same race can shift during a growing season of a given cultivar. Four

samples were taken of the pathogen at different growth stages of two wheat cultivars Ônyx and Nova Era. Races were identified in each sample as well the sensitivity ( $IC_{50}$ ) of the fungus to the fungicide tebuconazole (at concentrations of 0; 0.02, 0.2, 2, 20, 50 and 100  $mg.L^{-1}$ ) and azoxystrobin (at concentrations of 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 and 100  $mg.L^{-1}$ ) determined. Fungicide were preventively applied 24 hours before seedling inoculation with uredospores. Treatment effects were assessed by quantifying the number of uredia in  $cm^{-2}$  taken in the leaf blade with greater severity and evenly. Wheat cultivars used in this study can be attacked by pathogen different races in different development stages. Shift in sensitivity of a same race was not found along the wheat cycle.

**Keywords:** leaf rust, *Triticum aestivum*, triazole, strobilurin.

## 1 INTRODUÇÃO

Na natureza existe um equilíbrio entre patógeno e hospedeiro, convivendo e compartilhando das mesmas condições ambientais. A agricultura intensiva e de alta uniformidade genética de plantas representa um rompimento deste equilíbrio entre planta, patógeno e ambiente.

Se em uma área expressiva for plantada com uma cultivar de trigo resistente a uma raça predominante de *Puccinia triticina* Eriks., resulta na redução da população desta raça, entretanto, com o passar de alguns anos, a patogenicidade aumenta ao surgirem novas raças fisiologicamente especializadas a nova cultivar. Para que isso ocorra há de se admitir que exista uma alta variabilidade genética na população do patógeno (AGRIOS, 2005).

Para se ter idéia da variabilidade e das chances de mutação, tomou-se como referência os dados de Roelfs et al. (1992), que possibilitaram algumas inferências sobre a população de *P. triticina*; supondo que em uma lavoura de trigo a densidade de plantas seja de 300 plantas.m<sup>-2</sup>, portanto, 3.000.000 plantas.ha<sup>-1</sup>, que cada planta tenha sido infectada por um esporo, no mesmo momento, e que tenha originado uma urédia. Considerando o período latente (infecção até início da esporulação) de 10 dias, e que cada pústula produza 3.000 esporos por dia, então 9 bilhões (9.000.000.000) de esporos são produzidos por hectare por dia.

Se os indivíduos com alguma mutação ocorrem a cada milhão de novos indivíduos, então por dia são produzidos 9.000 esporos

com algum evento de mutação, no final de 11 dias, quando iniciará a produção de esporos do ciclo secundário, terão sido produzidos em um hectare de trigo aproximadamente 100.000 esporos com algum evento de mutação.

A grande maioria destas mutações será deletéria, ou por algum motivo não deixarão descendentes ou ainda a característica modificada não influenciará em nada. Contudo, fica claro que as chances de ocorrer mutações em relação à virulência e a sensibilidade a fungicidas são grandes e isso explica porque as cultivares com resistência específica duram poucos anos e porque foram relatados casos de redução da sensibilidade aos triazóis (ARDUIM, et al. 2009).

O monitoramento de raças de *P. triticina* e da sensibilidade ao longo do desenvolvimento de um ciclo do trigo teve por objetivo verificar se a sensibilidade de uma raça poderia ser alterada na mesma safra em uma mesma cultivar.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido nas dependências da OR Melhoramento de Sementes Ltda, do Laboratório de Fitopatologia - Micologia da Universidade de Passo Fundo e campo experimental - UPF, em Passo Fundo, RS no ano de 2008.

Foram realizadas quatro coletas durante o desenvolvimento da cultura, em duas cultivares (Ônix e Fundacep Nova Era). A primeira coleta foi feita no estágio fenológico 23 (afilhamento),

segunda coleta no estádio 37 (folha bandeira recém visível), terceira coleta, estádio 68 (floração plena) e quarta coleta no estádio 87 (grão duro) (ZADOKS, 1974). As amostras foram acondicionadas em envelopes de papel encerado e encaminhadas ao laboratório de ferrugens da OR Melhoria de Sementes Ltda para a determinação da raça.

A multiplicação do inóculo foi realizada através da inoculação, em plântulas suscetíveis (cultivar Morocco), de uredosporos suspensos em óleo mineral Soltrol, através de um atomizador com pressão gerada por ar comprimido. Na seqüência, pulverizou-se água e Tween 20 (Polioxietilensorbitano monolaurato – Synth - 4 gotas por litro) até o ponto anterior ao escorrimento.

As raças foram identificadas utilizando a metodologia descrita por McIntosh et al. (1995), caracterizadas conforme o sistema de nomenclatura norte-americano (Long & Kolmer, 1989) e o nacional correspondente, pela avirulência/virulência a 19 genes denominados *Lr* (Leaf rust): *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3*, *Lr3ka*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr18*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr23*, *Lr24*, *Lr26* e *Lr30* inseridos individualmente na cultivar Thatcher.

Foi avaliada a sensibilidade a um triazol (tebuconazol) e a uma estrobilurina (azoxistrobina) em amostras da primeira e da segunda coleta na cultivar Ônix e da segunda e quarta coleta da cultivar Fundacep Nova Era (somente destas coletas foi possível produzir esporos suficientes para os testes de sensibilidade). A sensibilidade das raças obtidas, destas coletas, foi comparada a de uma raça mais antiga [B34 - MCG-MN (detectada pela primeira vez

em 1989)], que em trabalhos anteriores (ARDUIM, et al., 2009) apresentou sensibilidade aos fungicidas triazóis e estrobilurinas.

Os testes foram conduzidos *in vivo* e utilizaram-se as cultivares de trigo Ônix e Fundacep Nova Era, domínio genético da OR – Melhoramento de Sementes e da Fundacep, respectivamente, respeitando a cultivar origem das coletas. As plântulas (cinco por vaso) foram cultivadas em recipientes de 300mL de capacidade contendo substrato (solo) corrigido conforme recomendação para a cultura (INFORMAÇÕES..., 2008). O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro repetições. Para maior confiabilidade cada ensaio foi feito duas vezes.

As concentrações de ingrediente ativo, em mg.L<sup>-1</sup>, utilizadas para o tebuconazol foram de 0; 0,02; 0,2; 2; 20; 50 e 100 e para azoxistrobina 0; 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10; 100 aplicados preventiva (24 horas antes da inoculação) sobre as folhas das plantas de trigo (HEWITT, 1998).

Para a aplicação dos fungicidas, foram utilizados pulverizadores manuais (tipo borrifador), um para cada dose e para cada fungicida, de maneira a evitar contaminações.

Quatorze dias após a semeadura (duas folhas expandidas – estágio 12 (ZADOKS et al., 1974)) foi realizada a inoculação dos uredosporos de *P. triticina*, através de suspensão em óleo mineral Soltrol com inoculador adaptado a um aparelho de ar comprimido. Após, pulverizou-se água com Tween 20 (Polioxietilensorbitano monolaurato – Synth - 4 gotas por litro) até o ponto anterior ao escorrimento.

Para a incubação, as plantas foram mantidas por 48 horas em câmara úmida, as primeiras 24 horas na ausência de luz. Cada bandeja contendo 24 vasos com plantas inoculadas foi envolta por saco plástico a fim de propiciar umidade relativa de 100%. Durante todo o experimento as plantas foram mantidas a temperatura de  $19^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

As avaliações foram realizadas aos 12 dias após a inoculação, com as urédias rompidas, através da contagem do número de urédias. Cada unidade experimental constou de dez círculos que delimitaram a área de contagem, dois por folha. Cada círculo, demarcado na área de maior severidade com urédias uniformemente distribuídas, representava  $0,7\text{cm}^2$ . A contagem foi realizada sob microscópio estereoscópico com aumento de 40 vezes. O delineamento foi de blocos ao acaso com quatro repetições.

A metodologia descrita em FRAC (1991 e 1992) para fungos biotróficos foi a utilizada para a quantificação da sensibilidade. A ferramenta utilizada foi a  $\text{CI}_{50}$  (Concentração inibitória de 50% do número de urédias).

Para a determinação da  $\text{CI}_{50}$  foi utilizado o software R e os dados submetidos ao modelo de Weibull equação quatro ( $y = d \exp\{-\exp [b(\log x - e)]\}$ ), descrito por Knezevic et al. (2007).

Para avaliar a alteração da sensibilidade, calculou-se o fator de alteração da sensibilidade (FAS) baseado na média do experimento 1 e 2 da raça MCG-MN (B34). O  $\text{FAS} = \text{CI}_{50}$  da raça suspeita/ $\text{CI}_{50}$  da raça sensível (MCG-MN). Quando não ocorre

alteração na sensibilidade, o valor do FAS é 1 e havendo será  $> 1$  com diferentes magnitudes (RUSSEL, s.d.).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das quatro coletas realizadas ao longo do desenvolvimento, a coleta 4 na cultivar Ônix e a coleta 1 na cultivar Fundacep Nova Era tiveram o processo de multiplicação prejudicado não sendo possível a identificação da raça (Tabela 1). A coleta 3, em ambas as cultivares, apesar de ter produzido inóculo para identificação não produziu quantidade suficiente para seguir com os testes de sensibilidade. Contudo, fez-se os testes de sensibilidade para as coletas 1 e 2 na cultivar Ônix e coletas 2 e 4 na cultivar Fundacep Nova Era.

Tabela 1: Identificação de raças ocorrentes durante o ciclo de desenvolvimento da cultura do trigo em duas cultivares, Ônix e Fundacep Nova Era

Coletas	Cultivar Ônix	Cultivar Fundacep Nova Era
Coleta 1	M(D)(T)-(M)(R) (B55 4002S)	Não identificada
Coleta 2	M(D)(T)-(M)(R) (B55 4002S)	TDP-HR
Coleta 3	M(D)(T)-(M)(R) (B55 4002S)	MFH-HT
Coleta 4	Não identificada	M(D)(T)-(M)(R) (B55 4002S)

Entre parêntesis indica que a expressão do(s) gene(s) pode variar conforme as condições do ambiente. Conseqüentemente, haverá alteração da letra, indicando variantes de uma mesma raça.

Em todas as coletas, passíveis de identificação, na cultivar Ônix obteve-se a raça M(D)(T)-(M)(R) (B55 4002S) cuja

sensibilidade aos fungicidas também foi testada por Arduim et al. (2009).

Novos testes foram realizados com o fungicida tebuconazol, representante do grupo químico dos triazóis e com azoxistrobina, representante do grupo químico das estrobilurinas.

Corroborando com os resultados obtidos por Arduim et al. (2009), os valores da  $CI_{50}$  para o fungicida tebuconazol se mantiveram acima dos valores encontrados para a raça MCG-MN (B34) tomada como padrão sensível, tanto no experimento 1 como no experimento 2 (Tabela 2). Neste caso, a  $CI_{50}$  obtida no início de desenvolvimento da cultura até o final apresentou valores altos. Em contra partida, a  $CI_{50}$  para o fungicida azoxistrobina se manteve em valores baixos, mostrando sensibilidade (Tabela 3).

Para a cultivar Fundacep Nova Era em cada coleta foi identificada uma raça diferente (Tabela 1), isto porque, esta cultivar apresenta suscetibilidade à várias raças de *P. triticina*. Foi identificada inclusive uma raça nova na segunda coleta, a TDP-HR; na terceira coleta foi encontrada a raça MFH-HT identificada pela primeira vez em 2007 e, na última coleta, a raça B55 4002S. A raça MFH-HT (coleta 3) foi testada por Arduim et al. (2009) que detectaram redução da sensibilidade aos triazóis, porém em menor proporção que as demais raças testadas (B55 4002 S, B55 e B58).

Para as coletas 2 e 4 da cultivar Fundacep Nova Era, raças TDP-HR e M(D)(T)-(M)(R) (B55 4002S), respectivamente, também foram encontrados valores de  $CI_{50}$  maiores que na raça padrão de sensibilidade para o fungicida tebuconazol (Tabela 2).

Como esperado, em nenhum dos testes as raças apresentaram redução da sensibilidade ao fungicida azoxistrobina (Tabela 3).

Tabela 2: Valores estimados da CI<sub>50</sub> do fungicida tebuconazol em aplicações preventivas para raças de *Puccinia triticina* provenientes de distintas coletas ao longo do ciclo do trigo (cultivar Ônix e Fundacep Nova Era)

	Experimento 1		Experimento2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
Ônix				
B55 4002S (MDT-MR) coleta 1	9,0491	5,4669	4,6530	1,4937
B55 4002S (MDT-MR) coleta 2	35,5230	15,1420	25,2770	3,7714
Fundacep Nova Era				
TDP-HR coleta 2	24,3080	1,2792	10,0214	5,0216
B55 4002S (MDT-MR) coleta 4	2,4204	1,2792	1,4224	0,8345
MCG-MN	0,0181	0,0024	0,0191	0,0219

Tabela 3: Valores estimados da CI<sub>50</sub> do fungicida azoxistrobina em aplicações preventivas para raças de *Puccinia triticina* provenientes de distintas coletas ao longo do ciclo do trigo (cultivar Ônix e Fundacep Nova Era)

	Experimento 1		Experimento2	
	CI 50	Erro	CI 50	Erro
Ônix				
B55 4002S (MDT-MR) coleta 1	0,0356	0,0275	0,0996	0,0578
B55 4002S (MDT-MR) coleta 2	0,3019	0,0834	0,0735	0,0224
Fundacep Nova Era				
TDP-HR coleta 2	0,2030	0,0589	0,0553	0,0331
B55 4002S (MDT-MR) coleta 4	0,3010	0,1006	0,0052	0,0027
MCG-MN	0,7206	0,9165	0,0997	0,0490

O fator de redução da sensibilidade (FRS) é útil para comparar as raças suspeitas de redução na sensibilidade com uma raça ou isolado considerado sensível (RUSSEL, s.d.). Na bibliografia consultada não foram encontradas referências ao FRS e seus reflexos na eficiência de controle.

Para o fungicida azoxistrobina os valores de FRS permaneceram sempre menores que um, indicando alta sensibilidade. Para o fungicida tebuconazol, todos os valores de FRS foram altos indicando redução na sensibilidade das raças testadas em relação à raça padrão (MCG-MN) (Tabela 4).

Tabela 4: Fator de redução da sensibilidade (FRS) de raças de *Puccinia triticina* (distintas coletas) aos fungicidas tebuconazol e azoxistrobina em aplicações preventivas, experimento 1 e 2

	Tebuconazol		Azoxistrobina	
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 1	Experimento 2
Ônix				
B55 4002S (MDT-MR) coleta 1	486,72	250,26	0,08	1,14
B55 4002S (MDT-MR) coleta 2	1910,66	1359,56	0,73	0,10
Fundacep Nova Era				
TDP-HR coleta 2	1307,44	539,01	0,49	0,11
B55 4002S (MDT-MR) coleta 4	130,18	76,50	0,73	0,01
MCG-MN	1,00	1,00	1,00	1,00

#### **4 CONCLUSÕES**

Ocorrem diferentes raças com diferentes valores de  $CI_{50}$  ao longo de um ciclo de uma mesma cultivar, desde que esta seja suscetível àquelas raças.

Quando a mesma raça, pouco sensível ao fungicida tebuconazol (B55 4002S em Ônix), prevaleceu em todo o ciclo da planta, houve a redução de sua sensibilidade.

## CAPÍTULO 3

### EFEITO DE CONTATO DOS FUNGICIDAS TRIAZÓIS E ESTROBILURINAS NA GERMINAÇÃO DOS ESPOROS DE *Puccinia triticina*

VÂNIA BIANCHIN<sup>1</sup>, ERLEI MELO REIS<sup>2</sup>, AMARILIS LABES  
BARCELLOS<sup>3</sup> E CAMILA TURRA<sup>4</sup>

**RESUMO** – Dois grupos de fungicidas são recomendados no controle da ferrugem da folha do trigo; os triazóis (IDMs, inibidores da desmetilação) que atuam na síntese de ergosterol, principal componente da membrana plasmática da maioria dos fungos e as estrobilurinas (IQEs, inibidoras da quinona externa), que agem no processo de respiração célula, na formação de ATP. Os triazóis não têm ação de contato sobre os esporos, pois na germinação são usadas as reservas de ergosterol, já as estrobilurinas teriam ação de contato, pois agem na produção de energia e a germinação é um processo de alta demanda. Este estudo teve por objetivo avaliar a ação de contato dos fungicidas sobre esporos de *Puccinia triticina*. Os fungicidas

---

<sup>1</sup>Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>., doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), Área de Concentração em Fitopatologia.

<sup>2</sup>Orientador, Eng.-Agr., Ph.D. em Fitopatologia, professor do PPGAgro e FAMV da UPF.

<sup>3</sup>Co-orientadora, Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>, Doutora em Genética e Biologia Molecular, pesquisadora, OR Melhoramento de Sementes Ltda.

<sup>4</sup>Bióloga, OR Melhoramento de Sementes Ltda.

triazóis (tebuconazol, ciproconazol e epoxiconazol) e estrobilurinas (azoxistrobina, cresoxim metílico, picoxistrobina, piraclostrobina e trifloxistrobina) foram aplicados em condição de campo, com severidade da doença maior que 50% (folha bandeira). Após a pulverização as folhas (bandeira) foram coletadas e batidas sobre placas com meio de cultura a fim de remover os esporos e verificar a germinação dos esporos. Nenhum dos fungicidas aplicados e em nenhuma dose testada, detectou-se ação de contato efetivo para o controle do agente causal da ferrugem da folha do trigo.

**Palavras-chave:** Ferrugem da folha, *Triticum aestivum* L., controle químico, fungicidas IDM e IQE.

**CONTACT EFFECT OF TRIAZOLE AND STROBILURIN  
FUNGICIDES TO SPORES GERMINATION OF *Puccinia  
triticultura***

**VÂNIA BIANCHIN, ERLEI MELO REIS, AMARILIS LABES  
BARCELLOS E CAMILA TURRA**

**ABSTRACT** – Two groups of fungicides are recommended to control leaf rust of wheat; triazoles (IDMs, demethylation inhibitors) that act in the synthesis of ergosterol, the main component of the plasma membrane of most fungi and strobilurin (IQEs, inhibiting quinone outside), which act in the process of cell respiration or ATP production. Triazoles have no contact action on the spores, because

the germination of the reserves are used ergosterol, since strobilurins would contact action, since they act in energy production and germination is a process of high demand. This study aimed to evaluate the contact action of fungicides on dry spores of *Puccinia triticina*. The triazole fungicides (tebuconazole, and cyproconazole epoxiconazol) and strobilurin (azoxystrobin, kresoxim methyl picoxystrobin, pyraclostrobin and trifloxystrobin) were sprayed under field conditions, with rust severity greater than 50% on the flag leaf. After spraying the leaves (flag) dry spores were collected by tapering infected leaves on plates with culture medium to assess their germination. None of the fungicides applied at any tested rate, had contact action for the effective control of leaf rust of wheat.

**Keywords:** leaf rust, *Triticum aestivum* L., chemical control, IDM, QEI fungicides.

## 1 INTRODUÇÃO

Dois grupos de fungicidas são recomendados para controle de ferrugem da folha do trigo, os triazóis e as estrobilurinas (INFORMAÇÕES, 2010). Os triazóis há 20 anos são utilizados para este fim. Em 2005 ocorreram os primeiros relatos de que estes fungicidas não estariam mais tendo a mesma eficiência. A alteração da sensibilidade do fungo *Puccinia triticina* Eriks. foi comprovada mais tarde (ARDUIM, et al., 2009). As estrobilurinas continuam sendo eficiente no controle da ferrugem da folha, sendo o seu uso recomendado em misturas com triazóis, medida esta que visa minimizar a redução da sensibilidade dos fungos fitopatogênicos.

Os triazóis são também conhecidos como IDMs, ou seja, inibidores da desmetilação. Estes atuam na síntese de ergosterol, principal componente da membrana plasmática da maioria dos fungos, inibem a remoção do grupo metila C<sub>14</sub> do 24-metilenodihidrolanasterol, resultando no acúmulo de precursores de esteróis na redução do ergosterol (REIS et al., 2010). Sabe-se que os IDMs não inibem a germinação dos esporos, pois nesta fase, utilizam os esteróis armazenados germinando na ausência da síntese de esteróis (REIS et al., 2010).

As estrobilurinas (IQEs), inibidores da quinona externa, agem na inibição da respiração mitocondrial através do bloqueio da transferência de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c<sub>1</sub> no sítio Q<sub>0</sub>, interferindo na produção de ATP. A seletividade das

estrobilurinas parece estar nas diferenças estruturais de membranas celulares (VENANCIO et al., 2004).

Ao contrário dos IDMs, os IQes são inibidores da germinação dos esporos, isto porque agem no bloqueio de ATP e a germinação é uma fase que demanda alta energia (BARTLETT et al., 2002).

Um fungicida possui efeito de contato, se este for capaz de penetrar através da membrana e matar o esporo sem requerer sua germinação (HORSFALL, 1957). Ainda não está devidamente esclarecido se as estrobilurinas e os triazóis possuem efeito de contato sobre a ferrugem da folha do trigo (REIS, 2010).

O presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito de contato de fungicidas triazóis e estrobilurinas na germinação de esporos de *P. triticina*.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Campo Experimental e Laboratório de Fitopatologia – Micologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, no município de Passo Fundo – RS entre os meses de julho a novembro de 2009.

As sementes da cultivar Supera, de domínio genético da OR – Melhoramento de Sementes Ltda, foram tratadas com iprodiona (Rovral) na dose de  $0,1L.100kg^{-1}$  de sementes e o inseticida imidacloprida (Gaucho) na dose de  $0,08L.100kg^{-1}$  de sementes. A

semeadura foi realizada no dia 10 de julho, com espaçamento de 0,17m entre linhas e densidade de 330 sementes.m<sup>-2</sup>.

Para a adubação de base utilizou-se 250kg.ha<sup>-1</sup> do adubo formulado 05-25-25 (N – P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – K<sub>2</sub>O) e para adubação de cobertura aplicou-se nitrogênio na forma de uréia na quantidade de 150kg.ha<sup>-1</sup> no estágio 23 (colmo principal e três afilhos) (ZADOKS et al., 1974).

O controle de plantas daninhas foi realizado através de uma aplicação do herbicida iodosulfurom-metílico (Hussar) na dose de 0,1kg.ha<sup>-1</sup> + espalhante adesivo Hoefix na dose de 0,5L.ha<sup>-1</sup>, no estágio 23 (colmo principal e três afilhos) (ZADOKS et al., 1974).

A cultura foi estabelecida em uma faixa de 5,5m de largura e 18,0m de comprimento totalizando 99m<sup>2</sup> para cada fungicida aplicado, no primeiro ensaio (ensaio 1) (Tabela 1). Para o segundo ensaio (ensaio 2), foi semeada uma faixa de 2,5m de largura e 6,0m de comprimento, totalizando 15m<sup>2</sup> para cada dose de cada fungicida aplicado (tabela 2).

No primeiro ensaio foram testados três fungicidas do grupo dos triazóis (tebuconazol, ciproconazol e epoxiconazol), inibidores da desmetilação (IDM) e cinco do grupo das estrobilurinas (azoxistrobina, piraclostrobina, trifloxistrobina, picoxistrobina e cresoxim metílico), inibidores da respiração na quinona externa (IQE), nas doses indicadas na tabela 1.

No segundo ensaio, foram avaliados dois triazóis, tebuconazol e ciproconazol, nas doses 750, 550, 350, 150 e 500, 350, 200 e 50mL/ha, respectivamente e duas estrobilurinas, azoxistrobina

e piraclostrobina, ambas nas doses de 200, 180, 110 e 40mL/ha (tabela 2).

Tabela 1 - Fungicidas, nome comercial do produto, formulações, concentrações e doses dos fungicidas utilizados no ensaio 1

Fungicidas	Nome comercial	Formulação	Concentração g/L	Dose p.c. (L.ha <sup>-1</sup> )
Testemunha	-	-	-	0,0
Azoxistrobina	Priori	SC	250	0,2
Ciproconazol	Alto 100	SC	100	1,0
Cresoxim metílico	Stroby	SC	500	0,2
Epoxiconazol	Opus	CE	125	1,0
Picoxistrobina	Aproach	CE	250	0,2
Piraclostrobina	Comet	CE	250	0,6
Trifoxistrobina	Twist	CE	500	0,2
Tebuconazol	Folicur	CE	200	0,75

p.c. = produto comercial. Adicionou-se óleo quando indicado pelo fabricante.

Tabela 2 - Fungicidas, nome comercial do produto, formulações, concentrações e doses dos fungicidas utilizados no ensaio 2

Fungicidas	Nome comercial	Formulação	Concentração g/L	Dose p.c. (L.ha <sup>-1</sup> )
Testemunha	-	-	-	0,0
Azoxistrobina	Priori	SC	250	0,25; 0,18 0,11; 0,04
Ciproconazol	Alto 100	SC	100	0,5; 0,35; 0,2; 0,05
Piraclostrobina	Comet	EC	250	0,25; 0,18 0,11; 0,04
Tebuconazol	Folicur	CE	200	0,75; 0,55 0,35; 0,15

p.c. = produto comercial. Adicionou-se óleo quando indicado pelo fabricante.

As aplicações dos fungicidas foram realizadas com pulverizador costal de precisão e pressão constante gerada por gás CO<sub>2</sub>, de 30 lb.pol<sup>-2</sup>, provido de recipientes com capacidade de dois litros (garrafas plásticas descartáveis). A barra do pulverizador foi equipada com cinco pontas do tipo leque marca Tween Jet DG 11015, espaçados 50cm. O volume de calda aplicado foi de 150L.ha<sup>-1</sup>. Nas pulverizações a barra foi posicionada a uma altura de 45 cm acima das plantas, de forma a proporcionar cobertura completa e uniforme.

Os fungicidas foram aplicados quando a severidade estimada (visualmente) foi superior a 50% da área da folha bandeira (erradicativamente). Este critério foi adotado devido a necessidade de abundância de esporos para os trabalhos *in vitro*. A aplicação dos fungicidas foi no dia 30/10/2009. Em ambos os ensaios foram utilizadas as folhas bandeira, a fim de garantir a deposição dos fungicidas sobre os esporos. As folhas coletadas para realização dos experimentos *in vitro* foram retiradas do centro da parcela de cada tratamento.

Para o ensaio 1 as coletas foram realizadas 0, 6, 12, 24 e 48 horas após a aplicação dos fungicidas e para o ensaio 2 a coleta foi realizada 6 horas após aplicação dos fungicidas.

As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e imediatamente processadas no laboratório de fitopatologia da Universidade de Passo Fundo – UPF, em Passo Fundo, RS. As folhas de cada tratamento foram batidas sobre placas de Petri contendo meio de cultura (1L água destilada, 12g de Agar e 1g de folha de

trigo (cultivar Morocco) triturada e coada (REIS & RICHTER, 2007)). As placas foram levadas a câmaras do tipo BODs a temperatura de 18°C +/- 1°C por 8 horas, ao final do tempo as placas foram retiradas e a germinação dos esporos paralisada com 0,5mL de acetona + corante azul (corante de alimentos).

As placas foram armazenadas a 4°C por um mês, tempo necessário para finalizar as avaliações de esporos germinados e não germinados. Foram observados sob microscópio com aumento de 100 vezes 50 esporos por placa.

Para o ensaio 1, foram feitas 12 repetições por tratamento e para o ensaio 2, oito repetições. Cada placa de Petri foi considerada uma repetição. Os esporos de cada folha bandeira coletada deu origem a uma repetição dos experimentos em delineamento inteiramente casualizado, cada tempo de exposição aos fungicidas originou um experimento.

Para as análises estatísticas foi utilizado o software Costat. A operação e interpretação do software foi baseada em Costa & Castodi (2009). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Uma amostra coletada da parcela sem tratamento com fungicida foi encaminhada para o laboratório de ferrugens da OR Melhoria de Sementes Ltda a fim de identificar a(s) raça(s) de *P. triticina*. A ferrugem presente nas parcelas foi resultado de infecção natural.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Muitos fungicidas agem na germinação dos esporos de diversos fitopatógenos. Para estes, as aplicações erradicativas se tornam mais seguras, como para as estrobilurinas, potentes inibidoras da germinação de esporos por atuarem na produção de energia (BARTLETT et al., 2002). Os fungos, durante a germinação dos esporos, utilizam os esteróis de reserva, então, os triazóis, inibidores da desmetilação na síntese de ergosterol, não tem ação nesta fase (REIS et al., 2010).

A respeito do fungo *P. triticina* os resultados obtidos por Arduim (2009) apontam para um efeito dos fungicidas azoxistrobina e piraclostrobina aplicados erradicativamente em três raças, sendo a viabilidade dos esporos zero para todos os tratamentos.

Os resultados obtidos foram contrastantes com a única referência que foi encontrada na literatura consultada (ARDUIM, 2009). Houve interferência dos fungicidas na viabilidade dos esporos, entretanto, apesar de estatisticamente significativa, na prática foi de baixo impacto.

A raça da ferrugem presente nos experimentos foi identificada como sendo M(D)(T)-(M)(R) (B55 4002S). No ensaio 1, os esporos foram coletados em diferentes tempos a fim de avaliar se o período de exposição ao fungicida seria fator preponderante nas avaliações. Todos os tempos de exposição tiveram influência similar na germinação dos esporos. De modo geral, os fungicidas

piraclostrobina e trifloxistrobina reduziram a viabilidade que os demais fungicidas e a testemunha (sem fungicida) (Tabelas 3).

Em nenhum dos tempos de exposição os triazóis (tebuconazol, ciproconazol e epoxiconazol) reduziram a viabilidade em valores diferentes da testemunha, comprovando as informações da literatura (REIS, et al., 2010) e concordando com os resultados obtidos por Arduim (2009).

No tempo 0 (zero) (aplicação do fungicida e em seguida coleta das amostras), somente o fungicida piraclostrobina resultou em menor germinação do fungo, reduzindo em 15,9% em relação a testemunha. Com 6 horas, os esporos tiveram as maiores diferenças na viabilidade em relação à testemunha, sendo que, exceto cresoxim metílico, todas as demais estrobilurinas diferiram. Piraclostrobina causou a maior inibição, 30,6% em relação à testemunha (Tabela 3).

Nos tempos de 12 e 48 horas o único fungicida que proporcionou diferenças significativas em relação aos demais fungicidas e a testemunha foi a estrobilurina trifloxistrobina, com percentual de inibição na germinação dos esporos de 9,9 e 19,9%, respectivamente (Tabela 4). No tempo de 24 horas a piraclostrobina proporcionou maior inibição, 18,4% (Tabela 3).

Tabela 3: Ação de contados de fungicidas sobre a germinação (%) de esporos de *Puccinia triticina* determinada nos tempos zero (0), seis (6), 12, 24 e 48 horas após a aplicação

Fungicida	Dose P.C. mL/ha	0 horas	6 horas	12 horas	24 horas	48 horas
Testemunha	-	82,3 a	84,8 a	85,1 ab	83,8 a	82,6 a
Tebuconazol	750	72,3 ab	74,2 abc	80,1 ab	82,8 a	79,0 ab
Ciproconazol	1000	82,7 a	78,9 ab	86,8 ab	83,7 a	77,3 ab
Epoxiconazol	1000	82,0 ab	85,8 a	87,5 a	87,2 a	76,7 ab
Azoxistrobina	200	73,5 ab	65,7 bcd	80,1 ab	78,8 a	81,5 a
Cresoxim metílico	200	76,5 ab	72,7 abc	85,7 ab	84,9 a	78,5 ab
Picoxistrobina	200	73,2 ab	64,5 bcd	85,8 ab	80,5 a	74,1 ab
Trifloxistrobina	200	73,5 ab	60,7 cd	76,7 b	80,8 a	66,1 b
Piraclostrobina	200	69,2 b	57,1 d	78,7 ab	68,4 b	75,6 ab
C.V. %		13,3	16,7	9,94	8,57	15,29

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. p.c. = produto comercial. Adicionou-se óleo quando indicado pelo fabricante.

Tabela 4: Ação de contato a fungicidas sobre a germinação (%) dos esporos de *Puccinia triticina* seis horas após a aplicação de fungicidas triazóis e estrobilurinas em diferentes doses

Fungicida	Dose mL/ha (p.c.)	Germinação (%)
Testemunha	-	83,4 a
Tebuconazol	750	82,5 a
Tebuconazol	550	80,5 ab
Tebuconazol	350	77,5 ab
Tebuconazol	150	74,7 ab
Ciproconazol	500	86,0 a
Ciproconazol	350	85,0 a
Ciproconazol	200	83,4 a
Ciproconazol	50	87,7 a
Azoxistrobina	250	88,0 a
Azoxistrobina	180	83,0 a
Azoxistrobina	110	81,5 ab
Azoxistrobina	40	79,1 ab
Piraclostrobina	250	77,5 ab
Piraclostrobina	180	67,2 bc
Piraclostrobina	110	60,1 c
Piraclostrobina	40	67,7 bc
C.V.%		10,29

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

p.c. = produto comercial. Adicionou-se óleo quando indicado pelo fabricante.

No ensaio 2, onde foram avaliadas diferentes doses para os fungicidas tebuconazol, ciproconazol, azoxistrobina e piraclostrobina, não foi encontrada diferença significativa na viabilidade dos esporos, em relação à testemunha, para nenhuma dose dos fungicidas tebuconazol, ciproconazol e azoxistrobina. Para o fungicida piraclostrobina encontrou-se diferenças em relação aos

demais tratamentos para as doses de 180, 110 e 40mL.ha<sup>-1</sup> (produto comercial). Não se tem nenhuma explicação do porque na dose de 250mL.ha<sup>-1</sup> (produto comercial) a viabilidade dos esporos não diferiu da testemunha (Tabela 4).

#### 4 CONCLUSÕES

As estrobilurinas, azoxistrobina, picoxistrobina, cresoxim metílico, trifloxistrobina e piraclostrobina não apresentaram ação de contato efetivo no controle de *P.triticina*.

A piraclostrobina apresentou maior ação de contato sobre a viabilidade dos esporos de *P. triticina*.

Dos tempos testados, seis horas após a aplicação dos fungicidas é adequado para observar a ação de contato das estrobilurinas sobre a germinação dos esporos.

Em nenhum dos tempos de exposição os triazóis (tebuconazol, ciproconazol e epoxiconazol) apresentaram ação de contato.

## CAPÍTULO 4

### EPIDEMIOLOGIA COMPARATIVA ENTRE RAÇAS DE *Puccinia triticina* EM RELAÇÃO A AGRESSIVIDADE E SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS

VÂNIA BIANCHIN<sup>1</sup>, ERLEI MELO REIS<sup>2</sup>, AMARILIS LABES  
BARCELLOS<sup>3</sup> E CAMILA TURRA<sup>4</sup>

**RESUMO** – O agente causal da ferrugem da folha do trigo, *Puccinia triticina*, devido à alta capacidade de esporulação e ao grande número de gerações por cultivo, possui grande variabilidade. A variabilidade existente está presente nos aspectos tanto da virulência, com gamas distintas de interações gênicas com o hospedeiro, bem como com fatores determinantes da agressividade como período latente, produção de esporos, viabilidade, dentre outros. Os experimentos foram conduzidos comparando entre raças quanto a aspectos que conferem mais ou menos agressividade SNJ-RR, MCG-MN (B34), TDP-MR, TDP-HR, TPT-HT, M(F)DP-MT(R) 4002S (B58 4002S) e MDK-MR 4002S (B55 4002S) e, verificar as diferenças de sensibilidade entre as

---

<sup>1</sup>Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>., doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), Área de Concentração em Fitopatologia.

<sup>2</sup>Orientador, Eng.-Agr., Ph.D. em Fitopatologia, professor do PPGAgro e FAMV da UPF.

<sup>3</sup>Co-orientadora, Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>, Doutora em Genética e Biologia Molecular, pesquisadora, OR Melhoramento de Sementes Ltda.

<sup>4</sup>Bióloga, OR Melhoramento de Sementes Ltda.

raças MDK-MR 4002S (B55 4002S) e MCG-MN (B34) aos fungicidas tebuconazol e azoxistrobina avaliados pelo controle de infecções latentes (aplicação curativa) e a capacidade de infecção após a aplicação (preventiva). Detectaram-se diferenças significativas entre as raças em todos os aspectos analisados. As raças SNJ-RR e MCG-MN são as que apresentaram menos capacidade de esporulação, têm maior período de latência e, portanto, menor capacidade de competição e prevalência. A sensibilidade da raça MCG-MN ao fungicida tebuconazol foi maior que da MDK-MR 4002S, controlando infecções latentes de até sete dias enquanto que na segunda controla infecções latentes de até cinco dias. A raça MDK-MR 4002S quatro dias após aplicação de tebuconazol foi capaz de causar infecção normalmente, enquanto que a B34 só é capaz após nove dias.

**Palavras-chave:** Ferrugem da folha, *Triticum aestivum*, características fisiológicas.

**COMPARATIVE EPIDEMIOLOGY OF AGGRESSIVENESS  
OF *Puccinia triticina* RACES AND SENSITIVITY TO  
FUNGICIDES**

**VÂNIA BIANCHIN, ERLEI MELO REIS, AMARILIS LABES  
BARCELLOS E CAMILA TURRA**

**ABSTRACT** – The causal agent of wheat leaf rust, *Puccinia triticina*, due to high spore production and the large number of generations during a wheat growing season, has great variability. The variability is present in many aspects both in virulence, with different ranges of gene interactions with the host, as with aggressiveness determinants as latent period, spore production, spore viability, among others. The experiments were conducted to compare those traits of the following races SNJ-RR, MCG-MN (B34), TDP-MR, TDP-HR, TPT-HT, F (F) SD-MT (R) 4002S (4002S B58) and MR MDK-4002S (4002S B55). The sensitivity of MDK MR-4002S (4002S B55) and MCG-MN (B34) races to the fungicides tebuconazole and azoxystrobin were compared in curative and preventive applications. Significant differences existed between races in all aspects analyzed. Races SNJ-RR-MN and MCG have lower sporulation, have greater latency period and therefore less capacity to compete and prevail. The sensitivity of the fungicide tebuconazole to race B34 was higher than B55 4002S, controlling latent infections up to seven days while for the second controlled latent infections up to five days.

**Keywords:** Leaf rust, *Triticum aestivum*, physiological characteristics.

.

## 1 INTRODUÇÃO

A agressividade e a virulência de raças de fungos são características distintas e que se refletem em aspectos diferentes no comportamento do patógeno. A virulência de uma raça é relativamente fácil de ser estudada e, geralmente, bem compreendida. Existe virulência de *Puccinia triticina* Eriks. para quase todos os genes maiores de resistência conhecidos e também para algumas de suas combinações (ROELFS, 1992). Entretanto existem ainda outros genes menores capazes de conferir a resistência não específica, conhecida como resistência de planta adulta.

Uma raça é considerada virulenta a uma determinada cultivar de trigo quando é capaz de vencer o gene de avirulência do hospedeiro. Esta característica tem papel bem definido e conhecido no comportamento das populações do patógeno. Entretanto, a agressividade envolve várias características como, por exemplo, período de latência, esporulação, germinação de esporos, dentre outras. Ainda não é conhecido o quanto cada uma destas características pode influenciar a adaptação e a sua predominância. Sabe-se, no entanto, que nem todas as raças que surgem tem a capacidade de causar epidemia (ROELFS, 1992).

A agressividade de uma raça virulenta aos materiais mais cultivados em uma região é responsável pela adaptação desta população ao ambiente. Até que ponto as características que compõem a agressividade estariam influenciando na alteração da sensibilidade de algumas raças aos fungicidas triazóis?

Este estudo foi conduzido com o objetivo de comparar raças de *P. triticina* sob alguns aspectos da agressividade como produção de esporos.dia<sup>-1</sup>, massa de esporos, período de latência, tamanho de urédias e número de urédias produzidas por uma raça predominante (B55 4002S) e uma não predominante (B34), na presença dos fungicidas tebuconazol e azoxistrobina, aplicados preventiva e curativamente.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos em câmaras de crescimento com controle de temperatura e fotoperíodo e no Laboratório de Fitopatologia/Micologia da Universidade de Passo Fundo, nos meses de dezembro de 2010 e janeiro de 2011. As raças utilizadas nos experimentos foram multiplicadas nas dependências da OR Melhoramento de Sementes Ltda.

A temperatura foi constante durante todo o experimento, 19°C +/- 1°C, fotoperíodo de 12 horas, intensidade luminosa média, medida a ½ da altura do dossel, máxima de 6,58 e mínima de 6,45 Klux (Luxímetro Meditec, modelo HD 400). A umidade relativa (UR) se manteve em torno de 63% (Squitter, UTReg, modelo S1615, PCD ambiental), exceto durante o período de incubação, onde as plantas permaneceram por 48 horas a 100% de UR (o ensaio de aplicação curativa de fungicidas permaneceu em incubação (100% UR) por 24 horas).

Os testes foram conduzidos *in vivo* utilizando a cultivar de trigo Morroco, que não possui genes *Lr* de resistência conhecidos, com a finalidade de excluir o efeito da cultivar. As plântulas (cinco por vaso) foram cultivadas em recipientes de 300mL de capacidade contendo substrato corrigido conforme recomendação para a cultura (INFORMAÇÕES..., 2010).

Quatorze dias após a semeadura [duas folhas expandidas – estágio 12 (ZADOKS et al., 1974)], foi realizada a inoculação dos uredosporos de *P. triticina*, suspensos em óleo mineral Soltrol, através de atomizador com pressão gerada por ar comprimido. Após, a deposição de inóculo, pulverizou-se água com Tween 20 (Polioxietilenosorbitano monolaurato – Synth - 4 gotas por litro) até o ponto anterior ao escorrimento. Cada bandeja, contendo 24 vasos com plantas inoculadas, foi envolta por saco plástico a fim de propiciar umidade relativa de 100%.

Foram testadas sete raças (exceto para os ensaios com fungicidas): SNJ-RR, MCG-MN (B34), TDP-MR, TDP-HR, TPT-HT, M(F)DP-MT(R) 4002S (B58 4002S), MDK-MR 4002S (B55 4002S).

**Ensaio 1.** Período de latência e formação de urédias secundárias.

Foram utilizados cinco vasos, com cinco plantas inoculadas, para cada uma das sete raças. Em cada vaso foi realizado desbaste deixando somente duas plantas. As folhas que receberam o inóculo foram numeradas com caneta de tinta permanente duas folhas por

vaso (1-10), cada uma foi considerada uma repetição. Estas folhas numeradas foram observadas diariamente sob lupa com aumento de 20 vezes até o rompimento das urédias. Contaram-se as urédias rompidas no primeiro, segundo e quarto dia a partir da primeira observação e, no 13º dia, fez-se a contagem das urédias que deram origem a urédias secundárias. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, através do programa Costat. Para as análises estatísticas, os dados foram transformados ( $\sqrt{x+10}$ ). Na confecção da tabela utilizaram-se os valores sem transformação.

### **Ensaio 2.** Produção diária de esporos.

Uma folha inoculada de cada raça, 24 horas antes da avaliação do número de esporos foi marcada com fita adesiva colorida e, os esporos, removidos com um pincel, a fim de retirar esporos produzidos em dias anteriores. Passado 24 horas da remoção, com o devido cuidado para não perder esporos, cortou-se a folha em 3 a 4 fragmentos de aproximadamente 1,5 cm dentro de um microtubo (capacidade 2mL), acrescentou-se 1mL de água e 0,5mL de acetona e agitou-se por 20 segundos em um agitador de tubos (7.000 rpm) para a retirada dos esporos.

Os fragmentos de folhas foram retirados e colocados sobre um papel filtro e o número de urédias contado sob microscópio estereoscópico com aumento de 40 vezes. Cada tubo contendo os esporos foi agitado novamente e, foi retirada e depositada sobre uma lâmina uma gota de 10µL cada, e os esporos, contados sob

microscópio com aumento 100 vezes, o procedimento foi repetido três vezes (repetição). No 12º dia após a inoculação fez-se o mesmo procedimento, contudo foram colocados 1,5mL de água e as gotas dispostas sobre uma placa de Petri contendo meio de cultura (1L água, 1g de folhas de trigo triturado e coado e 12g de Ágar) a fim de observar a viabilidade dos esporos (germinação).

Calculou-se o número de esporos presentes em 1,5mL de líquido e dividiu-se pelo número de urédias que deram origem aos esporos, estimando-se o número de esporos.dia<sup>-1</sup>.urédia<sup>-1</sup>.

As avaliações iniciaram no nono dia após a inoculação e finalizaram no 21º dia, devido à senescência das folhas inoculadas.

O delineamento foi inteiramente casualizado, os dados foram submetidos a análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para as análises estatísticas utilizou-se o software Costat. Para as análises estatísticas da produção média diária de esporos por urédia os dados foram transformados ( $\sqrt{x+10}$ ). Na confecção do gráfico utilizaram-se os valores sem transformação.

### **Ensaio 3. Massa dos esporos.**

Foram utilizados seis vasos com cinco plantas inoculadas para cada uma das sete raças. De cada vaso, foram marcadas (com fita adesiva colorida) ao acaso duas folhas inoculadas. A cada dois dias, a partir do rompimento das urédias, foi feita a coleta dos esporos. As coletas iniciaram no nono dia após a inoculação e terminaram no 21º dia após a inoculação devido a senescência das

folhas inoculadas. Os esporos foram coletados, em cápsulas de gelatina, através de um coletor adaptado a uma bomba de vácuo e, no final das coletas, foram pesados em balança de precisão (Sartorius, BP 210S). Foi subtraído o peso da cápsula tendo como base a média do peso de 10 cápsulas vazias. No 12º dia, foram contadas as urédias de todas as folhas de coleta. Foi calculada a massa dos esporos produzidos, no referido período de tempo, em 100 urédias para cada raça.

#### **Ensaio 4.** Tamanho de urédias

Foram coletadas duas folhas com distribuição homogênea de urédias para cada raça em estudo. As folhas foram cortadas em fragmentos e posicionadas adaxialmente sobre lâminas microscópicas, sendo fixados com fita adesiva transparente. A mensuração das urédias (100 urédias de cada raça) foi feita sob microscópio (aumento de 40 vezes), com auxílio de uma régua micrométrica acoplada a ocular. Foi feita a correção para o aumento da objetiva de observação utilizada.

**Ensaio 5.** Ação preventiva dos fungicidas tebuconazol e azoxistrobina para as raças MCG-MN (B34) e MDK-MR (B55 4002S) (B55 predominante desde 2005 e com alteração de virulência 4002S, desde 2007).

Os fungicidas foram aplicados nas doses recomendadas (tebuconazol = 750mL/ha e azoxistrobina = 250mL/ha) foram utilizados pulverizadores manuais (tipo borrifador), um para cada

fungicida, de maneira a evitar a contaminação por resíduos. As plantas foram pulverizadas até o ponto de escorrimento. As inoculações ocorreram 1, 4, 7, 9, 14 e 18 dias após a aplicação de fungicida. O delineamento foi de blocos ao acaso com quatro repetições. Em cada inoculação foram incluídas plantas testemunhas, sem aplicação de fungicida. A contagem de urédias.área foi feita aos 12 dias após a inoculação, sob microscópio estereoscópico com aumento de 40 vezes. Os dados foram transformados ( $\sqrt{x+10}$ ) e submetidos a análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para as análises estatísticas utilizou-se o software Costat.

**Ensaio 6.** Ação curativa dos fungicidas tebuconazol e azoxistrobina para as raças MCG-MN (B34) e MDK-MR (B55 4002S).

As raças de *P. triticina* foram inoculadas 24 horas antes da primeira aplicação, as aplicações nas doses recomendadas (tebuconazol = 750mL/ha e azoxistrobina = 250mL/ha) foram realizadas com pulverizadores manuais (tipo borrifador), um para cada fungicida de maneira a evitar contaminações. As plantas foram pulverizadas até o ponto de escorrimento. As aplicações de fungicidas foram feitas 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dias após a inoculação do patógeno. O delineamento foi de blocos ao acaso com quatro repetições. A contagem de urédias.área foi feita aos 12 dias após a inoculação, sob microscópio estereoscópico com aumento de 40 vezes. Os dados foram submetidos a análise de variância, e as médias

foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para as análises estatísticas utilizou-se o software Costat.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Ensaio 1.** Período de latência e formação de urédias secundárias.

Nas condições de temperatura e luminosidade em que o experimento foi conduzido, o período de latência para seis das sete raças estudadas, desde a infecção até o rompimento das urédias, foi de sete dias, considerando que a infecção tenha ocorrido no mesmo dia da inoculação. Somente a raça B34 (MCG-MN) rompeu as urédias 8 dias após a inoculação (Tabela 1).

Tabela 1: Período latente de raças de *Puccinia triticina* e formação de urédias secundárias

Raças	Densidade Média Urédias/Folha (N°)	Rompimento urédias primárias dias após a inoculação (%)			Urédias secundárias
		7	8	9	
TDT-MR	21,6	45,4 a	83,8 A	100	65,7 a
TDP-HR	74,6	40,1 ab	88,2 A	100	33,9 ab
TPT-HT	58,7	28,8 ab	77,5 Ab	100	49,9 a
MDP-MT	69,5	37,7 ab	78,6 Ab	100	42,9 ab
MDT-MR	88,0	39,8 ab	86,4 A	100	17,5 bc
MCG-MN	30,8	0,0 c	73,4 Ab	100	9,4 c
SNJ-RR	15,0	26,0 bc	68,0 B	100	10,0 c
C.V. %		27,03	11,43		26,87

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Os dados foram transformados ( $\sqrt{x+10}$ ) para a análise estatística

Quanto maior o período de latência, menos agressivo é considerado o patógeno, que conta com menos tempo para a esporulação, menos esporos gerarão ciclos secundários na lavoura (menor número de gerações produzidas durante a estação) e as mesmas implicações estarão envolvidas nos ciclos secundários (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996).

Nove dias após a inoculação todas as urédias de todas as raças já haviam sido rompidas. Entretanto, quanto mais cedo inicia a esporulação, mais rápido é o desenvolvimento da doença e mais descendentes são produzidos na natureza, destacando-se as raças TDT-MR e TDP-HR, onde mais de 40% das urédias estavam rompidas no primeiro dia de esporulação.

As raças com período de latência maior foram a B34 (MCG-MN), que sete dias após a inoculação nenhuma urédia havia se rompido, a SNJ-RR com 26% das urédias esporulando e a TPT-HT com 29%.

Ao redor da urédia de infecção é formado um anel de urédias que são chamadas de secundárias (ROELFS, 1992). A formação destas urédias secundárias garantem maior produção de inóculo e conseqüente crescimento da doença tanto no sentido horário (geração de ciclos secundários) como no sentido anti-horário (expansão das lesões) (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996).

Quanto ao aspecto da formação de urédias secundárias também foi possível observar variabilidade entre as raças testadas, 66% das urédias primárias foram capazes de formar urédias

secundárias na raça TDT-MR, 50%, na raça TPT-HT e 43% na raça M(F)DP-MT(R) (B58 4002S). As raças com os percentuais mais baixos foram a MCG-MN (B34) e a SNJ-RR com 9,4% e 10%, respectivamente. Quanto maior a formação de urédias secundárias e menor o período de latência, maior será a adaptação e conseqüentemente a agressividade da raça. Pela predominância da raça M(D)T-MT(R) (B55 4002S) em seis anos consecutivos nos cultivos do Brasil, esperava-se que esta apresentasse maior formação de urédias secundárias.

### **Ensaio 2.** Produção diária de esporos.

Os resultados obtidos desde o nono dia após a inoculação até 21º dia mostram que a produção de esporos.urédia<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>, no tempo, flutuou de forma inconstante, não podendo afirmar em qual período da esporulação a produção de esporos foi mais ou menos intensa (Figura 1). Esta avaliação contraria os resultados obtidos por Mehta & Zadoks (1970), os quais encontraram alta produção de esporos no início do período de esporulação (pico em 72 horas) e queda acentuada do meio para o fim deste período.

Na média diária de produção de esporos por urédia destacam-se a raça TPT-HT com maior produção, em torno de 1.300 esporos por dia e, com menores produções de esporos, as raças MCG-MN com 500 esporos por dia e a SNJ-RR com 480. As demais raças apresentaram produções médias entre 900 e 1.100 esporos por urédia.dia<sup>-1</sup> (Figura 2).

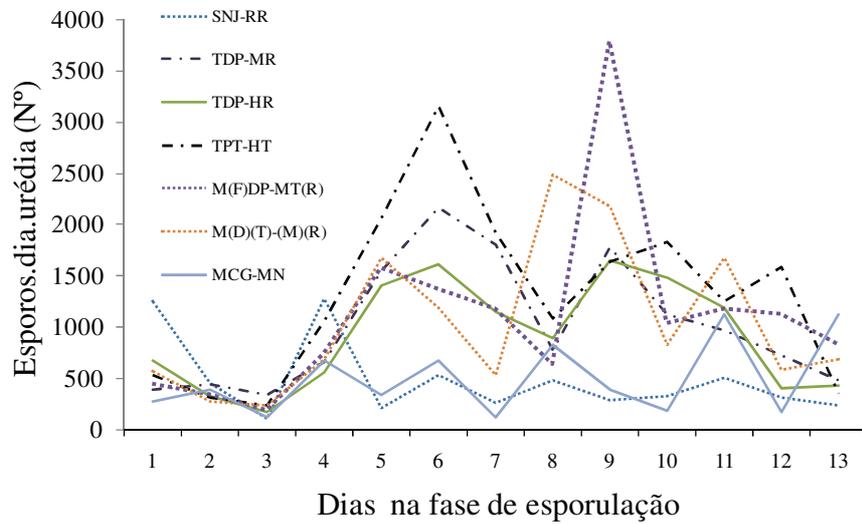


Figura 1: Flutuação na produção diária de esporos por urédia em raças de *Puccinia triticina*.

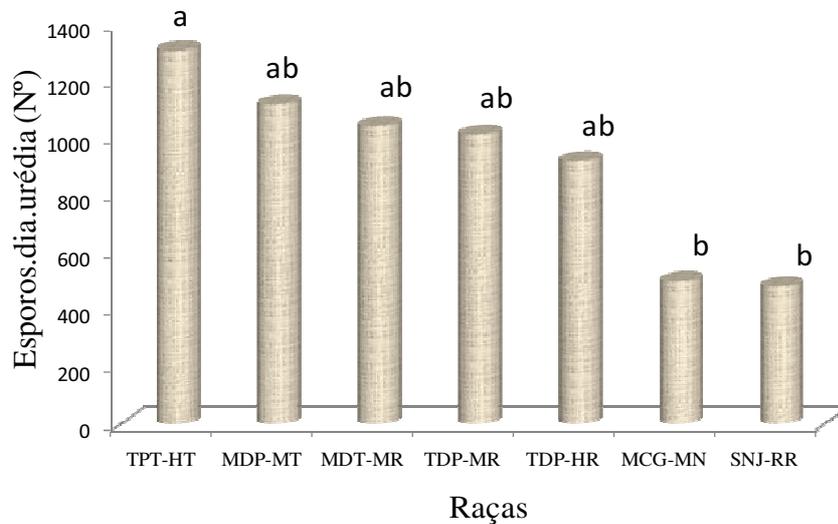


Figura 2: Produção média diária de esporos por urédia em raças de *Puccinia triticina* (C.V.% = 21,4).

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A germinação dos esporos foi avaliada no 12º dia da esporulação. As raças foram diferentes entre si, TDP-MR apresentou maior germinação, enquanto que as raças SNJ-RR, MDT-MR e TPT-HT apresentaram as menores germinações e as demais raças ficaram com valores intermediários (Figura 3).

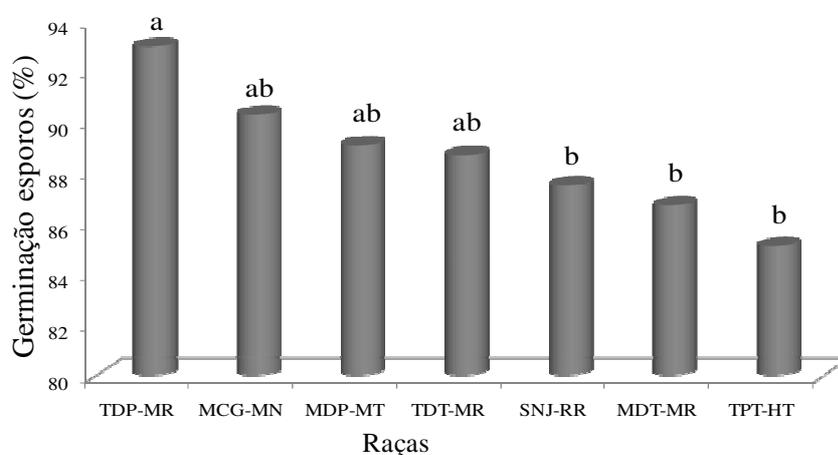


Figura 3: Germinação (%) dos esporos de raças de *Puccinia triticulturae* no 12º dia após a inoculação (C.V.% = 2,2). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

### Ensaio 3. Massa de esporos.

Foram coletados os esporos produzidos do oitavo dia após a inoculação (início da esporulação) até o 21º dia (início da senescência das folhas inoculadas) em uma mesma cápsula. Verificou-se que a massa dos esporos foi uma característica variável. A raça SNJ-RR teve menor produção de esporos por dia, porém apresentou maior peso de esporos do que a raça TPT-HT que

produziu a maior média de produção de esporos por dia (Figura 2 e 3).

Supõe-se que maior ou menor peso dos esporos sejam semelhantes às das sementes das plantas, maior peso, mais reserva para suprir a plântula enquanto não possui raízes. Há possibilidade que o mesmo ocorra para os esporos. Entretanto, vale lembrar que quanto mais leves os esporos, mais facilmente são dispersos pelo vento (MAUDE, 1996), neste caso o maior peso poderia ser uma desvantagem.

Inicialmente pode-se imaginar que altas densidades de urédias poderiam induzir a menor produção de esporos.urédia<sup>-1</sup>, entretanto, Mehta e Zadoks (1970) observaram que este fato não era verdadeiro e os resultados obtidos neste trabalho reiteram. Os maiores pesos de esporos.100urédias<sup>-1</sup> foram obtidos justamente com as raças de maior densidade na folha e o menor peso com a raça (MCG-MN) de densidade baixa de urédias (Tabela 1 e Figura 4).

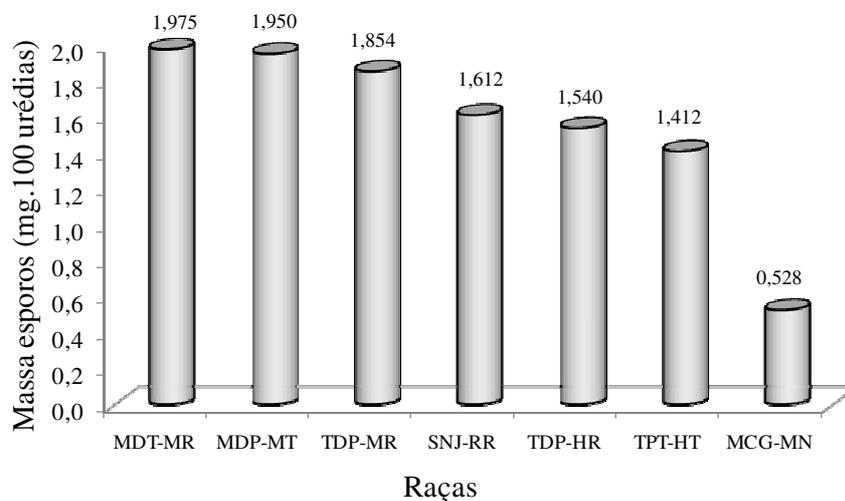


Figura 4: Massa (mg) total de esporos produzidos em cem urédias de raças de *Puccinia triticina* (coleta acumulada - doze dias de esporulação).

#### **Ensaio 4.** Tamanho de urédias

Especialmente no período inicial da doença, antes que seja instalada a via anti-horária, o tamanho das urédias pode ser importante, garantindo a maior produção de esporos no início da epidemia (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996). Entretanto, para diferentes raças de *P. triticina* talvez esta relação não seja direta, podendo ser observado, por exemplo, que o tamanho médio das urédias da raça MCG-MN é relativamente grande enquanto que a produção diária de esporos é baixa (Figuras 2 e 4).

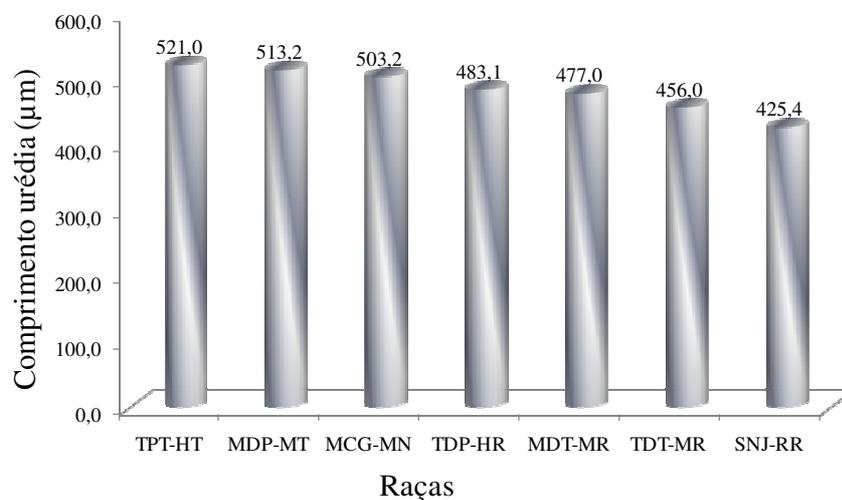


Figura 5: Tamanho (μm) médio das urédias medidas no sentido do comprimento de raças de *Puccinia triticina*.

Observando as demais raças verifica-se que TPT-HT, tamanho maior de urédia e, SNJ-RR, tamanho menor, correspondem a expectativa de maior e menor produção de esporos, respectivamente (Figura 2 e 4). Com isso, ficou claro que não foi possível generalizar, lesões maiores nem sempre originaram maior produção de esporos.

**Ensaio 5.** Ação preventiva dos fungicidas tebuconazol e azoxistrobina para as raças MCG-MN (B34) e MDK-MR (B55 4002S) (B55 predominante desde 2005 e com alteração de virulência 4002S, desde 2007).

Foi testada também a capacidade das raças MCG-MN e MDK-MR 4002S de causar infecção em tecidos protegidos pelos fungicidas tebuconazol e azoxistrobina (Tabela 2).

Tabela 2: Controle (%) dias após a aplicação preventiva de tebuconazol (750 mL.ha<sup>-1</sup>) e azoxistrobina (250mL.ha<sup>-1</sup>) (aplicações preventivas) para as raças MDK-MR (B55 4002S) e MCG-MN (B34)

Dias após aplicação fungicida	MDK-MR (B55 4002S)		MCG-MN (B34)	
	Tebuconazol	Azoxistrobina	Tebuconazol	Azoxistrobina
	%	%	%	%
1	95,0 a	100,0 A	100,0 a	100,0 a
4	20,6 b	100,0 A	100,0 a	100,0 a
7	15,9 b	100,0 A	100,0 a	100,0 a
9	15,2 b	55,0 B	28,8 b	34,0 b
14	4,7 b	20,0 C	27,7 b	33,8 b
18	3,6 b	0,0 C	20,6 b	24,3 b
Médias	25,8	62,5	62,8	65,3
C.V.%	25,2	26,12	18,5	27,3

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Dados reais apresentados na tabela, mas transformados ( $\sqrt{x+10}$ ) para a análise estatística.

O fungicida tebuconazol quatro dias após a aplicação controlou somente 20,6% da formação de urédias para a raça MDK-MR (B55 4002S), enquanto que para a raça MCG-MN este mesmo percentual de controle só foi encontrado 18 dias após a aplicação do fungicida (Tabela 2).

O fungicida azoxistrobina proporcionou controle de 100% até sete dias após a aplicação para ambas as raças e, perdeu a eficiência 18 dias após a aplicação para a raça MDK-MR (B55 4002S), sendo que, neste mesmo período, o controle da doença para a raça MCG-MN foi de 24,3% (Tabela 2).

Observa-se que os fungicidas azoxistrobina e tebuconazol apresentaram eficiências semelhantes para a raça MCG-MN e que o fungicida tebuconazol proporcionou eficiência reduzida em relação a azoxistrobina para a raça MDK-MR (B55 4002S) corroborando com

os resultados de redução de sensibilidade ao fungicida tebuconazol para esta raça encontrados por Arduim et al. (2009).

**Ensaio 6.** Ação curativa dos fungicidas tebuconazol e azoxistrobina para as raças MCG-MN (B34) e MDK-MR (B55 4002S).

Todas as raças testadas com fungicidas triazóis (tebuconazol, ciproconazol e protioconazol) e estrobilurinas (azoxistrobina e piraclostrobina) (Capítulo 2) foram avaliadas (neste capítulo) quanto a componentes da agressividade. As duas raças que se comportaram como sensíveis aos fungicidas, SNJ-RR e MCG-MN, mostraram também menor produção de esporos.dia<sup>-1</sup>, massa de esporos (MCG-MN), no tamanho médio de urédias (SNJ-RR) e no período de latência mais longo, assim como a formação de urédias secundárias.

Para duas raças com agressividades diferentes e reação de sensibilidade distintas aos triazóis (MDK-MR - B55 4002S = sensibilidade reduzida aos triazóis; MCG-MN - B34 = sensível) (ARDUIM et al., 2009), estudou-se o efeito curativo dos fungicidas tebuconazol (triazol) e azoxistrobina (estrobilurina).

O fungicida tebuconazol (750mL.ha<sup>-1</sup> produto comercial), controlou todas as infecções latentes de até cinco dias da raça MDK-MR (B55 4002S), 86,6% das infecções de seis dias e, quando as infecções latentes tinham sete dias, este controlou em torno de 30%. Na raça MDK-MR (B55 4002S) o tebuconazol controlou 100% das urédias em infecções latentes de até quatro dias, 56,5% em infecções latentes de cinco dias e foi ineficiente no controle de infecções

latentes de seis e sete dias (Tabela 3). Estes resultados evidenciam a redução da sensibilidade da raça MDK-MR (B55 4002S) ao fungicida tebuconazol.

O fungicida azoxistrobina (250mL.ha<sup>-1</sup> produto comercial) foi capaz de controlar totalmente infecções latentes de até sete dias para as duas raças de *P. triticina* (Tabela 3). Resultados semelhantes foram obtidos por Vieiro (2008) em testes com a raça MDT-MR (B55) e com os fungicidas tebuconazol e a mistura piraclostrobina + epoxiconazol.

Tabela 3: Controle (%) dias após aplicações curativa de tebuconazol (750mL.ha<sup>-1</sup>) e azoxistrobina (250mL.ha<sup>-1</sup>) sob infecções latentes (dias após a inoculação), das raças MDK-MR (B55 4002S) e MCG-MN (B34)

Dias após inoculação	MDK-MR (B55 4002S)		MCG-MN (B34)	
	Tebuconazol	Azoxistrobina	Tebuconazo 1	Azoxistrobina
1	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
2	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
3	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
4	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
5	56,5 b	100,0 a	100,0 a	100,0 a
6	8,2 c	100,0 a	86,5 a	100,0 a
7	6,3 c	100,0 a	29,6 b	100,0 a
Médias	66,0	100,0	88,2	100,0
C.V.%	6,7	0,0	9,0	0,0

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

#### 4 CONCLUSÕES

Existem diferenças significativas entre as raças em relação aos componentes da agressividade avaliados.

As raças SNJ-RR e MCG-MN foram as menos agressivas, desfavorecidas em relação às demais na capacidade de esporulação.

As demais raças, TDP-MR, TDP-HR, TPT-HT, M(F)DP-MT(R) (B58 4002S) e MDK-MR (B55 4002S) avaliadas são mais agressivas em diferentes níveis, apresentando condições de competitividade e de adaptação.

As raças que apresentam redução da sensibilidade aos triazóis, M(F)DP-MT(R) B58 4002S), MDK-MR (B55 4002S) e TDP-HR, em geral, apresentaram maior agressividade e competitividade na geração de descendentes.

## CAPÍTULO 5

### EFEITOS DA LUZ, TEMPERATURA E TEMPO DE EXPOSIÇÃO NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE *Puccinia triticina*

VÂNIA BIANCHIN<sup>1</sup>, ERLEI MELO REIS<sup>2</sup>, AMARILIS LABES BARCELLOS<sup>3</sup> E CAMILA TURRA<sup>4</sup>

**RESUMO** – O fungo causador da ferrugem da folha do trigo, *Puccinia triticina*, tem ampla adaptação às condições de ambiente, especialmente, em relação à temperatura. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da temperatura, da luz e do tempo na germinação dos esporos, determinar a temperatura ótima para germinação e verificar se existem diferenças entre a raça e MDK-MR (B55 4002S) e MCG-MN (B34) quanto as condições para germinação dos esporos. O efeito da luz foi mais pronunciado na raça MCG-MN e, para ambas as raças, em condição de escuro, a temperatura ótima foi mais alta. A raça MDK-MR 4002S tem amplitude térmica maior para germinação dos esporos que a raça MCG-MN. A temperatura ótima para a

---

<sup>1</sup>Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>., doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), Área de Concentração em Fitopatologia.

<sup>2</sup>Orientador, Eng.-Agr., Ph.D. em Fitopatologia, professor do PPGAgro e FAMV da UPF.

<sup>3</sup>Co-orientadora, Eng<sup>a</sup>.-Agr<sup>a</sup>, Doutora em Genética e Biologia Molecular, pesquisadora, OR Melhoramento de Sementes Ltda.

<sup>4</sup>Bióloga, OR Melhoramento de Sementes Ltda.

germinação dos esporos em presença de luz para a raça MDK-MR 4002S foi de 18,5°C e em ausência de luz foi de 8,9°C, enquanto que para MCG-MN foi de 16,2°C e 10,8°C, respectivamente.

**Palavras-chave:** condições de ambiente, *Triticum aestivum* , raças.

**EFFECT OF LIGHT, TEMPERATURE AND EXPOSURE  
TIME ON GERMINATION OF *Puccinia triticina* SPORES**

**VÂNIA BIANCHIN, ERLEI MELO REIS, AMARILIS LABES  
BARCELLOS E CAMILA TURRA**

**ABSTRACT** – The fungus causal agent of wheat leaf rust, *Puccinia triticina*, is highly adaptable to environmental conditions, especially in relation to temperature, this may explain its worldwide distribution. This work has the objective to assess the influence of temperature, light and exposure time on spores germination, and to verify the differences in behavior between race MDK MR (4002S B55) and MCG-MN (B34 ). The light effect was more pronounced in the race and B34. For both races, in dark condition, the optimum temperature was higher. Race 4002S B55 has higher temperature range for spore germination than race B34. The optimum temperature for spores germination in the presence of light for race B55 4002S was 18.5°C, in the absence of light was 8.9°C, while for B34 was 16.2°C and 10.8°C, respectively.

**Keywords:** Environmental conditions, *Triticum aestivum*, races.

## 1 INTRODUÇÃO

Dos cinco tipos de esporos que o fungo *Puccinia triticina* Eriks. produz, dois deles são infectivos ao trigo os aeciosporos e uredosporos. A produção de aeciosporos é restrita aos locais onde a ferrugem apresenta ciclo completo. Contudo, o ciclo só se completa com a presença, na natureza, dos hospedeiros intermediários, onde ocorre a fase sexual do patógeno. Em poucos locais do mundo se observa a ocorrência da fase sexual em *P. triticina*. É encontrada, raramente, na América do Norte em *Thalictrum* spp. (LEVINE & HILDRETH, 1957), no Sul da Europa em *Thalictrum speciosissimum* (YOUNG & D'OLIVEIRA, 1982) e infecções em *Isopyrum fumaroides* são restritas a uma região específica da Sibéria.

Mesmo nas regiões onde há a produção de aeciosporos, eles não apresentam grande importância no desenvolvimento das epidemias, isto porque os uredosporos são produzidos em maior quantidade em plantas voluntárias de trigo e servem, assim como os aeciosporos, de inóculo inicial nas lavouras. Entretanto, os uredosporos gerados das infecções iniciais são capazes de infectar novos sítios em folhas de trigo, resultando em inúmeros ciclos secundários, responsáveis pelo crescimento da doença. Desta forma, pode-se afirmar que os esporos de importância para as epidemias desenvolvidas em cultivos de todo o mundo são os esporos produzidos assexuadamente, os uredosporos (BOLTON et al., 2008).

O fungo causador da ferrugem da folha do trigo tem ampla adaptação em relação às condições ambientais, sobrevivendo em todos

os ambientes propícios ao hospedeiro. Para causar infecção, o fungo necessita 3 horas de molhamento com temperaturas em torno de 20°C. Entretanto causa maior número de infecções quando o período de molhamento é maior. Em temperaturas mais baixas esse período deve ser ainda mais extenso sendo, por exemplo, necessárias 12 horas de molhamento quando a temperatura for de 10°C. Poucas, ou nenhuma infecção é produzida quando as temperaturas são superiores a 32°C ou inferiores a 2°C. A luz é outro fator que interfere negativamente a germinação e a formação do apressório, mas não tem influência sob a penetração e exerce influência positiva sobre a colonização e esporulação (ROELFS et al., 1992).

Teve-se por objetivo determinar as condições de ambiente (luz, temperatura e tempo) ideais para a germinação de uredosporos de *P. triticina in vitro* e verificar se existem diferenças daqueles fatores na germinação entre MCG-MN (B34) e MDK-MR 4002S (B55 4002S), raça predominante desde 2005.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Ferrugens da OR Melhoramento de Sementes Ltda e no Laboratório de Fitopatologia - Micologia da Universidade de Passo Fundo – UPF, em Passo Fundo, RS no ano de 2009.

Para os efeitos de luz, tempo de exposição e temperatura na germinação dos esporos foram utilizadas duas raças: MCG-MN (B34) e MDK-MR (B55 4002S).

A multiplicação do inóculo foi realizada nas dependências da OR Melhoramento de Sementes Ltda. As plantas foram aspergidas com uredosporos suspensos em óleo mineral Soltrol através de atomizador com pressão gerada por ar comprimido. Na seqüência, pulverizou-se água e Tween 20 (Polioxietilenosorbitano monolaurato – Synth - 4 gotas por litro) até o ponto anterior ao escorrimento.

Para a incubação, as plantas foram mantidas por 24 horas em câmara úmida sem luz, umidade relativa de 100% e temperatura de  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Posterior ao período de incubação, as plantas foram transferidas para casa-de-vegetação.

Os experimentos foram conduzidos em câmaras do tipo BODs, com luz e temperatura controladas. Para verificação da germinação dos esporos, utilizou-se o meio de cultura extrato de folha de trigo – ágar que apresentou o melhor desempenho na germinação dos esporos de *P. triticina* segundo Reis & Richter (2007).

A condição de escuro foi obtida através de um envoltório duplo das placas em papel alumínio. Foram testados ainda tempos para germinação de 3, 6, 10 e 24 horas e, temperaturas de -5,5, -1, 0, 12, 17, 30, 31, 33, 38 e  $40^{\circ}\text{C}$  no experimento 1 e, 0, 10, 20, 30 e  $40^{\circ}\text{C}$  no experimento 2. No final de cada tempo as placas foram retiradas das câmaras e, objetivando paralisar a germinação dos esporos, foi dispensado em cada placa 0,5mL de uma solução contendo acetona + corante azul (corante de alimentos). As placas foram armazenadas a  $4^{\circ}\text{C}$  por um mês, tempo necessário para finalizar as avaliações de esporos germinados e não germinados. Foram observados 50 esporos

por placa (unidade experimental) em quatro placas (quatro repetições), sob microscópio com aumento de 100 vezes.

Os dados foram submetidos à análise da regressão, gerando polinômios de segundo grau que foram resolvidos a partir da fórmula de báscara ( $-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}/2a$ ), encontrando-se os valores de x (onde a curva toca o eixo do x) e a partir destes valores a temperatura ótima e o percentual esperado de germinação dos esporos.

As médias dos tempos para germinação dos esporos foram comparadas por Tukey a 5% de probabilidade de erro com o uso do software Costat.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na média, a presença da luz inibiu a germinação dos esporos tanto para a raça MCG-MN (B34) como para MDK-MR (B55 4002S).

A germinação média dos uredosporos da raça MCG-MN (B34) foi influenciada negativamente pela luz em maior proporção que a raça MDK-MR (B55 4002S). Este é provavelmente um dos fatores que contribuem para maior adaptação da última (Tabela 1).

Para *Puccinia graminis* Pers. f.sp. *tritici* Erks., foi observado o mesmo comportamento de inibição da germinação de uredosporos em presença da luz e, também, a influência diferenciada da luz na diferentes comprimentos de onda, mostrando que a qualidade de luz deve ser observada em trabalhos de germinação de uredosporos (dados não mensurados no presente trabalho) (LUCAS et. al., 1975).

Para *Puccinia substriata* var. *penicillariae* Speg. foi comprovada também a inibição da germinação de uredosporos em presença de luz, na ordem de aproximadamente 30% (COSTA et al., 2007), mostrando que esta é uma característica inerente aos fungos causadores de ferrugem.

A temperatura age de forma decisiva na germinação dos esporos, de modo geral, sendo as diferenças de germinação dos esporos entre os tempos (3, 6, 10 e 24 horas) maiores nas temperaturas mais favoráveis que nas temperaturas menos favoráveis (Figuras 1, 2, 3, 4 (a e b)). O maior tempo para germinação não foi capaz de compensar a condição desfavorável proporcionada pelas temperaturas extremas.

A ferrugem da folha do trigo, *P. triticina*, é adaptada a uma grande amplitude térmica (ROELFS, 1992). A raça MDK-MR (B55 4002S), quando em condição de escuro apresentou em torno de 30% de germinação dos esporos em temperatura de  $-5,5^{\circ}\text{C}$  e de 40 a 50% em temperatura de  $-1^{\circ}\text{C}$  (Figura 3a), enquanto que a raça MCG-MN (B34) também em condição de escuro não apresenta germinação a  $-5,5^{\circ}\text{C}$  e a  $-1^{\circ}\text{C}$  varia de 0 a 20% de germinação (Figura 3b). Este mesmo comportamento foi observado nas temperaturas maiores de  $33^{\circ}\text{C}$ . A partir desse fato se pode inferir que existem diferenças de amplitude térmica para germinação de esporos entre as raças e que, B55 4002S suporta maior faixa de temperatura. A germinação de uredosporos adaptada a uma vasta gama de temperaturas explica parcialmente a distribuição mundial do fungo *P. triticina* em detrimento, por exemplo, da *Puccinia striiformis* Westend. que requer

temperaturas mais baixas e possui amplitude térmica limitada para germinação e infecção (VALLAVIEILLE-POPE et al., 1994).

A maior amplitude térmica de uma raça em relação à outra tem valor por ser fator de melhor adaptação a diferentes ambientes, entretanto, na prática não se traduz em vantagens na infecção, uma vez que as condições extremas não são favoráveis para o hospedeiro.

Na média dos tratamentos o tempo de três horas foi o que resultou em menor percentual de germinação e o tempo de 24 horas o maior percentual, com exceção da raça MDK-MR (B55 4002S) na ausência de luz que não diferiu para nenhum dos tempos testados (tabela 1). Foi possível observar que a germinação é uma característica que possui alta variação (Tabela 1). Acredita-se que a variação observada se deva principalmente a umidade relativa do ar, fator variável entre as coletas (dados não mensurados).

Com as equações de regressão geradas foi possível calcular a temperatura ótima para cada uma das raças estudadas na presença e ausência de luz e ainda a temperatura ótima para cada tempo estabelecido para a germinação. A partir da temperatura ótima também foi possível calcular o percentual esperado de germinação de esporos (Tabela 2 e 3).

Verifica-se que para ambas as raças a média da temperatura ótima na presença de luz foi superior que na ausência. Esta diferença foi mais pronunciada na raça B55 4002S variando de 9 a 12°C. Na raça B34 a diferença varia em torno de 2 a 9°C em média (Tabela 2 e 3).

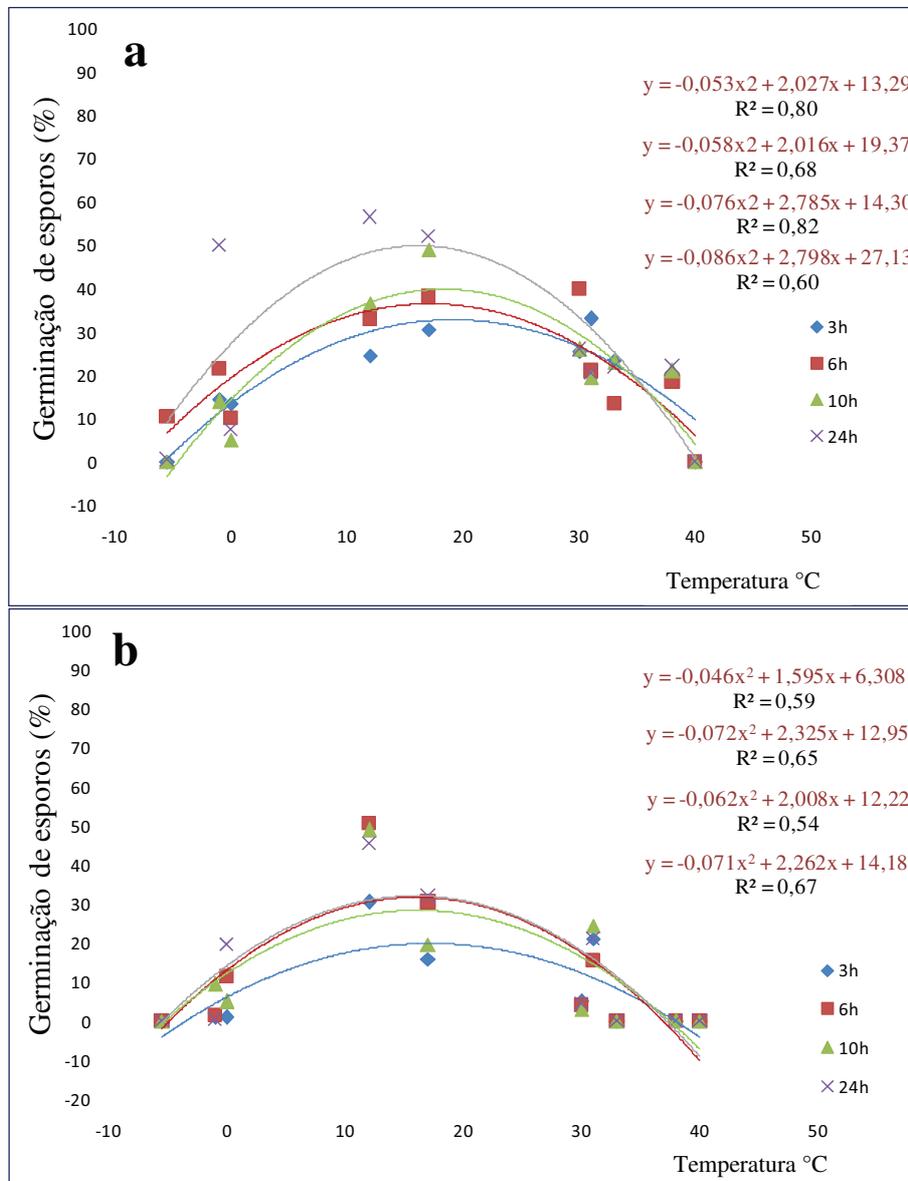


Figura 1: Germinação (%) de uredosporos de *Puccinia triticina* na presença de luz, experimento 1; a) MDK-MR 4002S (B55 4002S); b) MCG-MN. ( $p > 0,05$ )

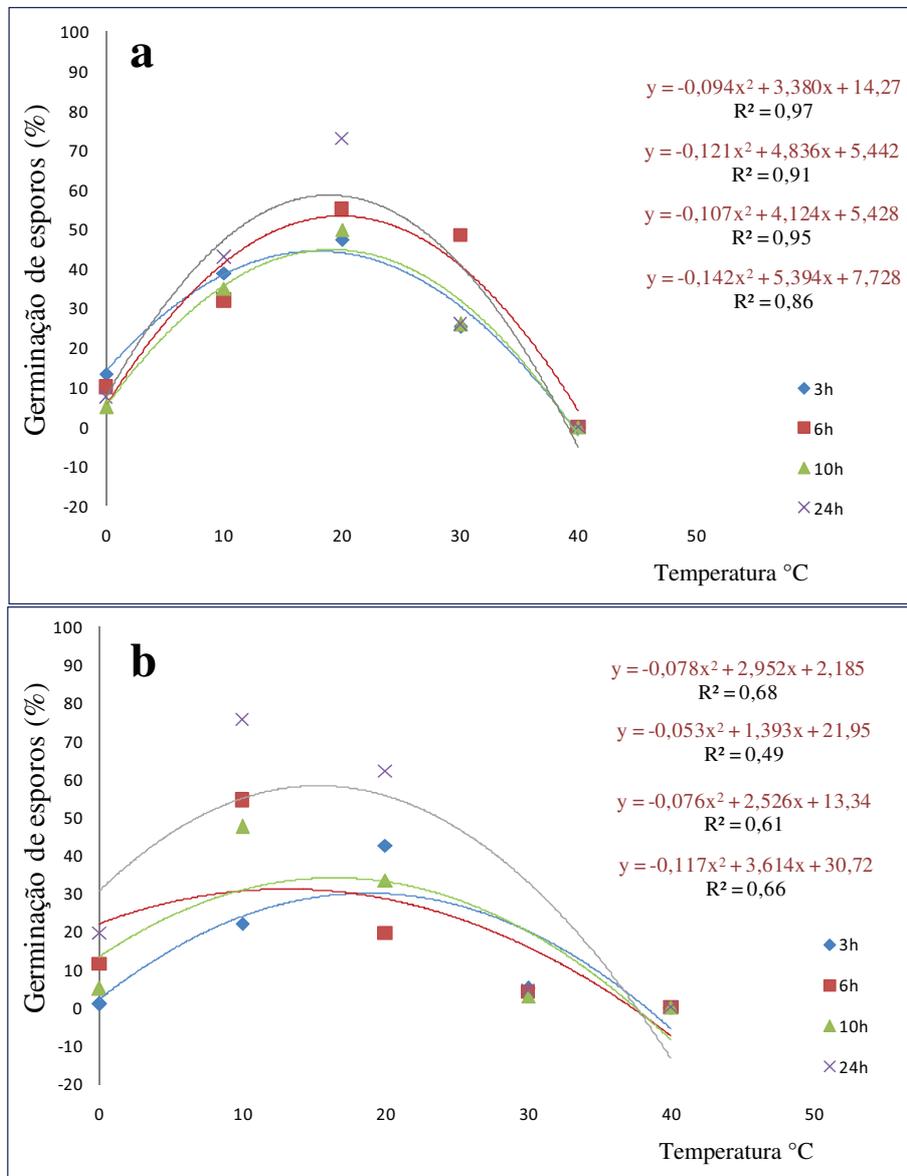


Figura 2: Germinação (%) de uredosporos de *Puccinia triticina* na presença de luz, experimento 2; a) MDK-MR 4002S (B55 4002S); b) MCG-MN. ( $p > 0,05$ )

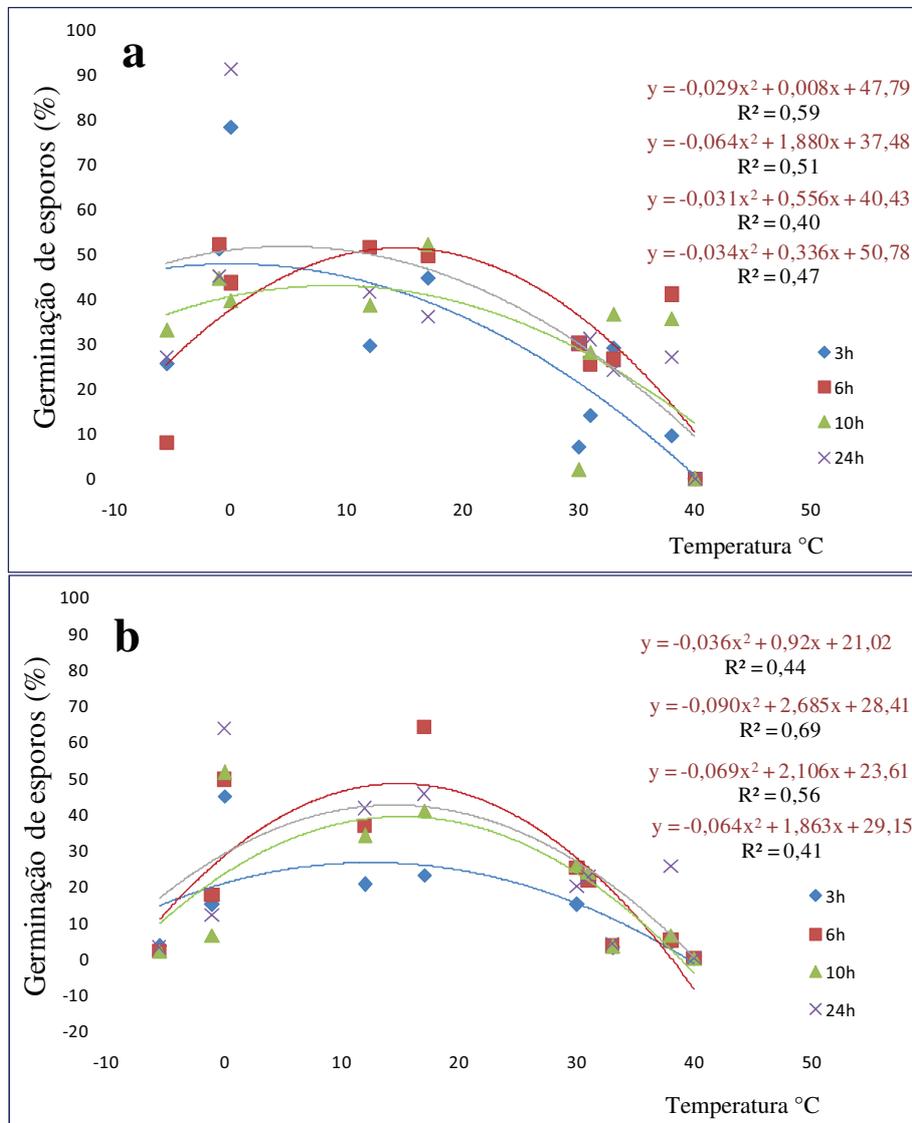


Figura 3: Germinação (%) de uredosporos de *Puccinia triticina* na ausência de luz, experimento 1; a) MDK-MR 4002S (B55 4002S); b) MCG-MN. ( $p > 0,05$ )

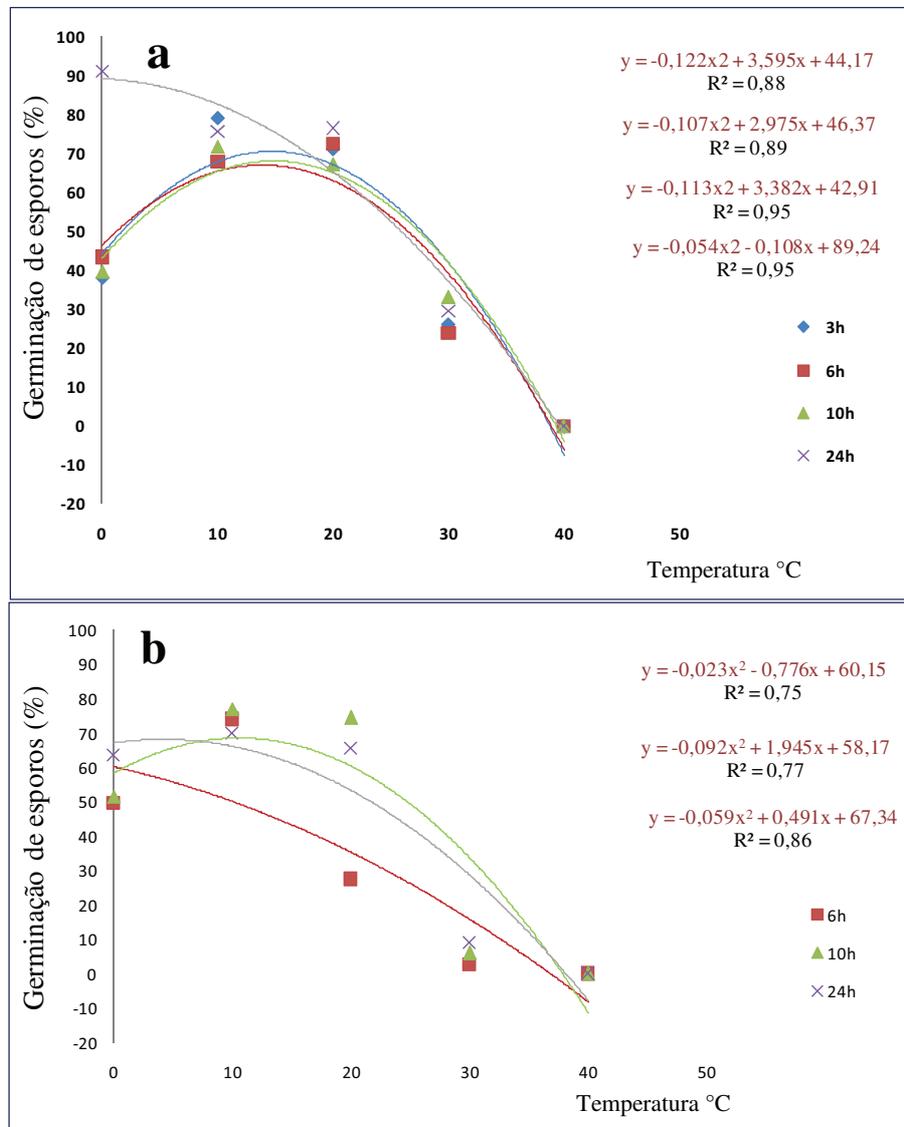


Figura 4: Germinação (%) de uredosporos de *Puccinia triticina* na ausência de luz, experimento 2; a) MDK-MR 4002S (B55 4002S); b) MCG-MN. ( $p > 0,05$ )

Tabela 1: Germinação (%) de esporos na presença e ausência de luz, nos tempos 3, 6, 10 e 24 horas para as raças MCG-MN (B34) e MDK-MR (B55 4002S). Experimento 1 (temperaturas de -5,5, -1, 0, 12, 17, 30, 31, 33, 38 e 40°C) e experimento 2 (temperaturas de 0, 10, 20, 30 e 40°C)

Tempos exposição (h)	MDK-MR (B55 4002S)						MCG-MN (B34)									
	Luz			Escuro			Luz			Escuro						
	Experimento1	Experimento2	Experimento1	Experimento1	Experimento1	Experimento2	Experimento1	Experimento2	Experimento1	Experimento1	Experimento2	Experimento1	Experimento2			
3	18,5 b	42,8 b	28,8 a	25,1 a	7,4 b	14,1 b	15,1 b	19,6 c	11,1 a	17,9 b	19,5 ab	30,7 b	11,3 a	17,8 b	22,4 a	41,8 a
6	20,6 b	41,7 b	32,7 a	29,1 a	11,1 a	17,9 b	19,5 ab	30,7 b	11,3 a	17,8 b	22,4 a	41,8 a	12,6 a	32,3 a	23,7 a	41,6 ab
10	19,4 b	33,4 c	30,9 a	23,2 a	11,3 a	17,8 b	22,4 a	41,8 a	12,6 a	32,3 a	23,7 a	41,6 ab	10,6	20,5	20,2	33,4
24	25,7 a	54,5 a	35,2 a	29,9 a	10,6	20,5	20,2	33,4	64,7	58,9	56,0	22,3	64,7	58,9	56,0	22,3
Médias	21,0	43,1	31,9	26,8	10,6	20,5	20,2	33,4	64,7	58,9	56,0	22,3	64,7	58,9	56,0	22,3
C.V.%	40,65	61,28	34,79	39,7	64,7	58,9	56,0	22,3	64,7	58,9	56,0	22,3	64,7	58,9	56,0	22,3

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 2: Estimativa da temperatura ótima (°C) para germinação dos esporos e percentual estimado para a raça MDK-MR (B55 4002S) de *Puccinia triticina* em diferentes tempos e condição de presença e ausência de luz

Tempos exposição (h)	Luz						Escuro					
	Experimento 1			Experimento 2			Experimento 1			Experimento 2		
	Temperatura ótima	Germinação esporos estimado										
3	19,12	32,67	17,98	44,65	0,16	47,79	14,71	70,65	0,16	47,79	14,71	70,65
6	17,38	36,88	19,98	53,76	14,69	51,29	13,90	67,05	14,69	51,29	13,90	67,05
10	18,32	39,81	19,27	45,16	8,96	42,92	14,96	68,21	8,96	42,92	14,96	68,21
24	16,26	49,88	19,40	58,93	4,94	51,61	-1,00	89,40	4,94	51,61	-1,00	89,40
Média	17,77	39,81	19,16	50,62	7,19	48,40	10,64	73,83	7,19	48,40	10,64	73,83
Média temperatura ótima	18,5						8,9					

Tabela 3: Estimativa da temperatura ótima (°C) para germinação dos esporos e percentual estimado para a raça MCG-MIN (B34) de *Puccinia triticina* em diferentes tempos e condição de presença e ausência de luz

Tempos exposição (h)	Luz						Escuro					
	Experimento 1			Experimento 2			Experimento 1			Experimento 2		
	Temperatura ótima	Germinação esporos estimado										
3	17,34	20,13	18,92	30,11	12,78	26,90	-	-	-	-	-	-
6	16,14	31,72	13,14	31,10	14,91	48,43	6,96	60,54	6,96	60,54	6,96	60,54
10	16,19	28,48	16,61	34,33	15,26	39,68	10,57	68,45	10,57	68,45	10,57	68,45
24	15,93	32,20	15,44	58,63	14,55	42,71	4,16	68,36	4,16	68,36	4,16	68,36
Média	16,40	28,13	16,03	38,54	14,37	39,43	7,23	65,78	7,23	65,78	7,23	65,78
Média temperatura ótima	16,2						10,8					

(-) Dados ausentes

#### **4 CONCLUSÕES**

A luz influencia mais na germinação dos esporos da raça MCG-MN (B34) do que a MDK-MR (B55 4002S).

A raça MDK-MR (B55 4002S) apresenta amplitude térmica maior para a germinação dos esporos do que a raça MCG-MN (B34).

A temperatura ótima apresentada pelas duas raças é menor quando em condição de ausência de luz.

## CONCLUSÕES GERAIS

A sensibilidade das raças de *Puccinia triticina* aos fungicidas triazóis é variável, desde raças sensíveis a raças com redução da sensibilidade. A característica sensível a fungicidas não se altera em curto espaço de tempo como durante um ciclo de cultivo de trigo. Os fungicidas triazóis e estrobilurinas não têm ação de contato no controle deste patógeno.

As raças também são diferentes quanto a fatores epidemiológicos e de adaptação, algumas raças são mais adaptadas e possuem maior probabilidade de causar epidemias que outras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. *Plant Pathology*. San Diego. Academic Press. 5 ed. 2005. p. 922.

ANIKSTER, Y.; BUSHNELL, W.R.; MANISTERSKI, J.; ROELFS, A.P. *Puccinia recondita* causing leaf rust on cultivated wheats, wild wheats and rye. *Can. J. Bot.*, v.75, p. 2082-2096. 1997.

ARDUIM, G. *Sensibilidade de raças de Puccinia triticina a fungicidas*. 2009. Tese (doutorado em Agronomia/Fitopatologia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2009.

ARDUIM, G. S.; REIS, E. M.; BARCELLOS, A. L. Sensibilidade de raças de *Puccinia triticina* a fungicidas. *Tropical Plant Pathology* 00:00-000. 2009 (no prelo).

BARCELLOS, A.L. As ferrugens do trigo no Brasil. In: Fundação Cargill, Campinas, SP. *Trigo no Brasil*. Campinas, 1982, v.2, p. 375-419.

BARCELLOS, A.L. Ferrugem da folha do trigo no Brasil em 1984 e 1985 – Ocorrência e virulência. In: Resultados de pesquisa do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo apresentados na XIV Reunião Nacional de Pesquisa de Trigo – RENAPET, Londrina, 1986. P. 117-134.

BARCELLOS, A.L.; IGNACZAC, J.C. Efeito da ferrugem da folha em diferentes estádios de desenvolvimento do trigo. In: Reunião Anual Conjunta de Pesquisa de Trigo, 10, Porto Alegre, 1978.

BARCELLOS, A.L.; ROELFS A.P.; MORAES-FERNANDES, M.I.B. Inheritance of adult plant leaf rust resistance in the Brazilian wheat cultivar Toropi. *Plant Dis*, v.84, p. 90-93. 2000.

BARTLETT, D.W.; CLOUGH, J.M.; GODWIN, J.R.; HALL, A.A.; HAMER, M.; PARR-DOBRZANSKI, B. The strobilurin fungicides. *Pest management Science*. V.58, 649-662. 2002.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. *Doenças de plantas tropicais*. Epidemiologia e controle econômico. Ceres, São Paulo. 1996.

BOLTON, M.D.; KOLMER, J.A.; GARVIN, D.F. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. *Molecular Plant Pathology*. v.9, n.5, p. 563-575. 2008.

BRAMMER, S.P.; MORAES-FERNANDES, M.I.B.; BARCELLOS, A.L.; MILACH, S.C.K. Genetic analysis of adult-plant resistance to leaf rust in a double haploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.) population. *Genet Mol Biol*, v. 27, p. 432-436. 2004.

BRENT, K.J. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? Brussels: FRAC Monograph 1, 1995.

BRENT, K.J.; HOLLOWAY, D.W. Fungicide resistance: the assessment of risk. Brussels: FRAC Monograph 2, 2 ed. Revised, 2007.

BUSHNELL, W.R. Structural and physiological alterations in susceptible host tissue. In: BUSHNELL, W.R.; ROELFS, A.P. *The cereal rusts – origins, specificity, structure and physiology*. Academic Press. v.1,1984. P. 477-500.

CENOZ, H. Primeira reunion imunologica de cereales da region sudeste de America Del Sul. *Robigo*, v.12, p. 14-16, 1961.

CHAVES, M.S. & BARCELLOS, A.L. Especialização fisiológica de *Puccinia triticina* no Brasil em 2002. *Fitopatologia Brasileira* 31:057-062. 2006.

CHESTER, K.S. The nature and prevention of the cereal rusts as exemplified in the rust of wheat. *Chronica Botanica*, Waltham. 1946. P.269.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. *Acompanhamento da Safra Brasileira, safra 2010/2011, quinto*

*levantamento, 2011*. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acessado em: 20 fev. 2011.

COSTA, A.C.T.; CARVALHO, A.O.; SOARES, D.J.; CARMO, M.G.F.; PIMENTEL, C. Condições de ambiente favoráveis à germinação e à infecção de *Puccinia substriata* var. *penicillariae* em diferentes cultivares de milho pérola. *Fitopatologia Brasileira*, v.32, n.5, p. 400-407, 2007.

COSTA, C.; CASTOLDI, F.L. *CoStat, um programa para quem pensa que não gosta de estatística*. Editora UPF. 2009. p. 384.

CUMMINS, G.B.; CALDWELL, R.M. The validity of binomial in the leaf rust fungus complex of cereal and grasses. *Phytopathology*. V.46, p. 81-82. 1956.

CUMMINS, G.B.; HIRATSUKA, Y. Illustrated genera of rust fungi. Revised. The American Phytopathological Society of Minnesota USA. 2003. 225p.

CUNHA, G. R. *Trigo no Rio Grande do Sul: produzindo competitividade – opiniões*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1999. 60 p. (Documentos, 11).

DEKKER, J. Developmente of resistance to modern fungicides and strategies for its avoidance. In: Lyr, H. (ed.) *Modern selective fungicides: properties, applications, mechanisms of action*. 2. ed. New York: Gustav Fischer. p. 23-38. 1995.

DELP, C.J. *Fungicide resistance in North America*. St. Paul: APS Press, 1988. 133p.

DEMICHELLIS, M.; VANZETTI, L.; BAINOTTI, C.; CAMPOS, P. Identificación de genes *Lr* presentes em germoplasma argentino de trigo hexaploide (*Triticum aestivum* L.), mediante técnicas moleculares. In: VII Congreso Nacional de Trigo, 2008, Santa Rosa, La Pampa, Argentina. INTA/Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa. 2008.

FLOR H.H. Current status of the gene-for-gene concept. *Annu Rev Phytopathol*, v.9, p. 275-296. 1971.

FORCELINI, C.A.; GOELLNER, C.I. e MIO, L.L.M. Resistência de fungos a fungicidas. In: Revisão Anual de Patologia de Plantas, 2001. Associação 9, p. 339-381.

FRAC. FRAC methods for monitoring fungicides resistance. EPPO Bulletin 21:291-354. 1991.

FRAC. FRAC methods for monitoring the sensitivity of fungal pathogens to phenylamide fungicides. EPPO Bulletin 22:297-322. 1992.

GERMÁN, S.; CHAVES, M.; CAMPOS, P.; VIEDMA, L.; MADARIAGA, R. Are rust pathogens under control in the Southern Cone of South America? In: Technical Workshop – Borlaug Global Rust Initiative (BGRI). Obregon, México, 2009. p. 65-73. 2009.

GHINI, R.; KIMATI, H. *Resistência de fungos a fungicidas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000, 78p.

GHINI, R.; VENDITE, L.L.; PETRUCCI, A.A. Dosagens de fungicidas: avaliação de seus efeitos na resistência de fungos, através de um modelo matemático. *Fitopatologia Brasileira*: v. 19, p. 514-519, 1994.

HEWITT, H.G. *Fungicide in crop protection*. CAB Internacional, P. 87-153. 1998.

HORSFALL, J.G. *Principles of fungicidal action*. Waltham. Chronica Botanica Company, 1957. 279p.

INFORMAÇÕES TÉCNICAS PARA A SAFRA 2008: TRIGO E TRITICALE – I Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2008. 147p.

INFORMAÇÕES TÉCNICAS PARA TRIGO E TRITICALE – SAFRA 2011. IV Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale. Cascavel, PR: COODETEC, 2010. 170p.

KIMATI, H. Resistência de fitopatógenos a substâncias químicas usadas no controle de doenças de plantas. In: Congresso Paulista de Fitopatologia, 10. 1987, Piracicaba, SP. Summa Phytopathologica, v.13, n.1/2, p.72-74, 1987.

KNEZEVIC, S.Z.; STREIBIG, J.C.; RITZ, C. Utilizing R Software Package for Dose-Response Studies: The Concept and Data Analysis. Weed Technology, 2007 21:840-848.

LEVINE, M.; HILDRETH, R.C. A natural occurrence of the aecial stage of *Puccinia rubigo-vera* var. *tritici* in the United States. *Phytopathology*, v.47, p. 110-111. 1957.

LONG, D. L. and KOLMER, J. A. A North American System of Nomenclature for *Puccinia triticina*. *Phytopathology* 79:525-529, 1989.

LUCAS, J.A.; KENDRICK, R.E.; GIVAN, C.V. Photocontrol of Fungal Spore Germination. *Plant Physiology*, v.56, p.847-849. 1975.

MAUDE, R.B. Seedborne diseases and the control principles and practice. Oxon: CAB Internacional, 1996. p. 70-88

MCINTOSH, R. A.; WELLINGS, C. R.; PARK, R. F. Methodologies in wheat rust diseases. In: Wheat Rusts an atlas of resistance genes. CSIRO, Australia. p. 7-20. 1995.

MEDEIROS, M.C.; BARCELLOS, A.L. Ferrugem da folha do trigo - ocorrência e distribuição geográfica de raças fisiológicas, no período de 1990 a 1993, no Brasil. In: XVII Reunião Nacional de Pesquisa de Trigo – RENAPET, Embrapa cnpt. Passo Fundo, 1994 - Resumos. P. 84.

METHA, Y.R.; ZADOKS, J.C. Uredospore production and sporulation period of *Puccinia recondita* f. sp. *tritricina* on primary leaves of wheat. *Neth. J. Plant Path*, v.76, p. 267-276. 1970.

REIS, E.M. *Doenças do trigo V: Ferrugens*. São Paulo, 1991. 20p.

REIS, E.M.; CASA, R.T. Doenças dos cereais de inverno – diagnose, epidemiologia e controle. Lages, 2007. 176 p.

REIS, E.M.; DANELLI, A.L.D.; BIANCHIN, V. Ciclo da ferrugem da folha do trigo. *Revista Plantio Direto*, setembro de 2009.

REIS, E. M.; FORCELINI, C. A.; REIS, A. C. *Manual de Fungicidas – Guia para o Controle Químico de Doenças de Plantas*. Passo Fundo: Editora UPF, 6 ed., 2010, 226 p.

REIS, E. M.; RICHTER, R. L. Efeito de substratos sobre a germinação de uredosporos e comprimento de tubos germinativos de *Puccinia triticina*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 32, n.1, p.75-78, 2007.

ROELFS, A. P. Epidemiology in North America. In: BUSHNELL, W.R.; ROELFS, A.P. *The cereal rusts – Disease, distribution, epidemiology and control*. Academic Press. v.2 ,1985. P. 403-434.

ROELFS, A. P.; SINGH, R. P. y SAARI, E. E. Las royas del trigo: Conceptos y métodos para el manejo de esas enfermedades. México, D.F.: CIMMYT. 1992. 81pp.

ROELFS, A.P. & MARTENS, J.W. An international system of nomenclature for *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*, v.78, p. 526-533, 1988.

RUSSEL, P. E. *Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management*. FRAC Monograph n° 3, Cambridge CB2 5AN, UK, s.d.

SAVILE, D.B.O. Taxonomy of the cereal rust fungi. In: BUSHNELL, W.R.; ROELFS, A.P. *The cereal rusts*, v.1 Origins, Specificity, Structures and physiology. Orlando. Academic Press. 1984. P. 79-112.

SILVA, A.R.; COELHO, E.T.; SILVA, A.V. Identificação de raças de ferrugem da folha do trigo no Brasil pelo uso de um novo grupo de variedades. *Robigo*, v.10, p. 7-12, 1960.

SILVA, A.R.; SILVA, A.V.; RINCON, R.P. *Levantamento de raças fisiológicas de Puccinia graminis tritici e Puccinia rubigo-vera tritici no Brasil*. AGROS, v.8, p. 18-32, 1955.

SINGH, R.P.; GERMAN, S.; HUERTA-ESPINO, J. Genetic control of wheat rusts in Latin America: current status and future challenge. In: Proc 15o Congreso Latinoamericano de Fitopatología, 18º Congreso Chileno de Fitopatología, 2009, Santiago, Chile. Fitopatología: libro de resúmenes. ALF, Santiago. p. 39-42. 2009.

SINGH, R.P.; HUERTA-ESPINO, J.; WILLIAM, M. Resistencia durable a roya de la hoja y roya amarilla del trigo: genética y mejoramiento en el CIMMYT. In: KOHLI, M.M.; DIAZ, M.; CASTRO, M. (eds). *Estrategias y metodologías utilizadas en el mejoramiento de trigo: un enfoque multidisciplinario*, 8-11 oct 2001, La Estanzuela, Colonia, Uruguay. CIMMYT-INIA, Montevideo, p. 109-118. 2003.

SWERTZ, C.A. Morphology of germilings of urediniosporos and its value for the identification and classification of grass rust fungi. *Studies Mycol.*, v.36, p. 1-152. 1994.

VALLAVIEILLE-POPE, C.; HUBER, L.; LÉCONTE, M.; GOYEAU, H. Comparative Effects of Temperature and Interrupted Wet Periods on Germination, Penetration, and Infection of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* and *P. striiformis* on Wheat Seedlings. *Ecology and Epidemiology*, v.85, n.4, p. 409-415, 1995.

VENANCIO, W.S. Efeitos fisiológicos de fungicidas sobre plantas. In: LUZ, W.C. et al. *Revisão anual de patologia de plantas*, 2004. V.12, p.317-341.

VIERO, V.C. *Epidemiologia comparativa entre a ferrugem asiática da soja e a ferrugem da folha do trigo*. 2008. Dissertação (mestrado em Agronomia/Fitopatologia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2008.

WILSON, M.; HENDERSON, D.M. British rust fungi. Cambridge, UK. Cambridge University Press. 1966.

YEHUDA, P.B.; EILAM, T.; MANISTERSKI, J.; SHIMONI, A.; ANIKSTER, Y. Leaf rust on *Aegilops speltoides* caused by a new forma specialis of *Puccinia triticina*. *Phytopathology*, v.94, p. 94-101. 2004.

YOUNG, H.C.; D'OLIVEIRA, Jr.Y. A further study of race populations of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Sér. Est. Agron., Lisboa, v.9, 1982. p. 37-52.

ZADOKS, J.C.; CHANG, T.T.; KONZAK, C.F. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, Oxford, v.14, n.6, p.415-421, 1974.

ZAMBINO, P.J.; SZABO, L.J. Phylogenetic relationships of selected cereal and grass rusts based on rDNA sequence analysis. *Mycologia*, v.85, p. 401-414. 1993.

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, W.S.; OLIVEIRA, S.H.F.DE Manejo da resistência de fungos a fungicidas. Viçosa, MG: UFV, DFP, 2007. 168p.

ZHUKOVSKY, P.M. Interrelation between host and parasite in their origin and beyond it. *Vestn. Moscou*, v. 4, n.6, p. 25-34. 1959.

Zhukovsky, P. M. Main gene centers of cultivated plants and their wild relatives within the territory of the U.S.S.R. *Euphytica* 14, 177-188. 1965.

ZIOGAS, B.N.; BALDWIN, B.C.; YOUNG, J.E. Alternative respiration: a biochemical mechanism of resistance to azoxystrobin (ICIA5504) in *Septoria tritici*. *Pesticide Science*, v.50, p.28-34, 1997.

ZOLDAN, S.M.; BARCELLOS, A.L. Postulation of genes (Lr) for resistance to leaf rust in Brazilian wheat cultivars. *Fitopatologia Brasileira*, v.27, p. 508-516. 2002.