

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E  
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**DISSERTAÇÃO**

**Ferrugem da Teca (*Tectona grandis* Linn F.) no  
Estado do Rio de Janeiro**

**Savana Lemes Rodrigues**

**2021**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E  
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**Ferrugem da Teca (*Tectona grandis* Linn F.) no Estado do Rio de Janeiro**

**SAVANA LEMES RODRIGUES**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Paulo Sérgio Torres Brioso**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de Concentração em Fitossanidade.

Seropédica, RJ  
Agosto de 2021

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R696f Rodrigues, Savana Lemes, 1994-  
Ferrugem da Teca (*Tectona grandis* Linn F.) no  
Estado do Rio de Janeiro / Savana Lemes  
Rodrigues. - Três Corações, 2021.  
52 f.: il.

Orientador: Paulo Sérgio Torres Bioso.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação  
em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, 2021.

1. Incidência. 2. *Olivea tectonae*. 3. PCR. 4.  
urediniósporos. I. Bioso, Paulo Sérgio Torres, 1956-  
, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. Programa de Pós-graduação em Fitossanidade e  
Biotecnologia Aplicada III. Título.

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

"This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001"


É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E BIOTECNOLOGIA  
APLICADA

SAVANA LEMES RODRIGUES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, área de Concentração em Fitossanidade.

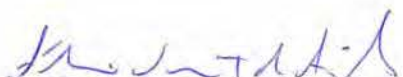
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 11/08/2021



Dr. Paulo Sérgio Torres Brioso - UFRJ  
(Orientador)



Dr<sup>a</sup>. Mônica Lau da Silva Marques - IFGoiano – Campus Ceres



Dr. Fábio Souto de Almeida - UFRJ

## DEDICATÓRICA

*Aos meus pais, Virgínia e Arildo, e à minha irmã Sarah, por terem patrocinado a minha maior herança: cultura e sabedoria.*

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, Pai Misericordioso, pela luz e pela força, pela graça que me protege, por tudo que tenho e pelo que sou, gratidão eterna!

Aos meus pais Virgínia Lemes e Arildo Rodrigues, minha irmã Sarah, meus avós Antônia e Lázaro (*in memoriam*), que mesmo distantes sempre estiveram comigo, pelo amor incondicional, por serem a estrutura que me mantém e o apoio que preciso em todos os momentos.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, juntamente ao Programa de Pós-graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada – PPGFBA pela oportunidade de realização do curso.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Brioso, por todo ensinamento, incentivo, persistência, compreensão, confiança e paciência.

À Banca Examinadora, Dr. Fábio Almeida e Dr<sup>a</sup>. Mônica Marques pela disposição, contribuições e críticas construtivas.

Aos membros do Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário - L.O.D.F./UFRRJ: Thaís Paula, Douglas Proque, Diego Alves, Jocarstea Brinati, Tuany Candida, Eduarda Cardoso, Nathalia Roque, Jennifer Alves, Etiene, Sr. João e Ivanete.

Aos mestres Olga Helena e Luiz D'Ávila por toda a oportunidade de aprendizado ofertada, pelo direcionamento e pela credibilidade depositada em mim.

Aos meus amigos Nataly, Kênia, Ana Carolina, Ingrid e Oclízio pelo carinho e companheirismo.

Ao João Elves pela colaboração e ajuda com a estatística deste trabalho.

Ao Instituto Nacional de Meteorologia – INMET pela disponibilidade dos dados meteorológicos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa de estudo que foi a fundamental possibilidade para a manutenção da minha carreira acadêmica.

À todas as pessoas que convivem comigo, participaram da minha formação, torcem por mim e acreditam no meu potencial.

## RESUMO

RODRIGUES, Savana Lemes. **Ferrugem da Teca (*Tectona grandis* Linn F.) no Estado do Rio de Janeiro**. 2021. 51p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2021.

Os povoamentos florestais de espécies exóticas no Brasil são utilizados no reflorestamento, na recuperação de áreas degradadas e na produção de madeira para fins comerciais promovendo desenvolvimento econômico e social. Estas espécies, assim como a *Tectona grandis* Linn F., são alvos de ataques de organismos patogênicos que reduzem sua produtividade. Nesse cenário, este trabalho teve como objetivo identificar o agente etiológico da “Ferrugem da Teca”, determinar a patogenicidade em diferentes espécies botânicas da família Lamiaceae e avaliar a incidência mediante variáveis climatológicas em Seropédica, estado do Rio de Janeiro. A caracterização morfológica foi realizada por meio de análise das estruturas fúngicas e permitiu identificar o fitopatógeno como *Olivea tectonae* (Racib.) Thirum. A análise molecular do fungo originou um amplicon de 600 pb. As mudas das distintas espécies inoculadas foram observadas e não apresentaram qualquer sinal ou sintomas do patógeno. O Postulado de Koch foi cumprido e confirmou-se a similaridade com *O. tectonae*, tendo como sinal pústulas contendo esporos amarelo alaranjados na face abaxial da folha, e sintomas como lesões cloróticas, necróticas e queima foliar. A incidência da doença aumentou, significativamente, ao longo do tempo nos meses de avaliação para os anos de 2018, 2019 e 2020. As correlações entre o Número de pústulas e a Velocidade do Vento, nos anos de 2018, 2019 e 2020 ( $\rho=0,0608$  e  $p\text{-value}=0,7667$ ,  $\rho=0,3321$  e  $p\text{-value}=0,0761$ ,  $\rho=0,0605$  e  $p\text{-value}=0,7339$ , respectivamente) foram positivas e não significativas, todavia, todas as correlações entre o Número de pústulas e a Temperatura do Ar foram negativas e significativas. Para o Número de pústulas e a Precipitação as correlações foram negativas, porém, apenas para os anos de 2019 ( $\rho=-0,5744$  e  $p\text{-value}=0,0009$ ) e 2020 ( $\rho=-0,3793$  e  $p\text{-value}=0,0269$ ) tiveram significância. Por fim, entre o Número de pústulas e a Umidade Relativa do Ar ocorreu significância somente para 2019 ( $\rho=-0,4478$  e  $p\text{-value}=0,0138$ ). A precipitação, hipoteticamente, pode ter influenciado a germinação dos urediniosporos e iniciado o processo de infecção nas folhas de teca, além disso, é provável que a velocidade do vento tenha favorecido a disseminação dos esporos. É complexo encontrar métodos eficazes para o controle dessa patologia, já que não existem fungicidas registrados no país. Porém, diante dos resultados encontrados pode-se adequar o manejo da cultura a fim de diminuir o inóculo, conviver com a doença de forma estratégica para que o produtor tenha menos prejuízo, empregando métodos preventivos como a utilização de hiperparasitas.

**Palavras-chave:** Incidência, *Olivea tectonae*, PCR, urediniosporos.

## ABSTRACT

RODRIGUES, Savana Lemes. **Teak rust in the State of Rio de Janeiro**. 2021. 51p. Dissertation (Masters in Plant Health and Applied Biotechnology). Institute of Biological and Health Sciences, University Federal Rural of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2021.

The forest stands of exotic species in Brazil are used in reforestation, the recovering of degraded areas and in the manufacturing of woods for commercial means promoting economic and social development. These species, as well as the *Tectona grandis* Linn F., are the target of attacks of pathogenic organisms that reduce its production. In this scenario, this project had the objective of identifying the etiological agent of the “Teakwood Rust”, to determine the pathogenicity in different botanical species of the Lamiaceae family, and evaluate the incidence upon climate variation in Seropédica, in the state of Rio de Janeiro. The morphological characteristic was realized by means of analysis of the fungal structures and allowed the identification of the phytopathogen as *Olivea tectonae* (Racib.) Thirum. The molecular analysis of the fungus originated as amplicon of 600 pb. The sampling sprouts of the distinct inoculated species were observed and did not present any sign or symptoms of the pathogen. The Koch Postulates were fulfilled and confirmed the similarity with *O. tectonae*, having as a sign pustules with yellowish orange spores on the abaxial side of the leaf, and symptoms as chlorotic lesions, necrotic lesions and leaf burn. The incidence of the disease increased significantly, as time went by in the evaluating months of the years 2018, 2019 and 2020. The correlations between the Number of pustules and Wind Speed in the years 2018, 2019 and 2020 ( $\rho=0.0608$  and  $p\text{-value}=0.7667$ ,  $\rho=0.3321$  and  $p\text{-value}=0.0761$ ,  $\rho=0.0605$  and  $p\text{-value}=0.7339$ , respectively) were positive and a non significant, however, all correlations between the Number of pustules and Air Temperature were negative and significant. For the Number of pustules and Precipitation the correlations were negative, however, only for the years 2019 ( $\rho=-0.5744$  and  $p\text{-value}=0.0009$ ) and 2020 ( $\rho=-0.3793$  and  $p\text{-value}=0.0269$ ) had significance. Finally, between Number of pustules and Relative Air Humidity occurred significance only for 2019 ( $\rho=-0.4478$  and  $p\text{-value}=0.0138$ ). The precipitation, hypothetically, might have influenced the germination of the uredinospores and started the infection process in teak leaves, besides, it is likely that the wind speed might have favored the dissemination of the spores. It is complex to find efficient methods to control this pathology, since there are no registered fungicides found in the country. However, facing the results found it is possible to adequate the planting handling in order to decrease the inoculum, living with the disease in an strategic manner so that the producer may have less loss, utilizing preventive methods such as the use of hyperparasites.

**Key Words:** Incidence, *Olivea tectonae*, PCR, urediniospores.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Árvores de *Tectona grandis* Linn F. (Lamiaceae) localizada no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. Fotos: Savana L. Rodrigues ..... 5
- Figura 2.** Localização da Área de Estudo, adaptado do Google Earth (2021). ..... 14
- Figura 3.** Sintomas de ferrugem associados à espécie florestal *Tectona grandis*. (A-B) Árvores adultas com queda precoce e severa das folhas; (C-D) Parte superior da folha com aspecto de queima; (E-F) Parte inferior da folha com pústulas pulverulentas de esporos do patógeno; (G-H) Folhas secas caídas sob o solo totalmente revestidas pela massa de esporos e limbo com aspectos de queima; (I-J) Frutos cobertos por esporos e com aspecto de queima. Fotos: Savana L. Rodrigues ..... 19
- Figura 4.** (A) Face abaxial da folha de teca com detalhes das urédias de *Olivea tectonae* sob observação em Microscópio Estereoscópico binocular (120x). (B) Lâmina contendo urediniósporos amarelo-alaranjados sob observação em microscópio ótico (100x). (C) Amostra foliar sintomática de teca com urediniósporos sob observação ao microscópio ótico (200x). Fotos: Savana L. Rodrigues ..... 20
- Figura 5.** Eletroforese em gel de agarose a 1% contendo brometo de etídio do produto de amplificação da região do DNA por PCR de *Olivea tectonae* com os “primers” ITS1 e ITS4. (M) Marcador de massa molecular (1kb); (CN) Controle negativo da reação; Amostras das quatro metodologias de pré-extração representadas pelas letras A, B, C e D. .... 22
- Figura 6.** Ensaio de patogenicidade: Vasos acondicionados com mudas das espécies de Lamiaceae após 15 dias de inoculação. (A) *Clerodendrum quadriloculare* (Blanco) Merr.; (B) *Lavandula angustifolia* Mill.; (C) *Mentha spicata* L.; (D) *Ocimum americanum* L.; (E) *Ocimum basilicum* L.; (F) *Ocimum gratissimum* L.; (G) *Origanum vulgare* L.; (H) *Plectranthus barbatus* Andrews; (I) *Rosmarinus officinalis* L.; (J) *Salvia officinalis* L.; (K) *Melissa officinalis* L. Fotos: Savana L. Rodrigues ..... 24
- Figura 7.** Ensaio de patogenicidade: Folhas das mudas submetidas a câmara úmida após 15 dias de inoculação. (A) *Clerodendrum quadriloculare* (Blanco) Merr.; (B) *Lavandula angustifolia* Mill.; (C) *Mentha spicata* L.; (D) *Ocimum americanum* L.; (E) *Ocimum basilicum* L.; (F) *Ocimum gratissimum* L.; (G) *Origanum vulgare* L.; (H) *Plectranthus barbatus* Andrews; (I) *Rosmarinus officinalis* L.; (J) *Salvia officinalis* L.; (K) *Melissa officinalis* L. Fotos: Savana L. Rodrigues ..... 25
- Figura 8.** Vasos contendo mudas de *Tectona grandis* após 15 dias de inoculação. As mudas inoculadas com o fungo estão representadas pelos números 1, 2, 3, sendo 4 a testemunha. Foto: Savana L. Rodrigues ..... 25
- Figura 9.** Folhas das mudas de teca após 15 dias de inoculação. (A-B) Face adaxial e abaxial sintomática da muda 1; (C-D) Face adaxial e abaxial sintomática da muda 2; (E-F) Face adaxial e abaxial sintomática da muda 3; (G-H) Face adaxial e abaxial assintomática da muda 4 (testemunha). Fotos: Savana L. Rodrigues ..... 26

<b>Figura 10.</b> Curvas epidêmicas do processo de incidência da “Ferrugem da Teca” causada por <i>Olivea tectonae</i> em 2018, 2019 e 2020, no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. ....	27
<b>Figura 11.</b> Box Plot contendo limites inferiores e superiores do Número de esporos de <i>Olivea tectonae</i> em plantas de <i>Tectona grandis</i> em função dos meses avaliados em 2018, utilizando a mediana (linha horizontal no centro da caixa), para o município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. ....	28
<b>Figura 12.</b> Box Plot contendo limites inferiores e superiores do Número de esporos de <i>Olivea tectonae</i> em plantas de <i>Tectona grandis</i> em função dos meses avaliados em 2019, utilizando a mediana (linha horizontal no centro da caixa), para o município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. ....	29
<b>Figura 13.</b> Box Plot contendo limites inferiores e superiores do Número de esporos de <i>Olivea tectonae</i> em plantas de <i>Tectona grandis</i> em função dos meses avaliados em 2020, utilizando a mediana (linha horizontal no centro da caixa), para o município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. ....	29
<b>Figura 14.</b> Comparação da quantidade de pústulas contidas em folhas de <i>Tectona grandis</i> com a Temperatura do Ar (°C), Umidade Relativa do Ar (%), Precipitação (mm) e Velocidade do Vento (m/s) durante os meses avaliados em 2018, no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. ....	30
<b>Figura 15.</b> Comparação da quantidade de pústulas contidas em folhas de <i>Tectona grandis</i> com a Temperatura do Ar (°C), Umidade Relativa do Ar (%), Precipitação (mm) e Velocidade do Vento (m/s) durante os meses avaliados em 2019, no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. ....	31
<b>Figura 16.</b> Comparação da quantidade de pústulas contidas em folhas de <i>Tectona grandis</i> com a Temperatura do Ar (°C), Umidade Relativa do Ar (%), Precipitação (mm) e Velocidade do Vento (m/s) durante os meses avaliados em 2020, no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. ....	32
<b>Figura 17.</b> Folhas de <i>Tectona grandis</i> Linn F. apresentando pústulas de <i>Olivea tectonae</i> e esporos pretos de hiperparasita fúngico na face abaxial. Fotos: Savana L. Rodrigues .....	36
<b>Figura 18.</b> Ácaro micófago <i>Tarsonemus</i> sp. (A) sob observação em microscópio ótico (1000x) (B) sob observação em microscópio ótico com óleo de imersão (1000x). Foto: Savana L. Rodrigues.....	36

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Lista de espécies da família Lamiaceae contendo nome vulgar, utilizadas no Teste de Patogenicidade.....	14
<b>Tabela 2.</b> Lista de espécies botânicas contendo nome vulgar e família existentes próxima a área dos indivíduos de <i>Tectona grandis</i> Linn F. ....	16
<b>Tabela 3.</b> Valores de Limite Inferior, Mediana e Limite Superior obtidos nos meses de avaliação para os anos de 2018, 2019 e 2020.....	27
<b>Tabela 4.</b> Correlação entre o Número de pústulas e as variáveis climáticas nos anos de 2018, 2019 e 2020. ....	33
<b>Tabela 5.</b> Médias de Temperatura, Umidade do ar, Velocidade do Vento e Precipitação para o mês de junho nos anos de 2018, 2019 e 2020. Fonte: INMET. ....	34

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 <i>Tectona grandis</i> Linn F.....	3
2.2 Distribuição Geográfica.....	3
2.3 Características e usos da espécie.....	4
2.4 Problemas Fitossanitários em <i>Tectona grandis</i> no Brasil.....	6
2.5 Agente causal da Teca - <i>Olivea tectonae</i> (Racib.) Thirum. 1949.....	8
2.6 Distribuição da doença.....	10
2.7 Técnica de Diagnóstico Molecular – PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	10
3. OBJETIVOS.....	11
3.1 Objetivo Geral.....	11
3.2 Objetivos Específicos .....	11
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	11
4.1 Análise Morfológica .....	11
4.2 Análise Molecular.....	12
4.3 Teste de Patogenicidade.....	13
4.4 Teste de Hospedeiros Alternativos .....	15
4.5 Epidemiologia (Incidência da Doença).....	17
4.6 Análise Estatística.....	17
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	17
5.1 Análise Morfológica .....	19
5.2 Análise Molecular.....	22
5.3 Teste de Patogenicidade.....	23
5.4 Epidemiologia (Incidência da Doença).....	26
5.5 Estratégia de Controle.....	35
6. CONCLUSÕES.....	37
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	37
8. REFERÊNCIAS BIBIOGRÁFICAS .....	38

## 1. INTRODUÇÃO

As espécies arbóreas estão sujeitas ao ataque de diversas pragas que são responsáveis por inúmeros danos produtivos e econômicos. Dentre os patógenos, destacam-se os fungos, principalmente aqueles que causam as doenças denominadas de Oídios e Ferrugens, sendo estes os principais causadores de perdas de produção em plantas agrícolas, florestais e ornamentais (AIME, 2006; SANTOS, 2016).

A introdução de espécies florestais exóticas é uma opção para saciar a demanda por madeira, e assim diminuir a pressão sobre as espécies arbóreas nativas e em risco de extinção. Nesse contexto, os plantios de teca (*Tectona grandis* Linn F.) no Brasil tendem a fornecer uma alternativa para a produção de madeira de alta qualidade (VASCONCELOS, 2015).

*Tectona grandis* é uma espécie florestal pertencente à família Lamiaceae, originária das florestais tropicais da Ásia, cuja madeira é utilizada há centenas de anos na Índia, Indonésia, Tailândia e outros países asiáticos (FIGUEIREDO *et al.*, 2005; KINUPP & LORENZI, 2014). Pode alcançar preços até três vezes superior aos do mogno brasileiro (*Swietenia macropylla* G. King) e de outras espécies consideradas nobres (MACEDO *et al.*, 2005; ROCHA *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2017). Devido a suas características, como resistência, estabilidade, durabilidade, robustez, elasticidade e baixo peso, esta espécie está sendo empregada na fabricação de móveis finos, decoração de interiores, e na construção naval (DRESCHER, 2004; PINTO, 2007; MESQUITA *et al.*, 2016; DELMADI, 2017).

A teca apresenta grande importância e valor tanto pelas propriedades físico-mecânicas desejáveis da madeira quanto pela sua rusticidade e desenvolvimento progressivo e vigoroso. Desenho, coloração, ausência de nós e defeitos na tora são características qualitativas importantes que conferem à teca a madeira folhosa mais valorizada no mundo (VIEIRA *et al.*, 2008), e também por ser considerada uma espécie heliófila, apresenta elevada aptidão de transformar energia luminosa em produção volumétrica (ROCHA *et al.*, 2015). Além disso, a teca pode ser utilizada como árvore medicinal, ornamental e na recuperação de áreas degradadas através do reflorestamento.

De acordo com Schuhli e Paludzyszyn Filho (2010), o Jardim Botânico do Rio de Janeiro-RJ parece ter sido o primeiro a estabelecer a teca em território nacional, em 1930. Porém, os primeiros plantios comerciais de teca iniciaram-se no final da década de 1960, introduzidos pela empresa Silvicultura Cáceres Florestal S.A., na região do Município de Cáceres - Mato Grosso, onde as condições climáticas são semelhantes às dos países de origem da espécie (TSUKAMOTO-FILHO *et al.*, 2003; CÁCERES FLORESTAL, 2006).

A área plantada com teca no país é de aproximadamente 94 mil hectares (IBÁ, 2019), visto que os plantios destinados à comercialização estão praticamente divididos entre as regiões Norte e Centro-Oeste, com 32,6 e 67,4% respectivamente (ABRAF, 2013). Segundo a estimativa da Associação de Reflorestadores de Mato Grosso (Arefloresta-MT, 2020), o estado vem se destacando pela tecnologia, produção e extração dessa madeira, onde o cultivo da espécie está, neste momento, acima de 67 mil hectares.

Na região Norte, os plantios tiveram início em 1994, como alternativa de cumprimento da reposição florestal obrigatória perante a legislação ambiental vigente e para o atendimento da demanda de geração de bens e de serviços ambientais (FIGUEIREDO *et al.*, 2005; VIEIRA *et al.*, 2008). A espécie é cultivada, principalmente nos estados do Amazonas, Pará e Acre (GASPAROTTO & PEREIRA, 2013). Entretanto, embora a teca esteja sendo bastante utilizada

no país, tanto para usos nobres quanto na recomposição florestal, no estado do Rio de Janeiro essa espécie ainda é pouco explorada, não existindo produção comercial em larga escala.

Nos últimos anos, houve um aumento no número relatado de organismos associadas à teca na América Latina. Arguedas *et al.* (2013) registraram 53 espécies de insetos, 34 fitopatógenos, dois vertebrados e quatro plantas parasitas da família Loranthaceae. Nas plantações recém-estabelecidas, as pragas podem causar danos significativos à produtividade, como a diminuição da área foliar e, portanto, redução do crescimento. Além disso, a teca pode ser afetada por diversas doenças durante todo o seu ciclo vegetativo, sendo os fungos considerados os principais agentes fitopatogênicos (PIERI *et al.*, 2011; HACKBARTH, *et al.*, 2014; SALES *et al.*, 2017).

Dentre as principais doenças que provocam esses danos destaca-se a “Ferrugem da Teca”, causada pelo fungo *Olivea tectonae* (Racib.) Thirum. (1949) (ARGUEDAS *et al.*, 2013; ARGUEDAS *et al.*, 2019), cujo agente causal é parasita obrigatório e muito especializado (ARGUEDAS, 2004; PIERI *et al.*, 2011), com a primeira ocorrência no Brasil relatada por Bonaldo *et al.* (2011), que observaram em maio de 2009 a presença de sintomas da doença e sinais do patógeno, em plantas de diferentes idades localizadas no município de Sinop/MT.

Esta Ferrugem é a única conhecida que ocorre em teca, até o presente momento, e após o primeiro relato, a espécie fúngica foi registrada em vários plantios de teca distribuídos pelo Brasil (OSORIO *et al.*, 2019), além de outros países da América Central, América do Sul, Ásia, Oceania e África (PÉREZ *et al.*, 2009; PIERI *et al.*, 2011; HACKBARTH, *et al.*, 2014; MESQUITA *et al.*, 2016; KOFFI *et al.*, 2018).

De acordo com Ferrari (2011), a Ferrugem é facilmente detectada pela presença de pústulas alaranjadas, que estão repletas de uredinósporos, sua disseminação é favorecida pelo vento nos períodos secos e requer precipitação ou molhamento foliar para seu estabelecimento dentro da cultura. Ademais, o desfolhamento precoce das plantas diminui sua velocidade de crescimento, causando redução da taxa fotossintética e conseqüentemente influenciando a produção de madeira (MESQUITA *et al.*, 2016).

Em 2018, o consumo brasileiro de madeira *in Natura* proveniente de árvores plantadas para uso industrial foi de 220,9 milhões de m<sup>3</sup>, o que representa um aumento de 7,2% em relação ao consumo de 2017 (IBÁ, 2019). A teca está inserida na lista dessas espécies plantadas, e devido ao aumento pela demanda de sua madeira no mercado internacional/nacional é necessário que sejam realizados estudos científicos sobre as pragas associadas a cultura, visto que, segundo Arguedas (2004) um dos maiores desafios no cultivo de plantas exóticas são os problemas fitossanitários em níveis epidêmicos, sendo assim, o desenvolvimento de conhecimentos nesta área e à amplificação dos mesmos, é fundamental para a silvicultura.

As espécies de Ferrugem, em geral, possuem dados incompletos do seu ciclo de vida, que inclui faixa de hospedeiros, distribuição geográfica, identidade de hospedeiros alternativos e/ou modo de reprodução sexual (AIME, 2006). Devido à complexidade desses microrganismos, tal como *Olivea tectonae*, é essencial que os pesquisadores busquem aprofundar seus conhecimentos, pois há insuficiência de informações na literatura, principalmente no Brasil, que possam corroborar para avaliação satisfatória dessa espécie nas diversas regiões do país.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Tectona grandis* Linn F.

A família Lamiaceae (Martinov, 1820) está inserida na ordem Lamiales. No Brasil ocorrem cerca de 46 gêneros e 525 espécies dessa família (FLORA DO BRASIL, 2020). Têm considerável importância econômica, constituída por diversas espécies madeireiras, como a *Tectona*, diversas espécies de valor hortícola, ervas culinárias, de perfumaria e medicinais (HARLEY, 2012).

Um dos gêneros da família Lamiaceae é a *Tectona* que, antigamente, pertencia à família Verbenaceae. Este gênero é constituído pelas espécies *Tectona grandis* Linn F.; *Tectona hamiltoniana* Parede.; *Tectona philippinensis* Benth. & Hook.; *Tectona ternifolia* Buch.-Ham. ex Wall.; *Tectona theka* Humilhar (TROPICOS, 2020). Dentre essas, somente a *Tectona grandis*, popularmente conhecida como teca (Brasil, Costa Rica), *teak* (Índia, Siam, Birmânia e Indonésia), *teck* (França), *ojati* (Java), *may sak* (Laos) e *tiek* (Alemanha) (TSUKAMOTO-FILHO *et al.*, 2003; FIGUEIREDO *et al.*, 2005), alcançou destaque mundial e foi introduzida no Brasil.

### 2.2 Distribuição Geográfica

*Tectona grandis* é nativa das florestas tropicais de monção do Sudeste Asiático (Índia, Mianmar, Tailândia e Laos), estando sua área de ocorrência natural entre 10 e 25°N e entre 0 e 10°S, com altitude em torno de 1000 m e entre Floresta Úmida e Decídua Árida Mista. Pode ter sido introduzida em Java e Indonésia no século XIV. É uma espécie amplamente cultivada, sendo que 80% da área plantada com teca se encontra na Ásia, 13% na África e apenas 7% na América Latina (FIGUEIREDO *et al.*, 2005; VIEIRA *et al.*, 2007; FOFANA *et al.*, 2009; ALCANTRA, 2009; MEDEIROS *et al.*, 2015).

No Brasil, os primeiros povoamentos comerciais de *T. grandis* foram introduzidos na região do Centro-Oeste, no final da década de 1960, com início da atividade em 1971 pela empresa Cáceres Florestal S.A., no Sítio Castiçal do Jauru, na região de Cáceres, MT (TSUKAMOTO FILHO *et al.*, 2003; FIGUEIREDO *et al.*, 2005; CÁCERES FLORESTAL, 2006; ROCHA *et al.*, 2015).

Em Mato Grosso, pode-se encontrar plantios comerciais com idade superior a 25 anos, que apresentam características físicas e mecânicas semelhantes à produzida no Sudeste e Sudoeste Asiático. O solo de melhor fertilidade, associado a práticas silviculturais compatíveis com a espécie, possibilitou a redução do ciclo de produção de 80 anos, na região de origem da teca, para em média 25 anos, com cinco desbastes planejados por ciclo. Cerca de 94% dos plantios de teca no país se encontram nesse estado, com estimativas apontando aproximadamente 67.329 hectares plantados da espécie até o ano de 2012, o que corresponde a maior área da América Latina (CÁCERES FLORESTAL, 2006; ABRAF, 2013; MORETTI *et al.*, 2014; MEDEIROS *et al.*, 2015; ROCHA *et al.*, 2015; BARCELI *et al.*, 2019).

A teca começou a ser implantada na região norte do país apenas no ano de 1994, devido à necessidade de cumprir com a reposição florestal em atendimento com a legislação ambiental, sem receber tratamentos silviculturais ou investimentos relacionados à qualidade do solo, pois a produção de madeira não correspondia ao principal interesse do produtor (FIGUEIREDO *et al.*,

2005). É cultivada, comercialmente, nos estados do Amazonas, Pará, Acre e Rondônia (ALCÂNTRA, 2009; GASPAROTTO & PEREIRA, 2013).

Dentre os países produtores, a Índia possui a maior área plantada, a qual é 25 vezes maior do que a área plantada no Brasil; além dos plantios comerciais, a Índia ainda dispõe de mais de sete milhões de hectares de povoamentos naturais de teca (VASCONCELOS, 2015).

### 2.3 Características e usos da espécie

A espécie florestal *T. grandis* apresenta grande porte, é pioneira, com rápido crescimento, exigência de luz solar direta e pode alcançar 2,50 metros de diâmetro e mais de 50 metros de altura. Seu tronco é geralmente retilíneo, cilíndrico, espesso e apresentando pequena conicidade. A casca é gretada e de cor cinza ou marrom, com fissuras longitudinais; embora não seja grossa (cerca de 15mm), parece ser termo-isolante, conferindo elevada resistência ao fogo (LORENZI *et al.*, 2003; FIGUEIREDO, 2005; CÁCERES FLORESTAL, 2006).

A teca possui alto grau de deciduidade foliar, essência caducifólica que perde suas folhas durante a estação seca, estas são opostas, elípticas, coriáceas, ásperas ao tato, com pecíolos curtos ou ausentes, e ápices e bases agudas. Nos indivíduos adultos, as folhas possuem, em média, de 30 a 40 cm de comprimento por 25 cm de largura, porém, nos indivíduos mais jovens, com até três anos de idade, as folhas podem atingir o dobro dessas dimensões. Assim, por ser uma folha larga e caduca, é comum a formação de serapilheira acima do solo em povoamentos de teca (FIGUEIREDO *et al.*, 2005; COSTA *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2007; PELISSARI *et al.*, 2014; VASCONCELOS, 2015).

As inflorescências são grandes, terminais, em panículas ramificadas, composta, com flores mais jovens, na parte superior ou no centro, apresentando de 700 a 3.500 flores branco-azuladas, da qual apenas 1 a 2% desenvolvem frutos, sem perfume, pequenas, com tubo expandido em 5-6 divisões curtas e formadas de janeiro a março (PELISSARI *et al.*, 2014; ROCHA *et al.*, 2015). Os frutos são do tipo drupa, secos, de cor marrom, permanecendo fechados, quando fixado a planta mãe, envolvidos por remanescentes do cálice, celulósicos, enrugados, inflados. É constituído por um caroço duro (endocarpo) onde existe quatro cavidades, denominadas locos, onde podem estar alojadas até quatro sementes. Externamente é esponjoso, a propagação é feita por semente, as quais são produzidas em grande quantidade nas regiões tropicais e subtropicais do Brasil (LORENZI *et al.*, 2003; CÁCERES FLORESTAL, 2006; FERREIRA *et al.*, 2008). Entretanto, além da teca ser propagada de maneira sexuada (sementes), também pode ser feita da forma assexuada, por enxertia ou estaquia (NERY, 2011).





**Figura 1.** Árvores de *Tectona grandis* Linn F. (Lamiaceae) localizada no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. Fotos: Savana L. Rodrigues

Essa espécie é própria de clima tropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco, livre de geadas e congelamento. No Brasil, a espécie se desenvolve melhor em regiões com precipitações médias anuais entre 1250 e 2500 mm e temperatura média anual entre 22°C e 27°C. Um período seco de três a cinco meses favorece a qualidade da madeira, entretanto, a espécie suporta precipitações de 500 mm/ano e intensidades pluviométricas de até 5.100 mm/ano (FIGUEIREDO *et al.*, 2005; CÁCERES FLORESTAL, 2006; VIEIRA *et al.*, 2007). Ademais, seu crescimento ocorre em diversas variedades de solos e formações geológicas (TONINI *et al.*, 2009), porém tem preferência pelos de textura média, franco arenosos a argilosos, profundos e aluviais com boa drenagem, com alto teor de cálcio e pH variando entre 6,5 e 7,5, em terrenos planos, ou pouco declivosos, e férteis (VIEIRA *et al.*, 2007; BEZERRA *et al.*, 2011; PELISSARI *et al.*, 2014; ROCHA *et al.*, 2015).

Segundo Costa *et al.* (2007) a madeira de teca possui albúrnio amarelado ou esbranquiçado, geralmente delgado, contrastando com o cerne que é castanho-amarelado. Apresenta anéis de crescimento nítidos e diferenciados nos cortes transversais. O lenho é moderadamente duro e oleoso ao tato, e tem uma densidade aparente média de 0,64g/cm<sup>3</sup> a 12% de umidade (PINTO, 2007; PELISSARI *et al.*, 2014), considerada madeira leve, com baixo peso específico (0,58 g/cm<sup>3</sup>), além de apresentar boa resistência mecânica, muito semelhante ao mogno brasileiro (*Swietenia macropylla* G. King) (VIEIRA *et al.*, 2008; ROCHA *et al.*, 2015; VASCONCELOS, 2015). Sua beleza, alta resistência a compressão, tração, flexão e durabilidade tornaram sua madeira uma das mais valiosas e conhecidas do mundo, sendo utilizada de forma alternativa as espécies de alto valor econômico, tal como a cerejeira (*Torresea acreana* Ducke) para o suprimento sustentável das indústrias da base florestal, diminuindo assim a pressão de exploração aos ecossistemas florestais nativos no país

(CALDEIRA *et al.*, 2000; TSUKAMOTO-FILHO *et al.*, 2003; DRESCHER, 2004; MORETTI *et al.*, 2014).

A durabilidade da madeira de teca se deve aos seus extrativos, preservativos naturais contidos nas células da madeira, que é composta por lapachol, naftoquinonas e antraquinonas, sendo que dentre estas, a tectoquinona representa a grande promessa para a indústria química e farmacêutica, devido ao seu poder antifúngico, bactericida e repelente natural para cupins e outros insetos (ALCÂNTRA, 2009; NIAMKÉ *et al.*, 2012; GUERRERO-VÁSQUEZ *et al.*, 2013; VASCONCELOS, 2015).

O principal produto dessa espécie é a madeira, que é destinada para usos nobres, como em marcenaria para produção de móveis finos, decoração de ambientes internos e externos, pisos, laminados, postes, dormentes, sendo imprescindível na indústria de construção naval, pois resiste ao sol, a altas e baixas temperaturas, água da chuva e do mar (FIGUEIREDO *et al.*, 2005; CÁCERES FLORESTAL, 2006; COSTA *et al.*, 2007; BARCELI *et al.*, 2019). A madeira contém um óleo que impede a corrosão de pregos (PINTO, 2007). Também é utilizada como fonte de lenha e carvão vegetal em áreas de ocorrência natural (LIMA *et al.*, 2011).

#### 2.4 Problemas Fitossanitários em *Tectona grandis* no Brasil

A teca é uma espécie relativamente resistente ao ataque de insetos e doenças graves, tanto em seu ambiente natural quanto nas plantações. Porém, assim como outras espécies vegetais, é afetada por agentes causadores de doenças em diversas partes da planta e em seus diferentes estágios de desenvolvimento (CALDEIRA *et al.*, 2000).

No Brasil, não existiam registros de doenças que provocassem danos econômicos nos povoamentos até 2007. Entretanto, em viveiros no estado do Pará, foram encontradas mudas de teca com lesões foliares aos dois meses de idade. As lesões, inicialmente pequenas, verdes e úmidas, aumentaram de tamanho formando áreas necróticas irregulares provocadas por *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, agente causal da doença conhecida como queima da teia micélica (POLTRONIERI *et al.*, 2008; HACKBARTH *et al.*, 2014). Ainda em viveiros, também foi relatado uma bacteriose (*Pseudomonas* sp.) que tende a ocorrer quando há excesso de irrigação e alta umidade, essa patologia causa tombamento das mudas em pré e pós-emergência (VIERIA *et al.*, 2007; ARGUEDAS, 2011).

Em plantios jovens de teca, o maior problema fitossanitário é a queima dos brotos causada por *Phomopsis* sp. Sacc. & Roum (HACKBARTH *et al.*, 2014). A infecção inicia-se no meristema apical, deixando as folhas com uma coloração marrom escuro que evolui para uma necrose que pode levar à queda prematura de folhas. Períodos prolongados de alta umidade e temperatura facilitam a formação de picnídios ou estruturas reprodutivas do fungo (ARGUEDAS *et al.*, 2013). Também ocorre manchas em folhas maduras, de coloração marrom escuro, circundadas por uma margem pálida causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., que com a união dos pontos individuais, os sintomas progridem para manchas maiores e irregulares, podendo proporcionar desfolha prematura (BORGES, 2014).

O fungo do gênero *Fusarium* Link também já foi identificado como patógeno à cultura de teca. Ataca as raízes, provocando redução na produção equivalente a 40% e pode ocasionar morte das plantas infectadas. A transmissão desse patógeno dá-se pelos conídios que podem ser dispersos pelo vento, água da chuva ou de irrigação. O caule das plantas infectadas fica endurecidos na área basal com coloração marrom escura (DELMADI, 2017). Borges e colaboradores (2018) confirmaram no estado do Mato Grosso, a murcha vascular da teca causada por *Fusarium oxysporum* Schltdl., esta é conhecida por ser transmitida através de

sementes, porém segundo os autores a doença provavelmente foi introduzida no Brasil por meio de material vegetal contaminado.

Em Mato Grosso, na região de Cáceres, foram encontradas plantas de teca com sintomas de murcha causada pelo o fungo *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halst. (FIRMINO *et al.*, 2012), este infecta o caule, atingindo o xilema da planta, impedindo assim o transporte de nutrientes, causando murcha perceptível nos ponteiros e, posteriormente mata a planta (DELMADI, 2017).

No fuste, também, são comumente encontrados vários tipos de cancos associados a *Nectria mauritiicola* (Henn.) Seifert & Samuels, *Dothiorella sp.* Sacc., e *Botryosphaeria sp.* Ces. & De Not. (VARGAS, 2008; ARGUEDAS *et al.*, 2013; BORGES, 2014). O cancro causado por *Lasiodiplodia sp.* Ellis & Everh. apresenta protuberância que varia de 3 a 20 cm de comprimento e de 2 a 23 cm de largura ao longo do caule e causa morte do meristema apical desprendimento da casca principalmente próximo dos locais de poda. A ocorrência dessa enfermidade merece estudos mais aprofundados pela predominância com que vem ocorrendo nos últimos anos, em cultivos da região Centro Oeste, e pelo potencial destrutivo que apresenta (BORGES, 2014; VASCONCELOS, 2015). No estado de São Paulo, em um plantio de teca de aproximadamente 2 anos, sob condições naturais de infecção, foi identificado sintomas típicos de cancro, como fendilhamento na casa, e rachaduras no caule das plantas, causada por *Neofusicoccum parvum* (DELMADI, 2017).

Dentre as doenças que podem colocar em risco o cultivo de teca no Brasil encontra-se a “Ferrugem da Teca”, causada por *Olivea tectonae* (Racib.) Thirum. A presença do patógeno aparece tanto em mudas como em plantas adultas de várias idades, sendo que os sintomas, que se iniciam na superfície adaxial da folha, começam com pequenas manchas que coalescem e podem englobar toda a superfície foliar, levando a folha a apresentar um aspecto de queima, com congruente desfolha da planta. Já na superfície abaxial equivalente a área necrosada pode se observar urédias pulverulentas de coloração amarelo laranja onde se observa a intensa formação de uredinósporos (BONALDO *et al.*, 2011).

A doença causa desfolha severa e prematura em todas as fases fenológicas da cultura, ocasionando redução da taxa fotossintética, reduzindo assim a velocidade de crescimento das árvores, conseqüentemente interferindo na produção madeireira, e pode, dependendo da idade da planta em que ocorre a infecção fúngica, provocar a sua morte. A disseminação do patógeno é favorecida pelo vento nos períodos secos e requer precipitação ou umidade para seu estabelecimento dentro da área plantada, podendo também ser disseminada por meio de plantas vivas infectadas, já que por sementes seria muito improvável (VIEIRA *et al.*, 2007; PIERI *et al.*, 2011; GASPAROTTO & PEREIRA, 2013; SALES *et al.*, 2017).

Em relação aos insetos, no Pará, houve um comunicado sobre ataque ocasionado por gafanhotos (*Orthoptera, Acrididae, Leptysminae*) em árvores de teca, que consiste na abertura de orifícios nas folhas, resultando em quebra das mesmas e posterior seca (LUNZ *et al.*, 2008). O alburno da teca é susceptível ao ataque de coleópteros (SCHUHLI & PALUDZYSZYN-FILHO 2010), Peres-Filho *et al.* (2006) confirmam isso com a notificação de ataque do bostriquídeo *Sinoxylon conigerum* Gerstäcker a troncos e madeira cortada dessa espécie florestal. Em Mato Grosso, foi registrado em plantios homogêneos a lepidóptera desfolhadora *Hyblaea puera* Cramer, lagarta que ataca a teca com maior frequência no período chuvoso e ocasiona bifurcações no fuste (PERES-FILHO *et al.*, 2002; FERREIRA *et al.*, 2008). Outra desfolhadora que pode causar perdas de até 75% na área foliar das plantas é a *Eutectona machaeralis* Walker (*Lepidoptera: Pyralidae*), entretanto esta não apresenta grande importância em plantios brasileiros (KULKARNI *et al.*, 2011; VASCONCELOS, 2015).

Além disso, no Acre e Mato Grosso, formigas são responsáveis por danos consideráveis em plantios de teca, especialmente a saúva limão, *Atta sexdens* (Linnaeus, 1758), que causa desfolhamento que pode chegar a 100%, danos no meristema apical e cortes na casca (FERREIRA *et al.*, 2008; SCHUHLI & PALUDZYSZYN-FILHO, 2010).

De acordo com Santos *et al.*, (2014) o ácaro fitófago *Tetranychus urticae* Kock (*Acari: Tetranychidae*), comumente conhecido como ácaro-rajado, tem grande potencial para provocar danos econômicos a viveiros de produção de mudas de teca, já que este foi detectado em Mato Grosso, provocando injúrias como bronzeamento e necrose foliar, com posterior queda das folhas atacadas. Por fim, foi registrado também no estado ataques por nematoides *Meloidogyne javanica* parasitando plantas jovens de teca com dois anos de idade, as quais apresentavam amarelecimento e seca das folhas, redução do diâmetro do tronco, presença de galhas nas raízes e morte apical (OLIVEIRA & SILVA, 2013).

## 2.5 Agente causal da Teca - *Olivea tectonae* (Racib.) Thirum. 1949

No mundo estão descritas aproximadamente 99.000 espécies de fungos, das quais cerca de 13.800 existem no Brasil, ou seja, aproximadamente 14% da diversidade mundial. Os fungos são organismos heterotróficos unicelulares ou pluricelulares, estes são caracterizados pela formação de estruturas filamentosas, as hifas, que constituem o micélio. Na fase reprodutiva, o micélio forma estruturas assexuadas (fase mitótica) e/ou sexuadas (fase de plasmogamia, cariogamia e meiose) que originam os esporos, principais responsáveis pela propagação das espécies. Alguns fungos são microscópicos, enquanto outros são capazes de formar estruturas visíveis a olho nu (MAIA & CARVALHO, 2010).

O Reino *Fungi* é constituído pelo Filo *Basidiomycota*, onde são incluídos os basidiomicetos. Morfologicamente são bastante diversificados e caracterizados como fungos que produzem esporos de origem sexuada em estruturas especializadas chamadas basídios, encontrados em basidiomas. Apresentam micélio dicariótico durante a maior parte do ciclo de vida e hifas septadas. Neste grupo, o septo da hifa é uma estrutura complexa, perfurado no centro e com parede espessada envolta do poro, que por sua vez pode ser recoberto com uma membrana vinda do retículo endoplasmático. O septo dolipórico, em forma de barril, é típico dos basidiomicetos (MAIA & CARVALHO, 2010; SALVI, 2011).

Existem registros de 29.914 espécies conhecidas de basidiomicetos, incluindo os vulgarmente conhecidos como cogumelos e orelhas-de-pau, os carvões, as ferrugens, os gasteromicetos e os gelatinosos. A maioria das espécies são saprófitas, porém muitas espécies são parasitas obrigatórias ou facultativas, bem como micorrízicas (SALVI, 2011).

O número de espécies fúngicas associadas a doenças do tipo Ferrugens que ocorrem em plantas aproxima-se de sete mil, distribuídos em cerca de 160 gêneros. Os agentes causais de ferrugens não formam basidiomas, mas produzem vários tipos de estrutura de frutificação, cada uma delas correspondendo a uma fase do ciclo do patógeno. Assim, o pícnio, ou espermogônio, é considerado a fase 0; o écio, a fase I; o urédio, a fase II; o télio, a fase III; e o basídio, a fase IV. Cada uma destas estruturas, genericamente conhecidas pelo nome de soros, produz um tipo de propágulo (esporo), ou seja, picniósporos e hifas receptivas, eciósporos, urediniósporos, teliósporos e basidiósporos, respectivamente (CÉSPEDES *et al.*, 2014; HACKBARTH *et al.*, 2014).

*Olivea tectonae* é um fungo patogênico pertencente a um grupo monofilético, classificado no Domínio *Eurarya*, Superreino *Opisthokonta*, Reino *Fungi*, Filo *Basidiomycota*, Subfilo *Pucciniomycotina*, Classe *Pucciniomycetes*, Subclasse *Incertae sedis*, Ordem

*Pucciniales* e Família *Chaconiaceae*. Apresenta o ciclo de vida desconhecido e complexo (AIME *et al.*, 2006; INDEX FUNGORUM, 2020).

Segundo dados da *Index Fungorum* (2020) a taxonomia correta para o nome do patógeno encontra-se registrada como *Olivea tectonae* (Racib.) Thirum. (1949), tendo como sinônimas: *Chaconia tectonae* T.S. Ramakr. & Ramakr. (1949); *Olivea neotectonae* Buriticá & Salazar-Yepes (2007); *Olivea tectonae* (T.S. Ramakr. & Ramakr.) J. L. Mulder (1973); *Tegillum neotectonae* (Buriticá & Salazar-Yepes) Doweld (2013); *Tegillum tectonae* (Racib.) Doweld (2013); e *Uredo tectonae* Racib. (1900).

A Ordem *Pucciniales* é composta de fungos que formam um grupo numeroso de organismos fitopatogênicos com ampla diversidade e distribuição global (CÉSPEDES, 2003). São parasitas obrigatórios de plantas vasculares e desenvolveram a maioria dos ciclos de vida complexos. Estima-se que exista cerca de 20.000 a 24.000 espécies, porém apenas cerca de 8000 espécies estão descritas e classificadas em 120 gêneros e 13 famílias (AIME *et al.*, 2006).

A cariogamia geralmente ocorre em esporos especializados denominados teliósporos que germinam para produzir os basídios em que a meiose ocorre, mas muitas espécies recrutaram outros estágios de esporos, como aeciósporos ou urediniósporos, para conclusão do ciclo sexual (AIME, 2006).

O fungo *Olivea tectonae* penetra através da superfície inferior do limbo foliar, que em curto período de tempo é recoberta por esporos alaranjados, sendo que os primeiros sintomas ocorrem na segunda folha com o limbo expandido, através de reduzidas manchas, que progridem profusamente na terceira folha, formando pequenas lesões cloróticas ligeiramente esbranquiçadas, dispostas nos espaços internervurais. Posteriormente, as áreas cloróticas tornam-se marrom-claras, e na face abaxial das folhas formam-se muitas pústulas (soros anamórficos) esporuladas de coloração amarela, constituídas pela massa de urediniósporos do patógeno que apresenta uma aparência em pó, sobre fundo marrom-escuro. As pústulas coalescem, necrosam o limbo foliar de forma generalizada, as folhas secam e parecem estar queimadas, com a severidade completa culmina o desfolhamento das árvores, o que conseqüentemente provoca a redução do crescimento e baixa qualidade da madeira (DÍAZ *et al.*, 2006; CÉSPEDES & YEPES, 2007; ARGUEDAS, 2011; ARGUEDAS *et al.*, 2013; GASPAROTTO & PEREIRA, 2013; BARCELLI *et al.*, 2019).

Os sintomas podem ser detectados desde o estágio das mudas até as árvores adultas, porém apresentam algumas variações de acordo com a idade do hospedeiro, sendo que a doença é mais severa em plantas com idades variando entre cinco e sete anos. Em viveiros, os sintomas mais comuns são lesões marrons e amarelas. Nas mudas recém germinadas são observados pequenos pontos cloróticos nos cotilédones, em alguns dos quais aparecem as pústulas de urediniósporos. Em plantas jovens, com menos de 2 m de altura, ocorrem danos apenas nas folhas mais baixas com quantidades moderadas de esporos na parte inferior, e a desfolhação ocorre com 20-30 dias do início dos sintomas, já nas árvores adultas as folhas infectadas são as mais velhas (ARGUEDAS, 2004; DÍAZ *et al.*, 2006; VIEIRA *et al.*, 2007; FERRARI, 2011; PIERI *et al.*, 2011; GASPAROTTO & PEREIRA, 2013; BARCELLI *et al.*, 2019).

A transmissão deste fungo pode ocorrer através do vento, das chuvas e de plantas vivas ou estacas, pois por sementes é muito improvável (DÍAZ *et al.*, 2006). Os esporos disseminados pelo vento têm maior favorecimento nos períodos secos, necessitando de precipitação para se estabelecer dentro da cultura (FERRARI, 2011). A severidade da ferrugem também varia de local para local e de ano em ano, dependendo das condições climáticas (ARGUEDAS, 2004; FERRARI, 2011).

Segundo Bonaldo *et al.*, (2011) esse patógeno apresenta urediniósporos ovoides, unicelulares, equinulados, lobados, com coloração amarelo-alaranjado, apresentando tamanho variando de 12,3-24,8 x 14,7-24,8  $\mu\text{m}$  e ausência de teliósporos. Entretanto, em outros países, diversos autores encontraram a fase de télia, consistindo em esporos unicelulares, hialinos, alongados, com variação das dimensões em 40-70 x 10-20  $\mu\text{m}$  (ARGUEDAS, 2004).

Pierri *et al.* (2011) afirmam que o fungo não tem espermogônios nem écios conhecidos e que télios não foram encontrados no Brasil. Porém, segundo os autores os teliósporos são formados tardiamente a partir dos uredínios, ou em soros independentes, subepidermais, formados acima da epiderme, amarelos, parafisados; paráfises como nos uredínios, inicialmente cobrindo os esporos; teliósporos clavados, fusi-claviformes, sésseis, em grupos sobre células basais, com conteúdo amarelo alaranjado, paredes hialinas, delgadas; na maturidade os esporos germinam intra-soro; pró-micélio externo, originando basidiósporos globulares.

## 2.6 Distribuição da doença

A primeira descrição de *Olivea tectonae* como agente causal da ferrugem da teca foi feita por Raciborsky (1900) na Indochina (DALY *et al.*, 2006; MESQUITA *et al.*, 2016). De acordo com Pieri *et al.*, (2011), o patógeno foi descoberto pela primeira vez na Ásia e ficou restrita à essa região por mais de 100 anos, entretanto, recentemente foram descobertos focos dessa doença em plantações de teca em vários outros países. Na América Central, em novembro de 2003, ocorreu o primeiro relato no Panamá, seguido por Costa Rica em janeiro de 2004 (ARGUEDAS, 2004). Na América do Sul, foi detectado em setembro no Equador e em dezembro no México. No ano de 2005 foi registrado na Colômbia (CÉSPEDES & YEPES, 2007), na Austrália em junho de 2006 (DALY *et al.*, 2006) e em Cuba no ano de 2008 (PÉREZ *et al.*, 2009). E o primeiro relato no continente africano ocorreu em 2017, na Costa do Marfim (KOFFI *et al.*, 2018).

No Brasil, em maio de 2009, folhas de teca provenientes de Pontes e Lacerda e Cáceres no Estado do Mato Grosso, Imperatriz no Maranhão, São Miguel do Tocantins no Tocantins e de Botucatu em São Paulo, foram verificadas com a presença desse fungo (PIERI *et al.*, 2011). Em seguida, a doença foi registrada nos estados de Minas Gerais, Amazonas, Goiás, Sergipe, Rio de Janeiro e Bahia (CABRAL, *et al.*, 2010; GASPAROTTO *et al.*, 2013; MARQUES, *et al.*, 2015; MESQUITA *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2020). Portanto, é uma doença que tem aparecido com frequência, dominando os plantios no país e que se não for controlada pode causar grandes danos a cultura (HACKBARTH, 2014; CHIMELLO, 2016).

## 2.7 Técnica de Diagnóstico Molecular – PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Segundo Menezes *et al.* (2010) a identidade dos seres vivos é definida pela composição e sequência do material genético. O marcador molecular é qualquer segmento específico de ácido desoxirribonucléico (DNA) correspondente a regiões expressas, ou não, do genoma ou qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso. Permite gerar uma grande quantidade de informações sobre a variabilidade genética e relacionamentos filogenéticos no germoplasma utilizado pelo cientista (CHIMELLO, 2016).

A técnica mais utilizada em fungos é dependente da amplificação de sequências de DNA, possível através da PCR (*Polymerase Chain Reaction* – Reação em Cadeia da Polimerase), concebida por Kary Mullis, ao qual permite a amplificação de regiões específicas



do genoma, como o Espaço Interno Transcrito (ITS), localizado entre regiões altamente conservadas, como as regiões correspondentes aos genes 18SrDNA e 28SrDNA. Desde sua concepção, esta tecnologia causou uma verdadeira revolução na biologia. A facilidade, rapidez, versatilidade e sensibilidade da PCR, a torna particularmente eficiente para estudos genéticos moleculares envolvendo grande número de indivíduos de qualquer organismo vivo (GOMES *et al.*, 2002; CHIMELLO 2016).

O estudo filogenético permite a caracterização dos possíveis mecanismos de divergência evolutiva, bem como a origem do patógeno, contribuindo para a adoção de medidas de controle e prevenção no que se refere ao surgimento de novas raças do patógeno (RIBEIRO, 2007). Dessa forma, o fato da PCR não estar sujeita a variações fenotípicas, à ação do ambiente, ao estágio de desenvolvimento do fungo e a outros fatores que possam alterar a morfologia do organismo (MARTIN, 2007; MENEZES *et al.*, 2010), é considerada, portanto, uma ferramenta muito útil nos estudos de filogenia de fungos e na diferenciação de espécies, por ser capaz de determinar o polimorfismo existente entre as sequências de nucleotídeos dos organismos (KISTLER *et al.*, 1987).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Identificação e incidência de fungo causador da ferrugem em plantas de *Tectona grandis* Linn F. em Seropédica, estado do Rio de Janeiro.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o agente causal associado as folhas de *T. grandis*, através da morfologia do patógeno;
- Detectar molecularmente os isolados do patógeno;
- Determinar a patogenicidade do fungo sob diferentes espécies de mudas da família Lamiaceae;
- Avaliar a presença ou ausência de esporos do fungo em plantas existentes próximas a área de plantio de teca;
- Analisar o comportamento do fungo causador da Ferrugem presentes na área foliar da teca, mediante variáveis climatológicas.

### 4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1 Análise Morfológica

Em março de 2018 foram coletadas, manualmente, folhas sintomáticas de dois indivíduos de *T. grandis*, com mais de 30 anos de idade, localizados nas coordenadas (22°46'06" S e 43°41'36" W). As folhas coletadas apresentavam características conforme a

descrição de Arguedas (2004): sintomas como lesões de cor marrom com pústulas pulverulentas de coloração amarelada, constituídas pela massa de urediniósporos do agente patogênico. Após a coleta, o material foi levado ao Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário (L.O.D.F.), para posterior diagnose da morfologia.

Em laboratório, as lesões cloróticas presentes na face abaxial da folha foram raspadas com auxílio de um estilete umedecido em gota de Lactofenol de Amann e observadas em microscópio estereoscópico binocular Wild heerbrugg switzerland. Em seguida, foram confeccionadas lâminas, colocando-se uma gota de Lactofenol de Amann depositando os esporos e cobrindo com uma lamínula. Foi realizado também, o seccionamento transversal do tecido foliar em uma fina fatia, com auxílio de uma lâmina de corte para visualização da estrutura fúngica em microscópio ótico OLYMPUS CX 40.

Também com observação em microscópio ótico OLYMPUS CX 40 (200x), realizou-se a medição de 100 urediniósporos tomados ao acaso, dispostos em hemocitômetro, a fim de obter uma média de suas dimensões. Os urediniósporos foram armazenados em microtubos de polipropileno de 1,5 mL (*eppendorff*), devidamente identificados e mantidos sob refrigeração à  $\pm 6^{\circ}\text{C}$  até o uso nas demais análises.

## 4.2 Análise Molecular

Para a caracterização molecular do DNA genômico do fungo se fez necessário a realização de quatro procedimentos de pré-extração, para verificar o mais adequado para o rompimento da parede dos urediniósporos, conforme abaixo:

1. adição de 1 mL da suspensão de esporos em microtubo de polipropileno de 1,5 mL, seguida de centrifugação na microcentrífuga *Centrifuge 5415 D* a 16100 x g por 1 minuto; descarte do sobrenadante e resuspensão do precipitado em 200  $\mu\text{L}$  de água destilada, deionizada, tratada com DEPC; adição de nitrogênio líquido e maceração com micropistilo (Amostra A);
2. adição de 1 mL da suspensão de esporos em microtubo de polipropileno de 1,5 mL e aquecimento em micro-ondas por quatro minutos (Amostra B);
3. em um microtubo de polipropileno de 1,5 mL acrescentou-se 1 mL da suspensão de esporos, 400  $\mu\text{L}$  do tampão AP1 e 20  $\mu\text{L}$  de proteinase K. O microtubo contendo a amostra foi agitado em *Vortex Mixer* (FisherVortexGenie2) por 30 segundos e incubados em bloco térmico *Daigger Dry Bath* a  $75^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, subsequentemente aumentou-se a temperatura para  $95^{\circ}\text{C}$  por mais 10 minutos (Amostra C);
4. foram pesados 150 mg de amostra foliar em balança analítica digital FX-200i, obtida de área foliar contendo elevado número de esporos e depositados em almofariz de porcelana. Em seguida, foi adicionado nitrogênio líquido sob a amostra e macerou-se com auxílio de um pistilo (Amostra D).

Após cada um dos procedimentos acima, seguiu-se a extração de DNA segundo metodologia interna do L.O.D.F., através do uso do *DNeasy Plant Mini Kit* (QIAGEN Brasil) de acordo com as instruções do fabricante. Ou seja, com o auxílio de uma micropipeta P1000 foi adicionado 400  $\mu\text{L}$  de tampão AP1 nos microtubos de polipropileno de 1,5 mL contendo as quatro amostras seguido de agitação vigorosa em *Vortex* durante 30 segundos. Após, as



amostras foram colocadas em bloco térmico por 10 minutos à 65°C. Adicionou-se 130 µL de tampão P3 e incubou-se as amostras por cinco minutos no gelo. O conteúdo foi aplicado nas colunas lilás (*QIASHREDDER*). Centrifugou-se as colunas lilás, colocada em tubos de 2 mL (*Collection Tube*), na microcentrífuga *Centrifuge 5415 D* a 16100 x g por dois minutos e 30 segundos. Coletou-se os filtrados e adicionou-se 675 µL de tampão AW1 (contendo etanol) aos filtrados, misturou-se pela pipetagem e transferiu-se 650 µL do volume nas colunas brancas (*DNeasy Mini spin column*). Centrifugou-se, na microcentrífuga *Centrifuge 5415 D*, as colunas brancas a 6000 x g (8000 rpm) por um minuto. Descartou-se os filtrados e adicionou-se 500 µL de tampão AW2 nas colunas brancas, centrifugando na microcentrífuga *Centrifuge 5415 D* a 6000 x g (8000 rpm) por um minuto. Descartou-se os filtrados, novamente, e transferiu-se as colunas brancas para novos tubos de 2 mL, adicionando 500 µL de tampão AW2 e centrifugando na microcentrífuga *Centrifuge 5415 D* a 16100 x g por dois minutos e 30 segundos. As colunas brancas foram transferidas para microtubos de polipropileno, pipetando 100 µL de tampão AE e incubando-se por 5 minutos a temperatura ambiente (23 °C) seguida de deposição na microcentrífuga *Centrifuge 5415 D* para centrifugação a 6000 x g (8000 rpm) por um minuto para eluir. Retirou-se e descartou-se as colunas brancas dos microtubos de polipropileno, e por fim, fechou os mesmos para que permanecesse somente o DNA extraído. Subsequente, as quatro amostras contidas nos microtubos de polipropileno foram identificadas e mantidas em freezer com temperatura de -26 °C para posterior uso na *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Para o teste de PCR foram utilizados os iniciadores universais ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (WHITE *et al.*, 1990), as quais amplificam um fragmento genômico de 600 a 800 pares de bases (pb). Na reação procede-se ao uso de produtos contidos no *Extract-N-AMP™ Plant PCR Kit* (SIGMA). Foram utilizados 10 µL de *Extract-N-Amp*, 1 µL de cada *primer* (ITS1 e ITS4), 2 µL de DNA extraído e 6 µL de água destilada, deionizada, e esterilizada tratada com DEPC, em um volume total da reação de 20 µL em microtubo de polipropileno de 1,5 mL. Um controle negativo sem DNA foi incluído nas ampliações do PCR. As reações foram efetuadas em um termociclador PTC-200 (*MJ Research*), sob as seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C por cinco minutos; seguidos de 30 ciclos com desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 56°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 60 segundos; e extensão final a 72°C por cinco minutos; com duração de aproximadamente duas horas e dezoito minutos.

Para avaliar a qualidade e integridade do DNA extraído, os produtos amplificados de PCR e o controle foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1 %, corado com brometo de etídio (10 mg/mL), utilizando o tampão TAE 1X, sendo aplicado 16 µL do produto de PCR nas canaletas do gel, com duração de aproximadamente 20 minutos. Os géis foram analisados em transiluminador sob luz ultravioleta e fotografados por câmera para posterior análise do amplicon.

### 4.3 Teste de Patogenicidade

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação do L.O.D.F., localizado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), município de Seropédica, na região oeste da baixada fluminense (22°46'09" S e 43°41'36" W). A altitude da área de estudo é de 26 metros (Figura 2).

O clima é do tipo tropical Aw, segundo a classificação de Köppen-Geiger, caracterizado por duas estações bem definidas ao longo do ano, sendo uma chuvosa de novembro a abril e

outra seca de maio a outubro, sendo julho o mês mais seco. A temperatura média anual varia de 24°C a 27°C e as precipitações pluviométricas em torno de 1.400 mm.ano<sup>-1</sup>. As características do relevo do município são predominantemente marcadas pela topografia plana e suave-ondulada. A vegetação original da região é composta de Floresta Estacional.



**Figura 2.** Localização da Área de Estudo, adaptado do Google Earth (2021).

Para avaliar se outras espécies botânicas da família Lamiaceae são hospedeiras alternativas do fitopatógeno, realizou-se a inoculação de uredinósporos em algumas espécies de mudas saudáveis disponíveis no viveiro Ateliê das Flores (Tabela 1).

**Tabela 1.** Lista de espécies da família Lamiaceae contendo nome vulgar, utilizadas no Teste de Patogenicidade.

Nome vulgar	Nome Científico	Família
Árvore-do-cotonete	<i>Clerodendrum quadriloculare</i> (Blanco) Merr.)	Lamiaceae
Lavanda	<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Lamiaceae
Hortelã	<i>Mentha spicata</i> L.	Lamiaceae
Alfavaca	<i>Ocimum americanum</i> L.	Lamiaceae
Manjericão	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Lamiaceae
Alfavacão	<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Lamiaceae
Orégano	<i>Origanum vulgare</i> L.	Lamiaceae
Boldo-brasileiro	<i>Plectranthus barbatus</i> Andrews	Lamiaceae
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae
Sálvia	<i>Salvia officinalis</i> L.	Lamiaceae
Erva-cidreira	<i>Melissa officinalis</i> L.	Lamiaceae

O inóculo oriundo de plantas de Teca em Seropédica-RJ foi obtido em abril de 2020 e procedeu-se a coleta dos esporos através da raspagem das folhas sintomáticas com o auxílio de um pincel de cerdas macias. Posteriormente foi realizada uma suspensão de esporos com água destilada, deionizada, esterilizada e homogeneizada em agitador magnético Fisatom. A suspensão foi ajustada a uma concentração de  $2 \times 10^4$  urediniósporos por mL com o auxílio de hemocítmetro (SOOD *et al.*, 2009; CHIMELLO, 2016; DELMADI, 2017).

O procedimento foi feito em casa de vegetação sem controle de temperatura e umidade utilizando três mudas de cada espécie, incluindo a testemunha. As plantas foram cultivadas em vasos plásticos de 2,8 litros contendo terra autoclavada + turfa esterilizada, sendo irrigadas com irrigador diariamente.

Na inoculação aplicou-se aproximadamente 100  $\mu$ L da suspensão de urediniósporos por planta, foram depositadas gotículas da suspensão com auxílio de uma micropipeta P1000, em seguida, um estilete esterilizado foi utilizado para fazer uma pequena perfuração nas folhas. Após a inoculação, foi preparado uma câmara úmida onde as mudas estiveram cobertas com sacos plásticos transparentes por 24 horas (CHIMELLO, 2016; DELMADI, 2017). A testemunha foi constituída da deposição sobre as folhas de água pura, destilada e esterilizada, sem a presença de esporos. Subsequente a isto, as folhas das mudas foram avaliadas diariamente, analisando se houve sinais do patógeno e/ou presença de sintomas. A duração do teste foi de 15 dias após a inoculação.

Foram registrados dados de temperatura e umidade no dia da inoculação, bem como a média dos dados climáticos durante todo o experimento. A temperatura média diária foi de 25°C e a média da temperatura mínima durante todo o experimento foi de 22°C e da máxima de 24°C. A umidade relativa média diária foi de 72%, com mínima e máxima de 52% e 75%, respectivamente.

Em junho de 2020 foi realizado a inoculação em duas folhas de cada espécie das mudas mencionadas anteriormente. Em condições assépticas as folhas foram desinfestadas com água destilada e esterilizada por 15 minutos, posteriormente transferidas para uma solução de hipoclorito de sódio a 0,25% por 15 minutos e colocadas em água destilada e esterilizada por mais 15 minutos. Aplicou-se 100  $\mu$ L da suspensão por folha contidas em placas de Petri, na sequência, foi utilizado um estilete esterilizado para provocar um pequeno ferimento nas folhas. As amostras foram mantidas sob temperatura de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  por cinco dias, a fim de se obter uma câmara úmida para verificar se houve o desenvolvimento do patógeno, como a formação de estruturas vegetativas e/ou reprodutivas do fungo sobre o tecido foliar.

Para verificar a patogenicidade dos urediniósporos obtidos de plantas de Teca e usados nos testes de patogenicidade para as plantas da família Lamiaceae, foram adquiridas mudas de teca da empresa Futuro Florestal/SP para a realização do Postulado de Koch. Estas foram transferidas para vasos contendo turfa esterilizada e mantidas em casa de vegetação sem controle de temperatura e umidade. Em abril de 2021 foi feita a inoculação das mudas, através do mesmo procedimento mencionado anteriormente, porém utilizando três mudas inoculadas e uma testemunha. Os sintomas e sinais foram avaliados após três semanas de inoculação, por meio de análise dos sintomas e exame microscópico.

#### **4.4 Teste de Hospedeiros Alternativos**

Amostras foliares de 28 espécies (Tabela 2) foram coletadas ao redor das árvores de *T. grandis*, em um raio de aproximadamente 100 m, para verificar se essas plantas possam estar

servindo como hospedeiro intermediário para alguma fase do ciclo do fungo causador da Ferrugem da Teca.

**Tabela 2.** Lista de espécies botânicas contendo nome vulgar e família existentes próxima a área dos indivíduos de *Tectona grandis* Linn F.

Nome vulgar	Nome científico	Família
Acalifa Verde	<i>Acalypha wilkesiana</i> “Hoffmanii”	Euphorbiaceae
Crista-de-peru	<i>Acalypha wilkesiana</i> Müll.Arg.	Euphorbiaceae
Alamanda-amarela	<i>Allamanda cathartica</i> L.	Apocynaceae
Perpétua-do-mato	<i>Alternanthera brasiliana</i> (L.) Kuntze	Amaranthaceae
Graviola	<i>Annona muricata</i> L.	Annonaceae
Brachiária	<i>Brachiaria</i> sp. (Trin) Griseb	Poaceae
Picão-preto	<i>Bidens pilosa</i> L.	Asteraceae
Urucum	<i>Bixa orellana</i> L.	Bixaceae
Mamão	<i>Carica papaya</i> L.	Caricaceae
Laranja	<i>Citrus</i> sp.	Rutaceae
Manga-da-praia	<i>Clusia fluminensis</i> Planch. & Triana	Clusiaceae
Cocô	<i>Cocos nucifera</i> L.	Arecaceae
Café	<i>Coffea arabica</i> L.	Rubiaceae
Algodão	<i>Gossypium hirsutum</i> L.	Malvaceae
Mogno-africano	<i>Khaya grandifoliola</i> C. DC.	Meliaceae
Erva-cidreira-de-arbusto	<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br. Ex Britton & P.Wilson	Verbanaceae
Acerola	<i>Malpighia emarginata</i> D. C.	Malpighiaceae
Sapoti	<i>Manilkara zapota</i> L.	Sapotaceae
Amora-preta	<i>Morus nigra</i> L.	Moraceae
Banana	<i>Musa</i> sp.	Musaceae
Falso-boldo	<i>Plectranthus barbatus</i> Andrews	Lamiaceae
Beldroega	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Portulacaceae
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae
Rosa	<i>Rosa</i> sp.	Rosaceae
Erva-moura	<i>Solanum americanum</i> Mill.	Solanaceae
Arnica	<i>Solidago chilenses</i> Meyen.	Asteraceae
Jambo-vermelho	<i>Syzygium malaccense</i> L. Merr & Perry	Myrtaceae
Pau-formiga	<i>Triplaris americana</i> L.	Polygonaceae

Quatro amostras foliares com área de 4 x 4 cm de cada planta foram postas em saco plástico contendo 50 mL de água destilada, esterilizada e maceradas com auxílio de um pistilo. O conteúdo obtido foi transferido para tubo cônico tipo *Falcon*, pesado em balança eletrônica digital e centrifugado em uma centrífuga de mesa Sigma Laboratory Centrifuges 4K15, com velocidade de 5.000 rpm por um minuto à 23°C de temperatura. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e procedeu-se a confecção de lâminas com o resíduo (material precipitado) para observação em microscópio ótico OLYMPUS CX 40, com a finalidade de identificar a presença/ausência de esporos do patógeno.

#### 4.5 Epidemiologia (Incidência da Doença)

Para a análise epidemiológica, que visa avaliar o progresso da doença, foram coletadas, semanalmente, durante o período de estudo, uma folha sintomática da árvore Teca presente na área com mais de 30 anos de idade, na direção leste (nascer do sol) no período da manhã e levadas para o laboratório.

Em seguida, foram selecionadas quatro localidades na folha, duas próximas à base e duas próximas a ponta, através de um molde com dimensões de 4 x 4 cm, a fim de realizar a quantificação do número de pústulas presentes na face abaxial da mesma, com o auxílio de um microscópio estereoscópico binocular Wild Heerbrugg Switzerland no aumento de 200x.

Os dados coletados foram organizados em planilhas Excel.

#### 4.6 Análise Estatística

Para verificar a correlação entre a frequência de pústulas nas folhas de teca e as variáveis climáticas, foram coletados dados diários de Temperatura do Ar (C°), Umidade Relativa do Ar (%), Precipitação (mm) e Velocidade do Vento (m/s) da Estação Meteorológica Automática de Superfície (EMAS) de Seropédica, denominada de Ecologia Agrícola (EA), no período de estudo. Esses dados foram adquiridos no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

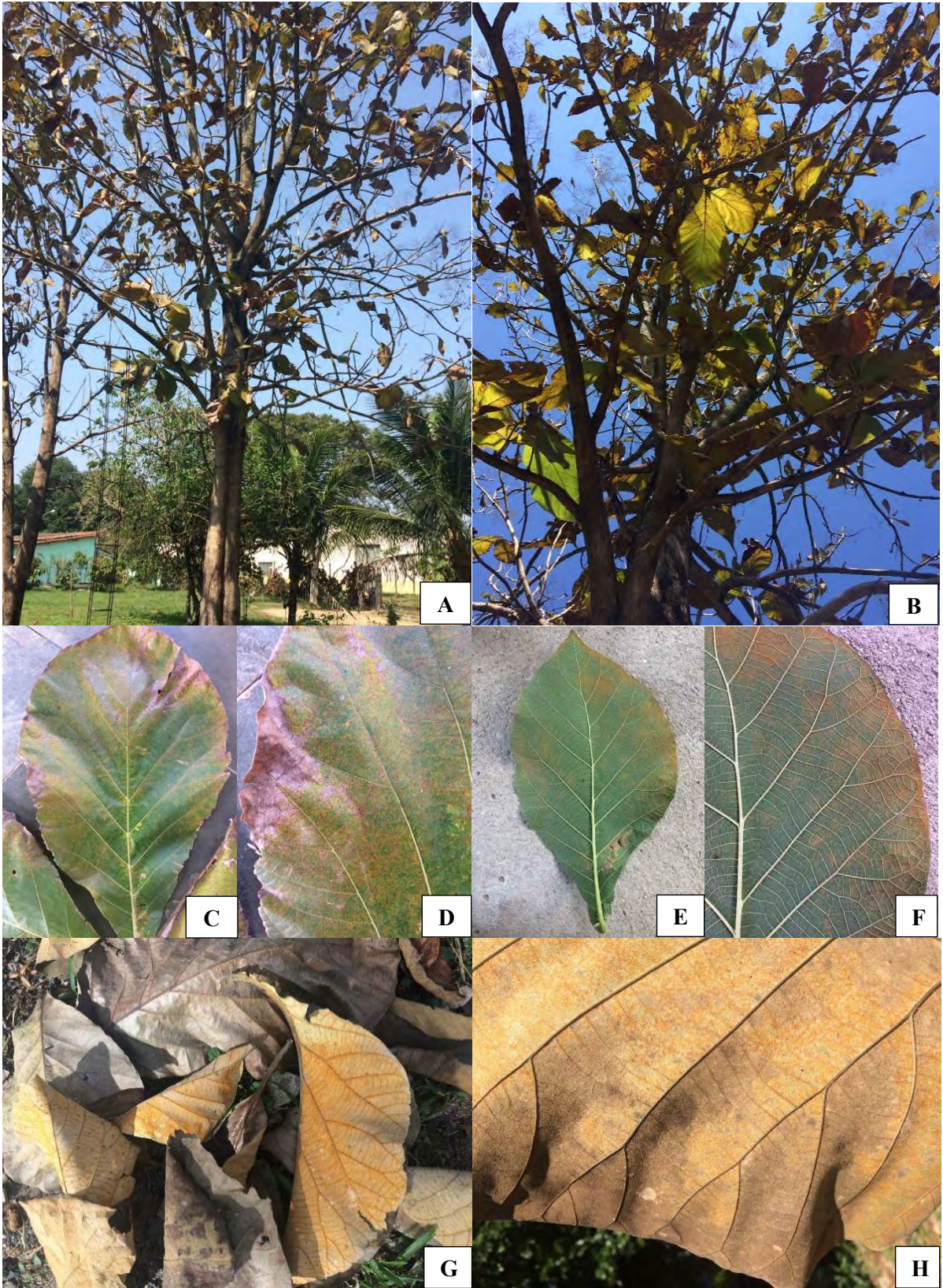
Após a tabulação dos dados, foram elaborados gráficos de linhas para a variável Número de esporos em função do tempo de estudo e *Box Plot* (esporos x meses) com o objetivo de visualizar tendências. Em seguida, foi realizado a análise descritiva dos dados, com gráficos de dispersão das variáveis, e índice linear de correlação de *Spearman* ( $\rho$ ), com a significância determinada pelo teste  $F$  ( $p < 0,05$ ), devido a não obtenção da normalização dos dados e homogeneidade da variância para realizar o teste paramétrico. Todas as análises foram submetidas no programa “R” versão 3.5.1.

### 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em março de 2018 foi observado o desfolhamento acentuado, principalmente das folhas mais baixas, de plantas adultas de *T. grandis* infectadas por um agente patogênico, bem como pequenas lesões cloróticas que se evoluem para lesões necróticas de coloração marrom alaranjado e queimaduras presentes essencialmente nas bordas da parte superior das folhas, caracterizando o início da infecção.

Na parte inferior foi observado uma coloração amarela alaranjada devido a intensa acumulação de massa de esporos, ou seja, inúmeras pústulas pulverulentas, que rompem a epiderme liberando os urediniosporos, espalhadas pela folha e que com o avanço da doença reveste toda superfície foliar. Além disso, verificou-se os mesmos sintomas e sinais nos frutos das plantas (Figura 3A - J).









**Figura 3.** Sintomas de ferrugem associados à espécie florestal *Tectona grandis*. (A-B) Árvores adultas com queda precoce e severa das folhas; (C-D) Parte superior da folha com aspecto de queima; (E-F) Parte inferior da folha com pústulas pulverulentas de esporos do patógeno; (G-H) Folhas secas caídas sob o solo totalmente revestidas pela massa de esporos e limbo com aspectos de queima; (I-J) Frutos cobertos por esporos e com aspecto de queima. Fotos: Savana L. Rodrigues

A mesma sintomatologia foi descrita em Cuba por Pérez *et al.* (2009) quando relataram que os sintomas se iniciaram com diminutas áreas de necrose regulares e irregulares de cores marrom à cinza que cobrem a superfície superior da folha. Posteriormente, as folhas secam e apresentam um aspecto de queima. Surge também, a presença de numerosas urédias subepidérmicas de coloração amarelada na superfície inferior da folha (CABRAL *et al.*, 2010; KOFFI *et al.*, 2018), e com a completa severidade, precede-se ao desfolhamento da planta.

Segundo Arguedas (2004) em plantas jovens, especialmente associadas a viveiros, ocorre a maior suscetibilidade ao desfolhamento. Porém, Sales (2016) relata que a desfolha intensa da planta ocorre com o aumento da severidade da doença, levando a perdas expressivas na produção madeireira devido à redução da taxa fotossintética. Esse fato é confirmado pela observação do desfolhamento das plantas adultas durante os meses mais frios do ano para o estado do Rio de Janeiro (maio a agosto).

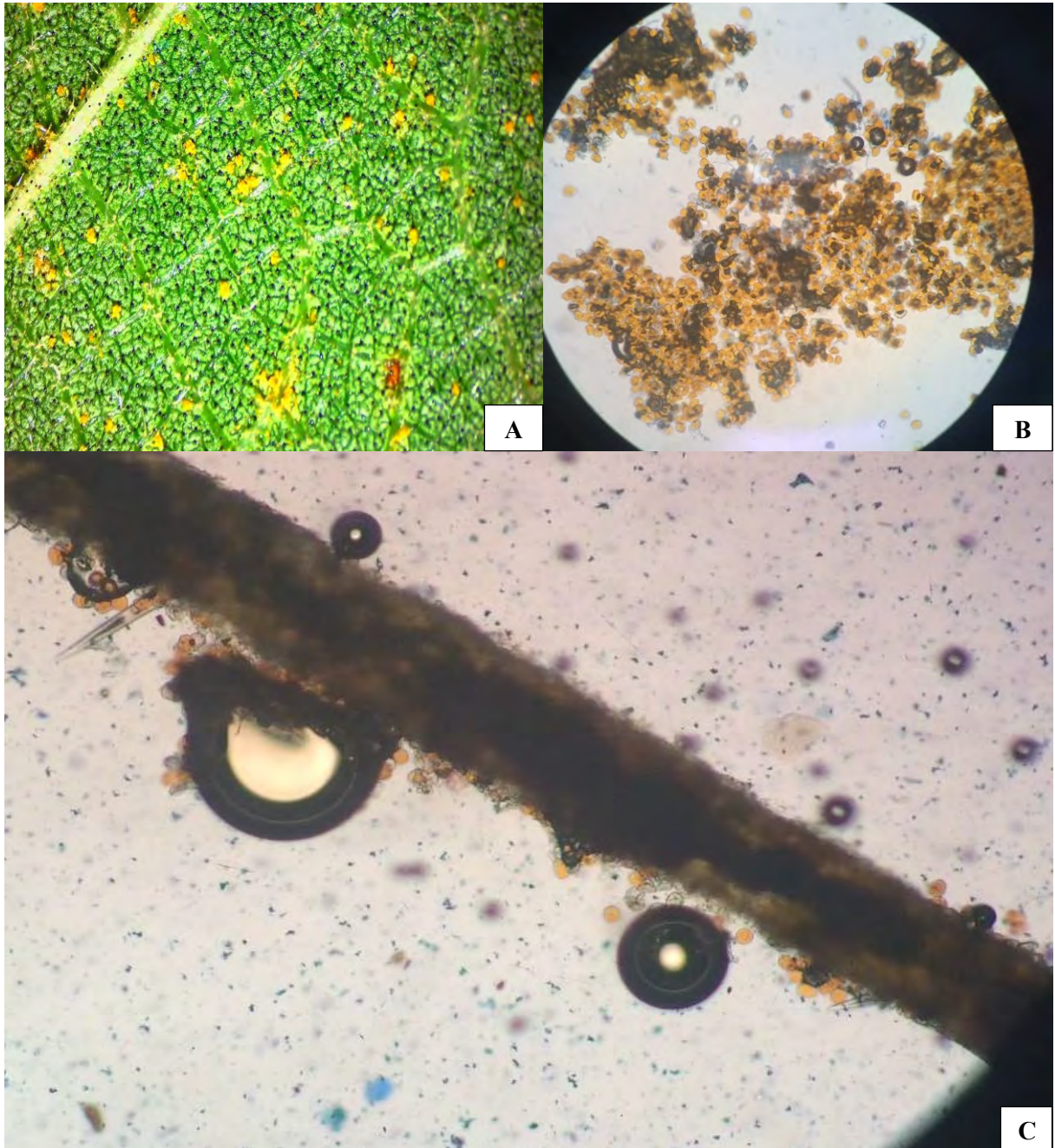
Para Pérez *et al.* (2009) os primeiros sintomas ocorrem nas folhas das plantas de todas as idades, entretanto, as folhas mais velhas são as mais infectadas, com sintomas drásticos, especialmente as folhas das partes baixas (ARGUEDAS, 2004; BARCELI *et al.*, 2019), tal como também foi verificado nos resultados supracitados.

De acordo com Ferrari (2011) em plantas adultas as lesões cloróticas podem evoluir para necróticas até queima generalizada. Em concordância com este trabalho, Arguedas (2004) afirma que árvores isoladas ou estressadas apresentam grandes quantidades de infecções que podem cobrir toda a folhagem. Além disso, Cabral e colaboradores (2010) observaram que as lesões também estão visíveis nas inflorescências da planta.

### 5.1 Análise Morfológica

As características macroscópicas do agente causal podem ser visualizadas na superfície inferior das folhas de teca, com a presença de pústulas pulverulentas subepidérmicas representadas pela estrutura de frutificação da fase II (urédias) do ciclo do fungo (Figura 4A).

A análise das estruturas fúngicas, em lâminas, permitiu observar os urediniósporos de pigmentação amarelo-alaranjado (Figura 4B) e parte do tecido foliar impregnado por urediniósporos (Figura 4C). Estes são obovoides, unicelulares, equinulados, hialinos a amarelos brilhante, com dimensões variando de 17,9-23,5 x 15,7-19,6  $\mu\text{m}$ ; paredes lisas e espessas com 2  $\mu\text{m}$  de largura. Ausência de teliósporos.



**Figura 4.** (A) Face abaxial da folha de teca com detalhes das urédias de *Olivea tectonae* sob observação em Microscópio Estereoscópico binocular (120x). (B) Lâmina contendo urediniósporos amarelo-alaranjados sob observação em microscópio ótico (100x). (C) Amostra foliar sintomática de teca com urediniósporos sob observação ao microscópio ótico (200x). Fotos: Savana L. Rodrigues



Bonaldo *et al.* (2011) e Mesquita *et al.* (2016) analisando material coletado em Mato Grosso e Sergipe, evidenciaram a presença de urediniósporos em folhas de teca com as mesmas características microscópicas descritas acima.

Na Costa Rica, outros autores descreveram características similares, como Arguedas (2004) e Arguedas *et al.* (2013) que identificaram urediniósporos equinulados, ovoides a elipsoides, medindo 17-20 x 15-25  $\mu\text{m}$ . Para Ferrari (2011) o fungo forma urédios hipófilos, pulverulentos, subepidérmicos, com paráfises cilíndricas, curvas e proeminente no ápice. Os urediniósporos são unicelulares ovalados, arredondados e equinulados, hialinos a amarelados com tamanho variando de 18-28 x 14-22  $\mu\text{m}$ .

Pieri *et al.* (2011) e Marques *et al.* (2015) encontraram as mesmas características para suas regiões de estudo, onde as urédias eram hipófilas, com 0,2-0,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, amarelas, pulverulentas, subepidérmicas, irrompentes, paráfises densas e marginais; paráfises cilíndricas, encurvadas, 27-55 x 7-13  $\mu\text{m}$ , unidas na base, lisas, paredes engrossadas distalmente, hialinas a marrom-pálidas. Urediniósporos pedicelados, subglobosos, obovoides a elipsoides, 21-24 x 16-18  $\mu\text{m}$ , quando novos com conteúdo amarelo-alaranjado, parede de coloração marrom-canela, medindo 0,5-1,0  $\mu\text{m}$  de espessura, poros germinativos inconspícuos.

No estado do Amazonas, Gasparotto *et al.* (2013) observaram através da microscopia eletrônica de varredura uredínias mistas subepidérmicas, irrompentes, parafisadas e hipófilas, 0,1-0,5 mm, compostos de urediniósporos amarelos e brilhantes, pedicelados equinulados, ovoides a subovoides ou elipsoides, com poros germinativos equatoriais, 18-28 x 14-22  $\mu\text{m}$ ; paredes hialinas (até 2,5  $\mu\text{m}$ ), com teliósporos velhos produzidos nas uredínias; paráfises periféricas, hialinas ou levemente amarronzadas, curvadas, cilíndricas e unidas nas bases e largas nos ápices, 30-47 x 10-14  $\mu\text{m}$ , paredes até 5  $\mu\text{m}$ . Télios mistos ou separados, serosos, subepidérmicos, teliósporos sésseis, 22-15 x 3,8-12,6  $\mu\text{m}$ , unicelulares, sobre células esporogênicas, poros germinativos apicais com germinação sem dormência.

Osorio *et al.* (2019) utilizando técnicas de microscopia de varredura revelaram urediniósporos globosos, pediculados, de formato ovoide a elipsoide, com cores variando de amarelo a amarelo-laranja e marrom, e tamanho variando de 16-25 x 12-23  $\mu\text{m}$ . Observaram paráfises densas e marginais, cilíndricas e curvas. Os tubos germinativos de esporos em germinação eram em média 26 x 3  $\mu\text{m}$  e os apressórios eram em média 6 x 3  $\mu\text{m}$ . Não foram observados teliósporos.

Recentemente, na Bahia Silva *et al.* (2020) visualizaram uredínios hipófilos, dispersos, subepidérmicos, irrompentes, de coloração laranja amarelado brilhante, pequenos, com 0,2-0,5 mm de diâmetro. Urediniósporos subglobosos, obovoides a elipsoides, de coloração laranja amarelado, com 18-26 x 14-20  $\mu\text{m}$ , apresentando ornamentação equinulada, hialina, com 2  $\mu\text{m}$  de espessura. Paráfises periféricas, encurvadas, unidas na base, formando um plexo de hifas entrelaçadas, cilíndricas, inchadas no ápice, com 30-45 x 10-14  $\mu\text{m}$ , parede lisa, de coloração hialina a castanho clara, com 2,5  $\mu\text{m}$  de espessura.

Para Pérez e colaboradores (2009), em Cuba, as urédias eram pulverulentas, alaranjadas, subepidérmicas no início, depois irrompentes. As paráfises eram cilíndricas, curvas e inchadas no ápice, de 3-5  $\mu\text{m}$ . Os urediniosporos eram ovoides, amarelo-alaranjado, equinulados, 20-23 x 16-22  $\mu\text{m}$ , com poros germinativos presentes e paredes celulares com espessura de 2-5  $\mu\text{m}$ . Teliósporos estavam ausentes.

Em trabalho realizado no continente africano por Koffi *et al.* (2018) as urédias apresentavam paráfises hialinas encurvadas medindo 31-39 x 15-20  $\mu\text{m}$ . Urediniósporos produzidos em um pedicelo curto, subgloboso, ovoide a elipsoide, equinulado amarelo

alaranjado ou hialino medindo 25-36 x 18-21  $\mu\text{m}$ . Os autores também não observaram teliósporos.

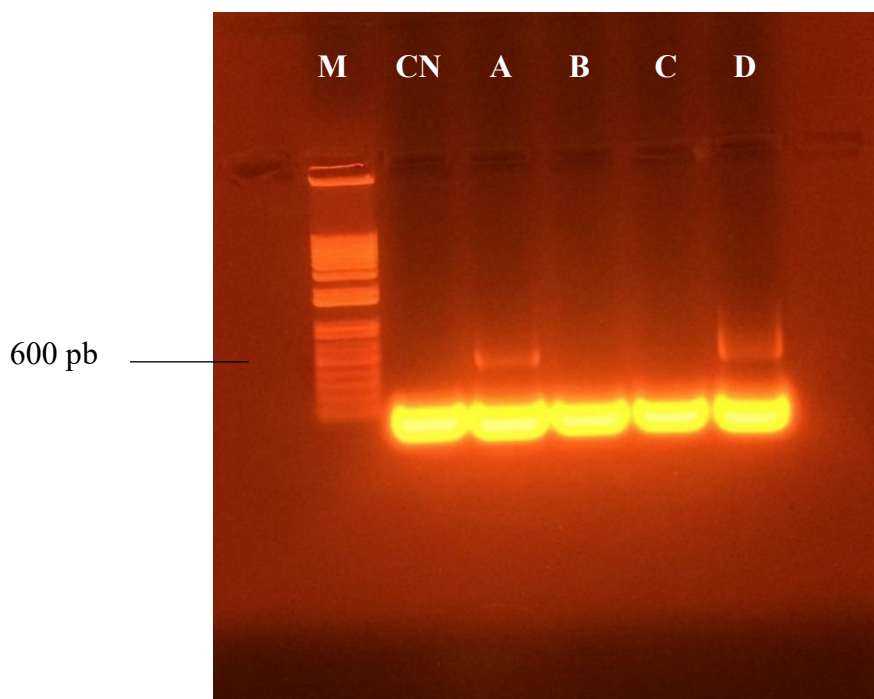
Na Colômbia, Céspedes e Yepes (2007) detalharam a morfologia do fungo como soros anamórficos hipofilos, redondos; paráfises cilíndricas, curvadas, parede espessada, hialino ou amarelado, lisa, unidas na base; anamorfo, pediculado, subglobosa, ovoide a elipsoide, com 18-28 x 14-22  $\mu\text{m}$ , parede com 2  $\mu\text{m}$  de largura, poros germinais hialinos, equinulados. Teliosporos semelhantes ao anamorfo; probasídio clavado a cilíndrico, 38-51 x 6-11  $\mu\text{m}$ , parede hialina; metabasídio formado pelo alongamento apical do probasídio; basidiósporos globosos a ovoides, 8-9  $\mu\text{m}$  de diâmetro.

Desta maneira, as características morfológicas observadas foram confirmadas para os urediniósporos, semelhantes ao descrito na literatura citada para *O. tectonae* (segundo *Index Fungorum*), agente causal da Ferrugem da Teca, no Brasil, especificamente no estado do Rio de Janeiro, sendo essa a única e exclusiva ferrugem conhecida desta espécie florestal.

Não obstante, Aime e McTaggart (2021) consideram existir mais um gênero de Ferrugem associado a teca e denominaram a espécie como *Neolivea tectonae* (Racib.) Aime & McTaggart, que difere das outras espécies de *Olivea* descritas na produção de urediniósporos arredondados com poros germinativos imperceptíveis, bem como télia laranja cerosa.

## 5.2 Análise Molecular

Os produtos de PCR do fungo *O. tectonae* utilizando os iniciadores ITS1 e ITS4 originou o fragmento esperado de 600 pb para as amostras A e D, sendo estas consideradas as melhores opções para a identificação do patógeno, por terem proporcionado quantidades satisfatórias de DNA para a amplificação. As amostras B e C não apresentaram bandas, significando a ineficiência dessas metodologias de pré-extração (Figura 5).



**Figura 5.** Eletroforese em gel de agarose a 1% contendo brometo de etídio do produto de amplificação da região do DNA por PCR de *Olivea tectonae* com os “primers” ITS1 e ITS4. (M) Marcador de massa molecular (1kb); (CN) Controle negativo da reação; Amostras das quatro metodologias de pré-extração representadas pelas letras A, B, C e D.

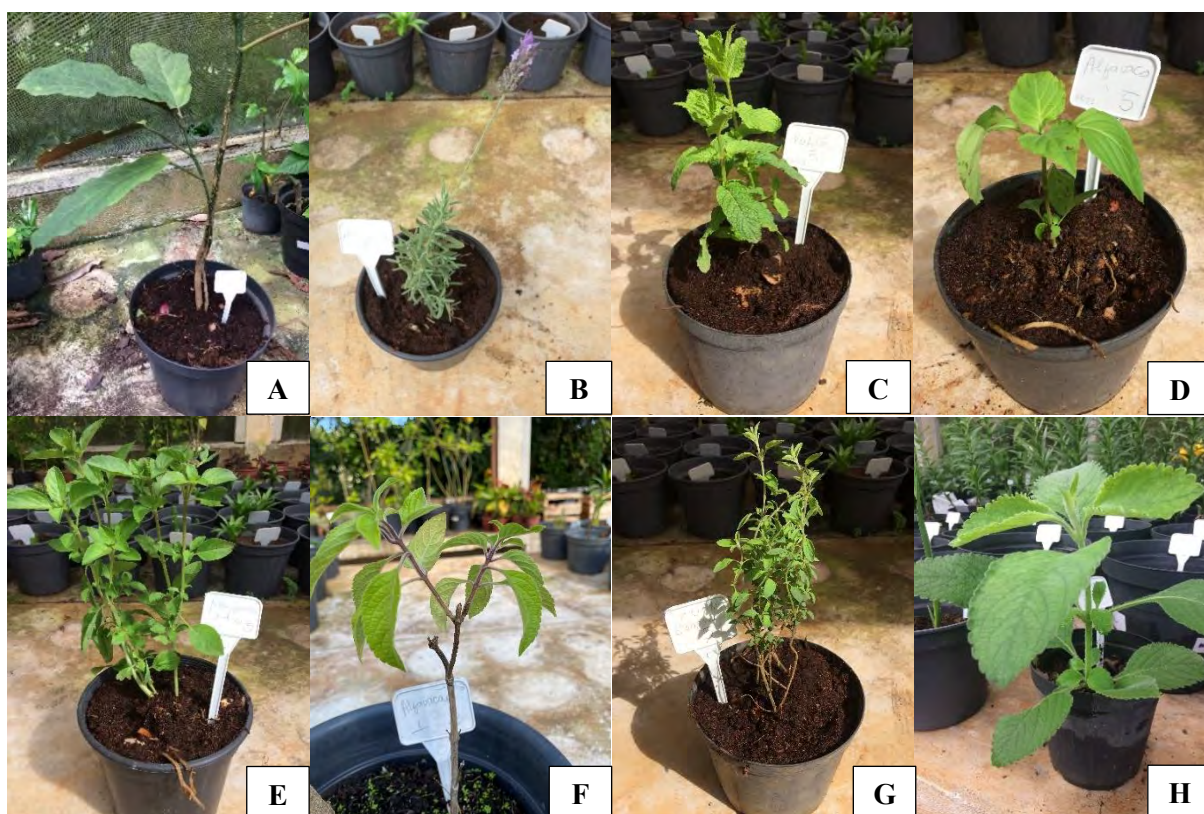
Este resultado concorda com os obtidos por outros autores que encontraram fragmentos de aproximadamente 600 pb para a região ITS1 e ITS4 de isolados fúngicos dos gêneros *Trichoderma* Pers. e *Fusarium* Link (MENEZES *et al.*, 2010).

Osorio (2016) na identificação do patógeno através da análise molecular obteve o mesmo fragmento de 600 pb, porém utilizou método distinto na reação para amplificar o DNA, sendo este composto por 12,5 µL de *Taq* DNA Polymerase Master Mix Ampliqon III (*Ampliqon ApS, Copenhagen, Denmark*), 0,25 µL de cada “*primer*” (ITS1 e ITS4), 3 µL de DNA do fungo e 9 µL de água ultra pura. Houve diferenciação nos ciclos para as ampliações, que foi programado para desnaturação inicial à 95°C por 2 minutos, seguido de 38 ciclos de 95°C por 30 segundos, anelamento à 51°C por 1 minuto, extensão à 72°C por 1 minuto, e extensão final à 72°C por 5 minutos.

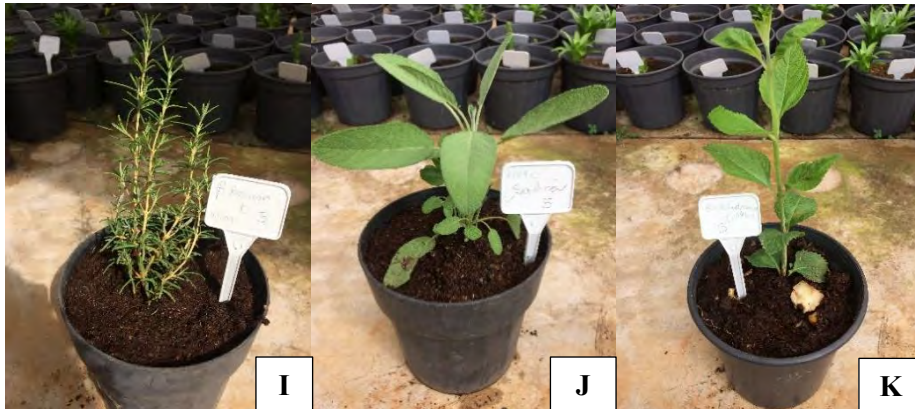
### 5.3 Teste de Patogenicidade

Nas condições avaliadas, após 24 horas de inoculação com a retirada dos sacos plásticos transparentes das mudas não foram observadas lesões cloróticas ou manchas típicas de *O. tectonae* nas folhas das espécies de Lamiaceae.

No 5°, 10° e 15° dias após a inoculação, avaliando a incidência da doença para confirmar a patogenicidade do fungo no tratamento contendo três mudas mais a testemunha, as folhas das mudas inoculadas permaneceram assintomáticas (Figura 6A-K).

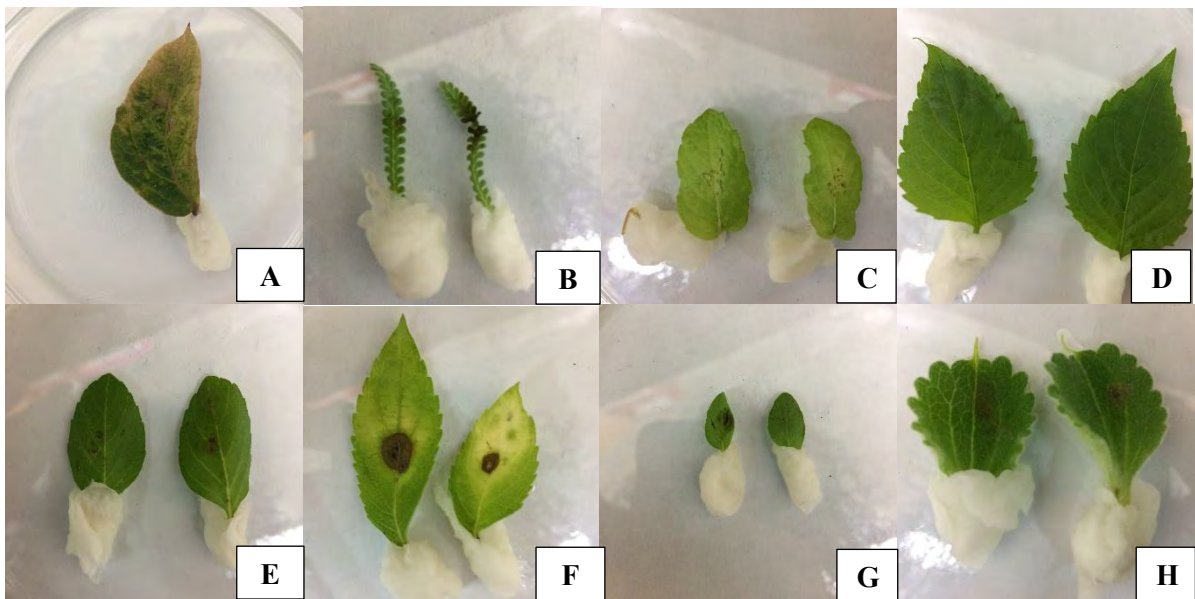


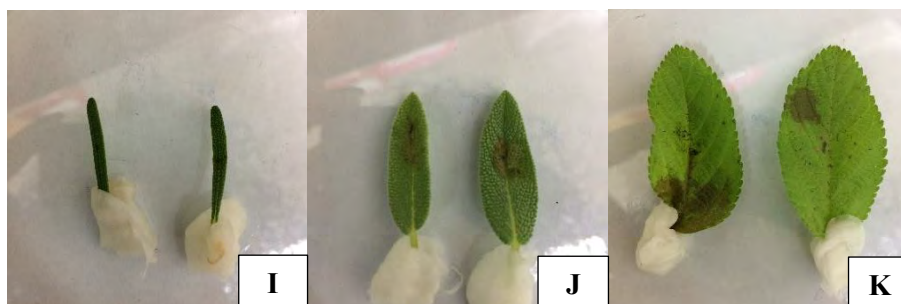




**Figura 6.** Ensaio de patogenicidade: Vasos acondicionados com mudas das espécies de Lamiaceae após 15 dias de inoculação. (A) *Clerodendrum quadriloculare* (Blanco) Merr.; (B) *Lavandula angustifolia* Mill.; (C) *Mentha spicata* L.; (D) *Ocimum americanum* L.; (E) *Ocimum basilicum* L.; (F) *Ocimum gratissimum* L.; (G) *Origanum vulgare* L.; (H) *Plectranthus barbatus* Andrews; (I) *Rosmarinus officinalis* L.; (J) *Salvia officinalis* L.; (K) *Melissa officinalis* L. Fotos: Savana L. Rodrigues

A inoculação em folhas das espécies botânicas estudadas que estavam mantidas em placas de Petri, foram examinadas após 7 e 15 dias e não se observaram sintomas de *O. tectonae* para nenhuma das amostras (Figura 7A-K), indicando, portanto, que essas espécies são imunes ao agente causador da ferrugem, e que provavelmente, não estão servindo como fonte de inóculo para o fungo.





**Figura 7.** Ensaio de patogenicidade: Folhas das mudas submetidas a câmara úmida após 15 dias de inoculação. (A) *Clerodendrum quadriloculare* (Blanco) Merr.; (B) *Lavandula angustifolia* Mill.; (C) *Mentha spicata* L.; (D) *Ocimum americanum* L.; (E) *Ocimum basilicum* L.; (F) *Ocimum gratissimum* L.; (G) *Origanum vulgare* L.; (H) *Plectranthus barbatus* Andrews; (I) *Rosmarinus officinalis* L.; (J) *Salvia officinalis* L.; (K) *Melissa officinalis* L. Fotos: Savana L. Rodrigues

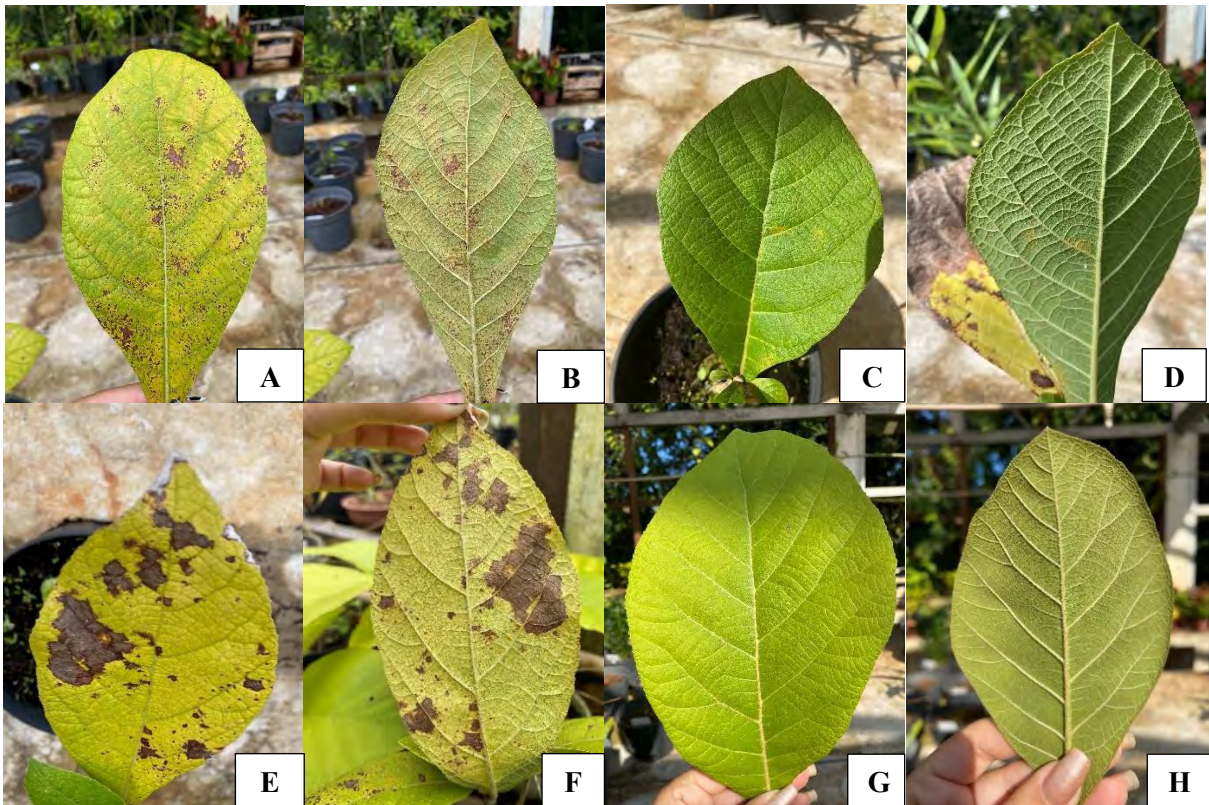
Segundo Ferrari (2011) e Arguedas (2004) esta doença é uma ferrugem autoécia e microcíclica, ou seja, desenvolve suas fases em um único hospedeiro, e seu ciclo de vida é considerado incompleto, pois não se conhece todos os cinco tipos de esporos. Até o momento nenhum outro hospedeiro foi relatado na literatura. Isto pode ser comprovado neste trabalho, diante da não obtenção de sintomas e sinais nas espécies botânicas inoculadas com *O. tectonae*, bem como, na busca por hospedeiros alternativos em área localizada próximo ao plantio dos indivíduos de *T. grandis*.

Os sinais do patógeno foram observados após 5 dias de inoculação das mudas de teca, onde as pústulas contendo esporos amarelo alaranjados eram visíveis a olho nu na face inferior das folhas (ARGUEDAS *et al.*, 2004). Os mesmos sintomas observados na infecção original por *O. tectonae* ocorreram após 15 dias de inoculação, como lesões cloróticas, necróticas e queima foliar (Figura 8 e 9) (FERRARI, 2011), demonstrando assim que as mudas não apresentaram resistência ao patógeno.



**Figura 8.** Vasos contendo mudas de *Tectona grandis* após 15 dias de inoculação. As mudas inoculadas com o fungo estão representadas pelos números 1, 2, 3, sendo 4 a testemunha. Foto: Savana L. Rodrigues





**Figura 9.** Folhas das mudas de teca após 15 dias de inoculação. (A-B) Face adaxial e abaxial sintomática da muda 1; (C-D) Face adaxial e abaxial sintomática da muda 2; (E-F) Face adaxial e abaxial sintomática da muda 3; (G-H) Face adaxial e abaxial assintomática da muda 4 (testemunha). Fotos: Savana L. Rodrigues

Os urediniósporos que surgiram nas mudas de teca, após inoculação, foram coletados novamente e sua similaridade com *O. tectonae* foi confirmada microscopicamente através de caracteres morfológicos.

Delmadi (2017) em experimento realizado através da inoculação de *O. tectonae*, analisando três distintos clones de teca, sob condições controladas, verificou assim como neste trabalho que houve incidência do fungo, sem demonstração de resistência dos clones ao fitopatógeno.

#### 5.4 Epidemiologia (Incidência da Doença)

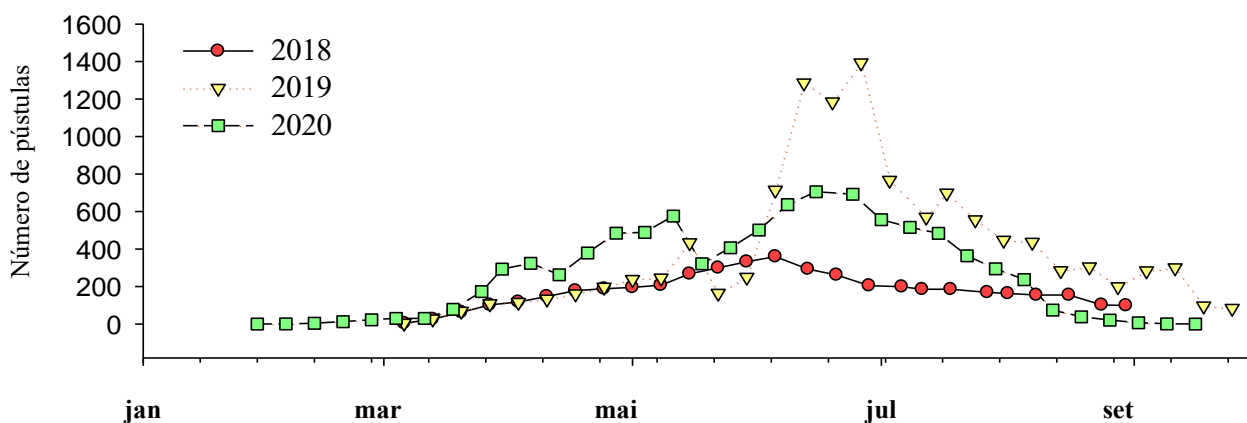
A primeira coleta ocorreu em março de 2018, quando foi observado o início dos sintomas nas folhas de teca. A incidência da doença aumentou, significativamente, ao longo do tempo, atingindo um valor máximo de 360 pústulas na área foliar, em 5 de junho de 2018, coincidindo com a menor temperatura média mensal do período. Em seguida, ocorreu um decréscimo do número de pústulas, estagnando-se na última semana do mês de agosto quando foi possível realizar a última avaliação, pois em setembro a árvore já se encontrava bastante desfolhada devido a espécie ser caducifólica, ou seja, perde grande parte das suas folhas durante o período de repouso vegetativo, e devido a progressão severa da doença.

Em 2019 o número de pústulas na área foliar foi maior em comparação ao ano anterior, atingindo 1392 pústulas em 26 de junho, porém é possível verificar a mesma tendência de 2018,

em que após a infecção, que ocorreu provavelmente nos meses mais quentes do ano, existe uma elevação neste número, tendo um declínio conforme a temperatura diminui.

Em 2020 obteve-se um valor extremo de 706 pústulas em 15 de junho, e a estagnação do número de pústulas ocorreu somente no mês de setembro, quando foi possível realizar a última coleta anual.

Houve um total de 26 avaliações no intervalo de março a agosto de 2018, 30 avaliações de março a setembro de 2019 e 34 avaliações de janeiro a setembro de 2020 (Figura 10).



**Figura 10.** Curvas epidêmicas do processo de incidência da “Ferrugem da Teca” causada por *Olivea tectonae* em 2018, 2019 e 2020, no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro.

A incidência foi considerada uma variável apropriada para monitorar a doença durante o período de avaliação (SALES *et al.*, 2017). Nos três anos de avaliação, é possível observar um aumento da intensidade da doença ocorrendo durante os meses mais frios do ano, entre meados de maio até julho, onde se encontra o período mais frio e seco do ano.

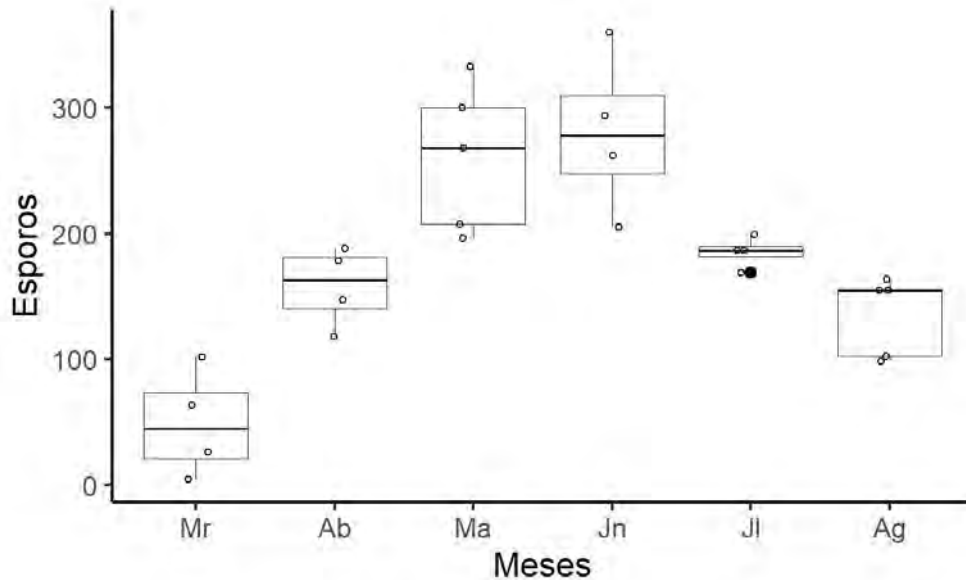
A análise de distribuição do Número de esporos em função do tempo de avaliação pode ser observada mediante representação de gráficos *Box Plot*, bem como através dos valores de limites e medianas (Tabela 3).

**Tabela 3.** Valores de Limite Inferior, Mediana e Limite Superior obtidos nos meses de avaliação para os anos de 2018, 2019 e 2020.

Meses	2018			2019			2020		
	Mín.	Med.	Máx.	Mín.	Med.	Máx.	Mín.	Med.	Máx.
Jan	-	-	-	-	-	-	0	0	0
Fev	-	-	-	-	-	-	1,5	8,62	22,75
Mar	4,5	44,88	102,25	4,25	48,12	108,25	30,25	54,88	173,5
Abr	118,2	163	188,5	116	147	196,8	263,5	308,6	379,8
Mai	196,2	268	332,8	164,8	245,8	433,5	321,8	484,8	576,2
Jun	205	277,9	360,2	714	1235	1393	501,8	664,9	706
Jul	169	186,4	199,5	555,8	634,9	767,2	364,2	499,8	556,5
Ago	98,75	155	163,5	199,2	334,6	447,2	21,5	75	295,2
Set	-	-	-	83,75	190,12	300,25	0	1	6,75

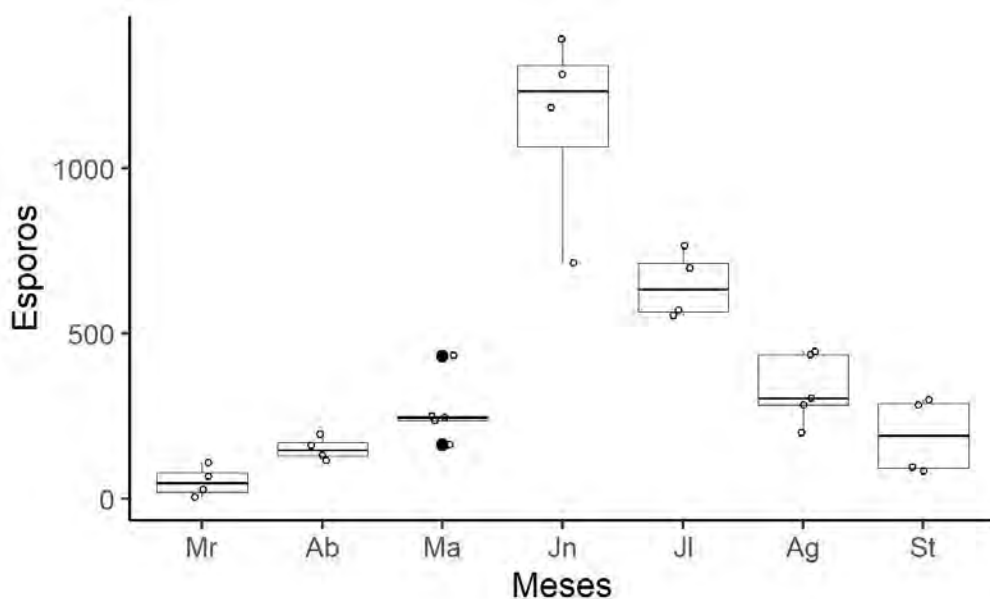
Mín=Limite inferior; Med= Mediana; Máx=Limite superior.

Para o mês de março de 2018, verificou-se o valor da mediana de 44,88. Houve um aumento do Número de esporos para os meses de abril, maio e junho com medianas de 163, 268 e 277,9, respectivamente. Entretanto, em julho (186,4) e agosto (155) houve um decréscimo na mediana para o Número de esporos (Figura 11).



**Figura 11.** Box Plot contendo limites inferiores e superiores do Número de esporos de *Olivea tectonae* em plantas de *Tectona grandis* em função dos meses avaliados em 2018, utilizando a mediana (linha horizontal no centro da caixa), para o município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro.

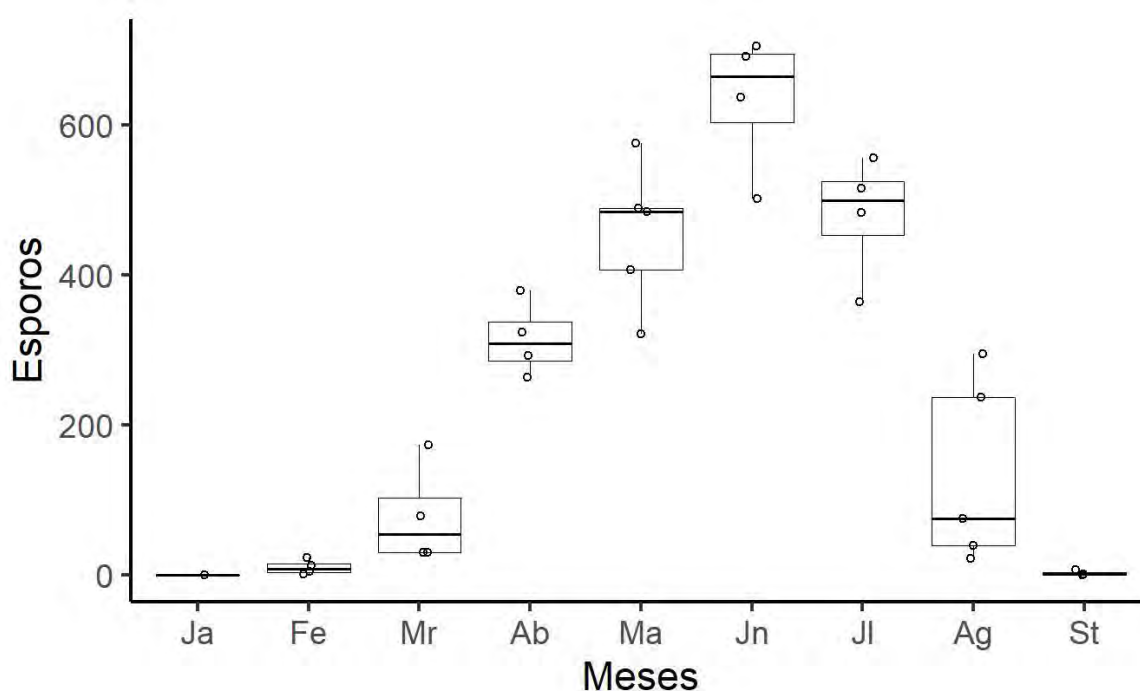
No mês de março de 2019, foi encontrado o valor de 48,12 para a mediana. Nos meses de abril, maio e junho ocorreu um aumento gradativo com medianas de 147, 245,8 e 1235, respectivamente. Após atingir seu máximo valor, há um decaimento na mediana para o Número de esporos em julho, agosto e setembro, com valores de 634,9, 334,6 e 190,12, respectivamente (Figura 12).





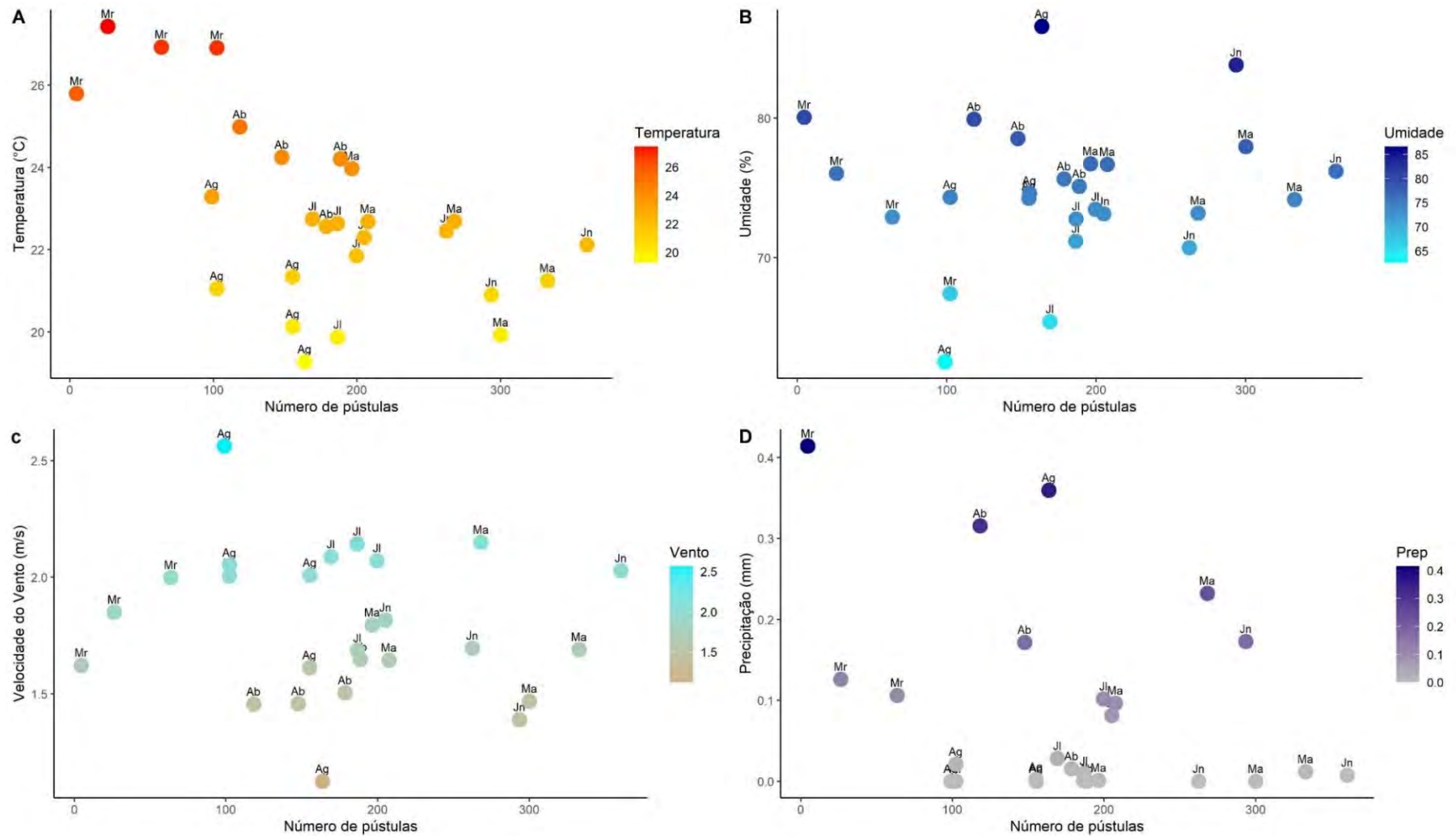
**Figura 12.** Box Plot contendo limites inferiores e superiores do Número de esporos de *Olivea tectonae* em plantas de *Tectona grandis* em função dos meses avaliados em 2019, utilizando a mediana (linha horizontal no centro da caixa), para o município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro.

Em 2020, no início da avaliação, correspondente aos meses de janeiro e fevereiro foi encontrado valores de mediana de 0 e 8,62. Para março, abril, maio e junho verificou-se um aumento do Número de esporos com medianas de 54,88, 308,6, 484,8 e 664,9, respectivamente. Por fim, em julho, agosto e setembro observou-se a diminuição na mediana (499,8, 75 e 1) (Figura 13). Portanto, através destes resultados de estatística descritiva, pode-se verificar a tendência de aumento no Número de esporos ocorrendo no mês de junho para os anos de 2018, 2019 e 2020, sendo que os meses iniciais de análise (janeiro, fevereiro e março) há uma menor quantidade de folhas infectadas. Da mesma forma, após o pico de infecção, que aconteceu em junho, houve diminuição progressiva da doença para os últimos meses analisados.

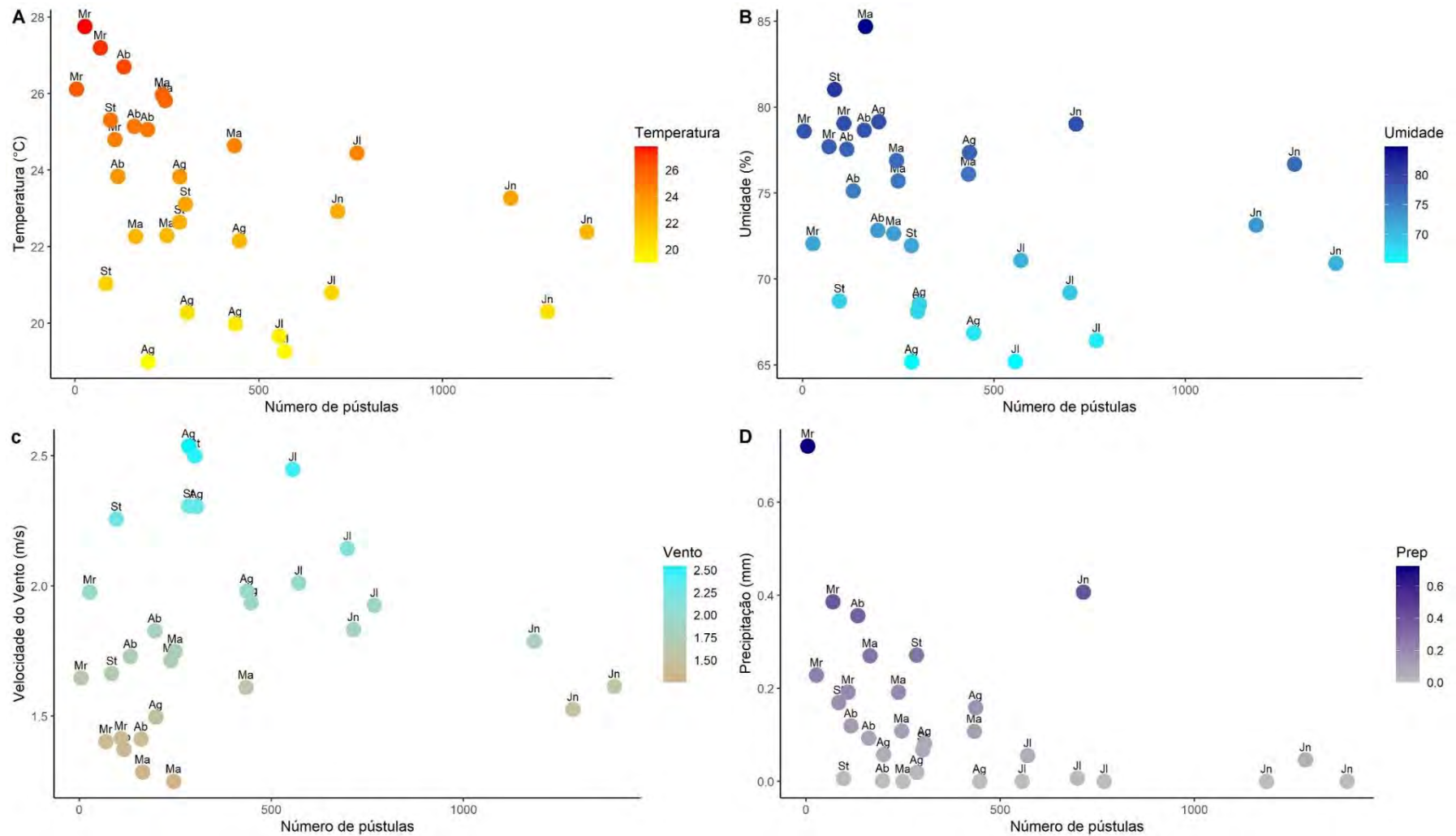


**Figura 13.** Box Plot contendo limites inferiores e superiores do Número de esporos de *Olivea tectonae* em plantas de *Tectona grandis* em função dos meses avaliados em 2020, utilizando a mediana (linha horizontal no centro da caixa), para o município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro.

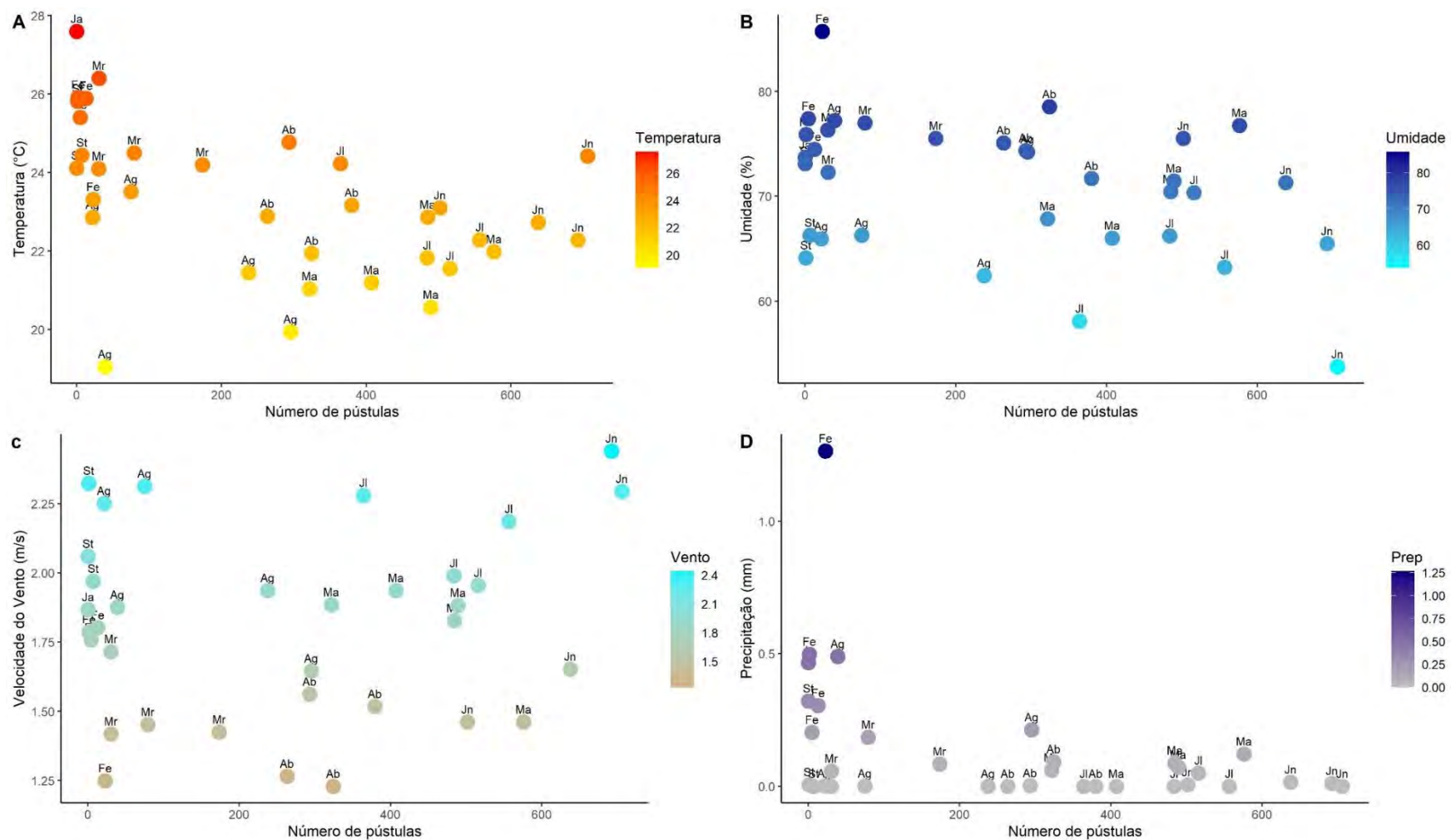
A relação do Número de pústulas nas folhas de teca com as variáveis climáticas Temperatura do Ar, Umidade Relativa do Ar, Precipitação e Velocidade do Vento, para os anos de 2018, 2019 e 2020, estão representadas por gráficos nas figuras 14, 15 e 16, respectivamente. Além disso, os índices de correlação de *Sperman* e valores *p* podem ser observados na Tabela 4.



**Figura 14.** Comparação da quantidade de pústulas contidas em folhas de *Tectona grandis* com a Temperatura do Ar (°C), Umidade Relativa do Ar (%), Precipitação (mm) e Velocidade do Vento (m/s) durante os meses avaliados em 2018, no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro.



**Figura 15.** Comparação da quantidade de pústulas contidas em folhas de *Tectona grandis* com a Temperatura do Ar (°C), Umidade Relativa do Ar (%), Precipitação (mm) e Velocidade do Vento (m/s) durante os meses avaliados em 2019, no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro.



**Figura 16.** Comparação da quantidade de pústulas contidas em folhas de *Tectona grandis* com a Temperatura do Ar (°C), Umidade Relativa do Ar (%), Precipitação (mm) e Velocidade do Vento (m/s) durante os meses avaliados em 2020, no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro.

**Tabela 4.** Correlação entre o Número de pústulas e as variáveis climáticas nos anos de 2018, 2019 e 2020.

Variáveis Climáticas	2018		2019		2020	
	<i>rho</i>	p- value	<i>rho</i>	p- value	<i>rho</i>	p- value
Temperatura	-0,5238	0,0059*	-0,5768	0,0012*	-0,5658	0,0004*
Umidade	-0,0625	0,7614	-0,4478	0,0138*	-0,3195	0,0654
Vel. do Vento	0,0608	0,7677	0,3321	0,0761	0,0605	0,7339
Precipitação	-0,1904	0,3591	-0,5744	0,0009*	-0,3793	0,0269*

Coefficiente de correlação de *Spearman* (*rho*). \*Significância estatística para o teste de correlação *Spearman*  $p < 0,05$ .

A literatura cita que a doença está diretamente relacionada com as variáveis climáticas, porém não houveram fortes correlações significativas da incidência de ferrugem com as variáveis climáticas. As correlações entre o Número de pústulas e a Velocidade do Vento, nos anos de 2018, 2019 e 2020 ( $rho=0,0608$  e  $p\text{-value}=0,7667$ ,  $rho=0,3321$  e  $p\text{-value}=0,0761$ ,  $rho=0,0605$  e  $p\text{-value}=0,7339$ , respectivamente) foram positivas e não significativas. Entre o Número de pústulas e a Temperatura do Ar para os anos de 2018 ( $rho=-0,5238$  e  $p\text{-value}=0,0059$ ), 2019 ( $rho=-0,578$  e  $p\text{-value}=0,0012$ ) e 2020 ( $rho=-0,5658$  e  $p\text{-value}=0,0004$ ) os coeficientes de *Spearman* e os valores  $p$  indicam que todas as correlações foram negativas significativas. Verificou-se também correlações negativas entre o Número de pústulas e a Precipitação, porém, apenas para os anos de 2019 ( $rho=-0,5744$  e  $p\text{-value}=0,0009$ ) e 2020 ( $rho=-0,3793$  e  $p\text{-value}=0,0269$ ) essas correlações foram significativas. Finalmente, entre o Número de pústulas e a Umidade Relativa do Ar ocorreu significância somente para 2019 ( $rho=-0,4478$  e  $p\text{-value}=0,0138$ ).

Analisando os gráficos é possível perceber que a Umidade do Ar e a Velocidade do Vento obtiveram grandes oscilações durante todo o período de avaliação da doença, tornando inconcebível dimensionar a relação dessas variáveis com a germinação dos esporos na planta. Em contrapartida, a Velocidade do Vento parece ter sido favorável quanto a disseminação dos esporos, justamente devido as correlações positivas obtidas com o mesmo e pela grande oscilação nos anos avaliados, atingindo valores altos nos meses mais frios do ano (junho a agosto).

Para Sales *et al.*, (2017) a evolução das epidemias está diretamente relacionada com as variáveis climáticas. E assim como nos resultados obtidos nesse estudo, os autores observaram que nos meses de fevereiro a abril a precipitação foi maior na área de avaliação, o que pode ter beneficiado a germinação dos urediniosporos e ter iniciado o processo de infecção nas folhas de teca.

Os fatores climáticos incidem sobre o comportamento das doenças como as ferrugens (DÍAZ *et al.*, 2006). Por exemplo, a ferrugem do café (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.), requer um mínimo de precipitação para se estabelecer, bem como um período seco no meio dos meses chuvosos para promover uma disseminação bem-sucedida dos urediniosporos (BOCK, 1992).

Díaz e colaboradores (2006) relatam que a precipitação pode influenciar no grau de severidade da Ferrugem da Teca, uma vez que na avaliação da doença, nos meses de julho e agosto para a região do Pacífico Central, ao qual apresentou severidade mais alta, as médias anuais de precipitação também foram mais altas em comparação às demais regiões avaliadas no estudo. Para o estado do Rio de Janeiro, os meses com maiores precipitações foram de fevereiro a abril, logo após a infecção, e entre agosto e setembro, período de desfolhamento das plantas de teca, devido a deciduidade da mesma e a severidade da doença. Entretanto, em trabalho realizado por Osorio *et al.* (2019) com a Ferrugem da Teca, discordam dessa afirmação e

alegam que a incidência e a severidade da ferrugem ocorrem independentemente do período chuvoso ou seco.

Sales *et al.* (2017) afirmaram para o estado do Tocantins que após a germinação dos urediniósporos, altas temperaturas e umidade foram suficientes para aumentar a severidade da ferrugem. Neste trabalho, temperaturas elevadas, apesar das correlações serem baixas, são significativas e podem estar associadas ao aumento da incidência da doença, bem como altos valores de umidade, além disso, a partir do momento em que há um pico no número de pústulas o mesmo torna a cair junto com a temperatura e a umidade local.

Os mesmos autores citados acima em sua avaliação também puderam observar que a temperatura média máxima mensal chegou a 38°C e a mínima foi em torno de 18°C. Essa amplitude térmica em torno de 20°C permitiu a formação de umidade foliar e provavelmente favoreceu a germinação do urediniósporo, iniciando a infecção foliar e possivelmente favorecendo o aumento da severidade da doença. Porém, não é possível confirmar esta hipótese para o estado do Rio de Janeiro, já que durante a avaliação da doença a temperatura média máxima mensal foi de 27°C e a mínima de 20°C, mostrando uma baixa amplitude térmica.

Os dados relativos as condições climáticas do local para os três anos de avaliação estão demonstradas na tabela 3.

**Tabela 5.** Médias de Temperatura, Umidade do ar, Velocidade do Vento e Precipitação para o mês de junho nos anos de 2018, 2019 e 2020. Fonte: INMET.

	Temperatura do Ar	Umidade do Ar	Velocidade do vento	Precipitação
	°C	%	m/s	mm
<b>2018</b>	21,8	75,2	1,76	0,004
<b>2019</b>	24,3	73,8	1,72	0,11
<b>2020</b>	22,7	68,4	1,85	0,008

Para Arguedas (2004) a severidade da ferrugem varia de ano para ano, dependendo das condições climáticas. Isto pode ser observado na análise da incidência, em que houve variações quanto ao número máximo de pústulas atingido para 2018 (360 pústulas), 2019 (1392 pústulas) e 2020 (706 pústulas), ocorrendo no mês de junho de cada ano. O alto valor obtido para 2019 pode ser justificado pelo maior valor médio de temperatura e precipitação quando comparado com os outros anos de avaliação.

Jesus Júnior *et al.* (2004), registram que, não obstante a sua grande importância, a avaliação de danos está longe de ser uma ciência exata. As estimativas dos danos provocados pelas doenças de plantas podem ser altamente variáveis, incorporando grande margem de erro, como é perceptível nessa pesquisa.

Não foi possível realizar o teste de severidade da Ferrugem da Teca para o local de estudo, devido a não obtenção de uma população quantitativa de árvores de *T. grandis*, mas Delmadi e colaboradores (2018) afirmam que o estudo com base na avaliação da severidade da ferrugem através da escala diagramática é mais eficaz, por ser uma ferramenta de boa precisão e que reduz o erro na estimativa visual na quantificação dos sintomas da intensidade dessa doença.

Hackbarth *et al.* (2014) consideram que, o inóculo no campo, quando encontrado em folhas de teca que permanecem nas árvores, tem maiores chances de iniciar o processo de infecção, devido a observação do maior índice de germinação dos urediniósporos *in vitro*. Considerando isto, como nem todas as folhas caíram das árvores no período de estudo, é

provável que o inóculo esteja sobrevivendo e infectando as plantas a cada ano, quando ressurgem as condições ideais para a germinação.

Há uma escassez de informações na literatura sobre a incidência desta doença (SALES *et al.*, 2017), principalmente no Brasil, onde a praga não é mais considerada quarentenária, e sim uma praga não regulamentada. Desse modo, poucos estudos foram feitos relacionando *O. tectonae* com variáveis climáticas, impossibilitando estimativas sobre verdadeiras ameaças em plantios florestais de teca. Mas, Hackbarth *et al.* (2014) asseguram que os urediniósporos desse fungo sobrevivem por períodos prolongados, sendo um dos fatores mais importantes na manutenção de sua viabilidade o armazenamento dos esporos em temperaturas mais baixas.

## 5.5 Estratégia de Controle

Ferrari (2011) relata que ainda não há fungicidas registrados no Brasil para controle da “Ferrugem da Teca”, não havendo medidas de controle específicas e eficazes para essa doença. Porém, em trabalho realizado por Osorio *et al.* (2018) foi avaliado que os óleos essenciais de capim-limão, citronela, mastruz e noni apresentaram efeito inibitório na germinação de urediniósporos de *O. tectonae*, destacando-se os óleos essenciais de noni e capim-limão, que nas concentrações de 2.000 e 4.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente, inibiram 100% a germinação dos urediniósporos no teste *in vitro*.

Para Marques *et al.* (2015) o controle desta patologia é dificultado por vários fatores, dentre eles, pela capacidade de disseminação do fungo e da facilidade de dispersão dos esporos através do vento, e ao fato que as árvores atingem grande porte. Além disso, no momento atual, há poucos estudos sobre esse controle e para estabelecer estratégias de manejo adequadas e eficientes, é necessário um profundo conhecimento do patossistema (SALES, 2016).

De acordo com Arguedas (2004), Sharma e colaboradores no ano de 1985 detectaram dois hiperparasitas fúngicos que afetam patógenos associados a Ferrugem, *Acremonium recifei* (Leão & Lôbo) W. Gams, considerado o principal, ataca os urediniósporos durante os períodos relativamente secos do ano e esporula profusamente sobre os esporos. *Cladosporium oxysporum* Berk. & MA Curtis foi observado no final da estação chuvosa, aparece como uma parte verde escuro a preta com esporulações abundantes nos urediniósporos e frequentemente cobre grande parte das folhas. O mesmo autor relata que infecções por ferrugem não são consideradas como atingindo níveis epidêmicos, possivelmente devido à ação de hiperparasitas. Entretanto, neste trabalho não foram encontradas essas espécies fúngicas se associando com *O. tectonae*.

Em 2020, na estação seca foi encontrado nas árvores de Teca, em Seropédica-RJ, um hiperparasita fúngico que se alimentava dos esporos do agente causal da “Ferrugem da Teca”. Este hiperparasita ataca as estruturas fúngicas de *O. tectonae*, diminuindo assim, a densidade de inóculo. O sinal é perceptível através de inúmeros esporos de coloração preta cobrindo as pústulas de *O. tectonae* na face abaxial das folhas de *T. grandis* (Figura 15).



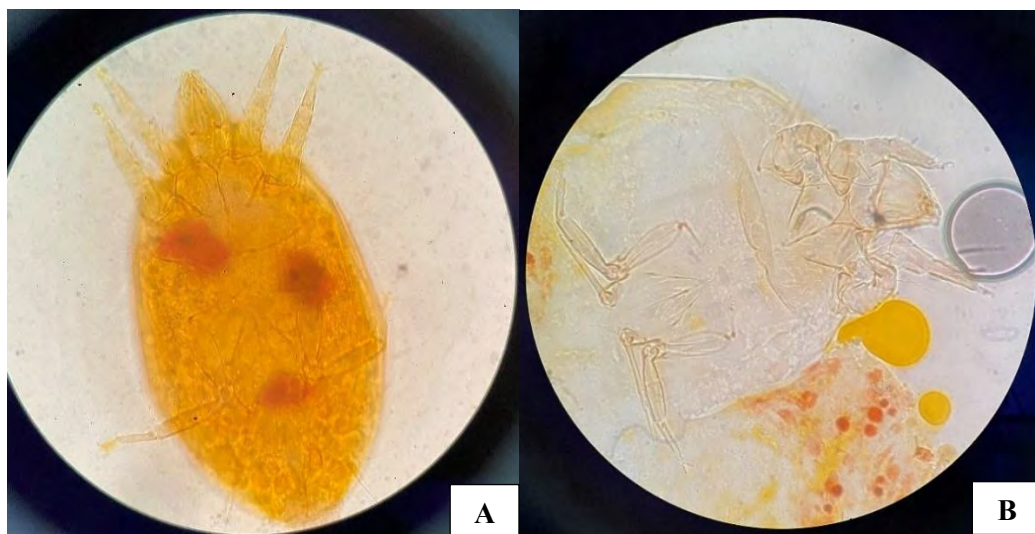


**Figura 17.** Folhas de *Tectona grandis* Linn F. apresentando pústulas de *Olivea tectonae* e esporos pretos de hiperparasita fúngico na face abaxial. Fotos: Savana L. Rodrigues

A identificação do fungo está sendo realizada no L.O.D.F./UFRRJ, através da análise morfológica e molecular.

Em abril de 2021, nas amostras de Teca, em Seropédica-RJ, foi observado um acentuado aumento dos esporos desse hiperparasita sobre os esporos de *O. tectonae*, que recobria praticamente toda a superfície inferior das folhas de teca. Juntamente a isto, foi detectado inúmeros ácaros de coloração laranja do gênero *Tarsonemus* sp. Can. e Fanz. (Figura 18), que são micófagos, possivelmente podem estar se alimentando dos fitopatógenos e/ou transportando seus esporos, provocando assim dano indireto na planta pela ação de disseminação dos fungos (HOY, 2011).

A família Tarsonemidae inclui ácaros fitófagos, fungívoros e insetívoros (OSHOA *et al.*, 1991). Espécies de ácaros do gênero *Tarsonemus* são comumente encontradas em uma variedade de habitats, incluindo solo, serrapilheira, madeira em decomposição, associados com insetos, em grãos armazenados, em poeiras e em plantas herbáceas incluindo coníferas, plantas monocotiledôneas, e especialmente dicotiledôneas, ambas caducifólicas e perenes (LINDQUIST, 1986). Portanto, é necessário realizar uma identificação mais específica deste microrganismo a nível de espécie para averiguar sua verdadeira influência nas árvores de teca.



**Figura 18.** Ácaro micófago *Tarsonemus* sp. (A) sob observação em microscópio ótico (1000x) (B) sob observação em microscópio ótico com óleo de imersão (1000x). Foto: Savana L. Rodrigues



São praticamente inexistentes relatos de ácaros em teca no Brasil. Há um registro no estado do Mato Grosso, feito por Santos e colaboradores (2014) que encontraram alta infestação de ácaro fitófago da espécie *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae) em mudas comerciais clonais de teca em viveiro florestal. Este ocasiona necrose nos tecidos foliares, e consequentemente queda prematura das folhas afetadas, retardando, portanto, o desenvolvimento vegetativo das plantas.

Gasparotto e Pereira (2013) recomendam como medida de exclusão a interceptação do material doente, a eliminação do patógeno de material propagativo, o plantio de mudas sadias livres do fungo, o isolamento mediante quarentena e a proibição do trânsito de plantas, bem como a inspeção nos viveiros e erradicação das mudas com sintomas antes da expedição no campo. As medidas de evasão ou escape são ineficientes no controle dessa doença.

O conhecimento epidemiológico da doença é de grande importância para o estabelecimento de estratégias de controle mais eficientes (SALES *et al.*, 2017). Entretanto, também deve ser considerado o fato de pesquisadores terem detectado a presença de hiperparasitas e a utilização de óleos essenciais reduzir a germinação dos esporos nas folhas de teca.

Sendo assim, deve haver muita cautela antes de iniciar planos de controle com fungicidas (ARGUEDAS *et al.*, 2013), pois com estudos mais aprofundados pode-se averiguar outros métodos alternativos de controle, além dos mencionados anteriormente. É necessário realizar testes de inoculação com hiperparasitas nas folhas de teca, um período antes da germinação dos esporos de *O. tectonae*, para verificar a eficácia desse método de controle com o intuito de que, posteriormente, seja feita sua aplicação em viveiros e no campo.

## 6. CONCLUSÕES

Os caracteres morfológicos e moleculares foram eficazes na identificação do fungo *O. tectonae* em *T. grandis* para o município de Seropédica-RJ.

Os resultados do teste de inoculação de possíveis hospedeiros alternativos indicam que *O. tectonae* infecta a teca nas condições do Estado do Rio de Janeiro, e que as espécies analisadas não estão servindo como fonte de inóculo.

A incidência da doença aumentou, significativamente, ao longo do tempo, para os três anos avaliados (2018, 2019 e 2020).

A precipitação foi maior na área de avaliação para os três anos, nos meses de fevereiro a abril, o que hipoteticamente, pode ter beneficiado a germinação dos urediniosporos e ter iniciado o processo de infecção nas folhas de teca.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método molecular de PCR foi ágil e satisfatório para a confirmação existente do patógeno por meio de duas metodologias de pré-extrações: uso da suspensão de esporos, através da centrifugação, descarte do sobrenadante e resuspensão do precipitado em água DEPC, adição de nitrogênio líquido seguida de maceração (Amostra A); e extração direta de área foliar contendo elevado número de esporos, também com adição de nitrogênio líquido, seguida de maceração (Amostra D).

A Velocidade do Vento, supostamente, parece ter influenciado a disseminação dos esporos de *O. tectonae*, entretanto não foi encontrada correlação significativa.

Diante dos resultados encontrados sobre a incidência da doença, a partir das variáveis climáticas, pode-se adequar o manejo da cultura a fim de diminuir o inóculo e/ou conviver com a doença de forma estratégica para que o produtor tenha menos prejuízo.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS. Anuário estatístico ABRAF 2013 ano base 2012. **Brasília: ABRAF**, 148 p., 2013.

AIME, M. C.; MATHENY, P.B.; HENK, D.A.; FRIEDERS, E.M.; NILSSON, R.H.; PIEPENBRING, M.; HIBBETT, D. Uma visão geral da classificação de nível mais alto de Pucciniomycotina com base em análises combinadas de sequências nucleares de rDNA de subunidades grandes e pequenas. **Mycologia**, v. 98, n. 6, p. 896-905, 2006. doi: 10.1080/15572536.2006.11832619

AIME, M. C.; MCTAGGART, A. R. A higher-rank classification for rust fungi, with notes on genera. **Fungal systematics and evolution**, v. 7, 21 p., 2021.

AIME, M. C. Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales). **Mycoscience**, v. 47, n. 3, p. 112-122, 2006.

ALCÂNTARA, B. K. Caracterização da diversidade genética de Teca (*Tectona grandis*) de diferentes procedências usando marcadores microssatélites. **Tese de Doutorado**, Universidade de São Paulo, 93 p., 2009.

AREFLORESTA. Associação de Reflorestadores de Mato Grosso. Disponível em: <<http://www.arefloresta.org.br/a-arefloresta/6/reflorestamento>> Acesso em: 10 abr. 2020.

ARGUEDAS, M. G. La roya de la teca *Olivea tectonae* (Rac.): consideraciones sobre su presencia en Panamá y Costa Rica. **Revista Forestal Mesoamericana Kurú**, v. 1, n. 1, p. 96-102, 2004.

ARGUEDAS, M. G. Problemas fitosanitarios en teca (*Tectona grandis* LF) en América Central. In: CHAVARRIAGA, D. M. H. Protección Fitosanitaria Florestal. p. 147-160, 2011.

ARGUEDAS, M. G.; MURILLO, O. G.; AYUSO, F.; MADRIGAL, O. Variación en la resistencia de clones de teca (*Tectona grandis* Lf) ante la infección de la roya (*Olivea tectonae* Rac.) en Costa Rica. **Revista Forestal Mesoamericana Kurú**, v. 2, n. 6, p. 15-24, 2005.

ARGUEDAS, M. G.; SOLÍS M. R.; BONILLA, M. G.; SEGURA, E. E.; ROCHA, S. S.; ELIZONDO, E. B. Incidencia y severidad de *Olivea tectonae* y *Rhabdopterus* sp. em plantaciones jóvenes de *Tectona grandis* l.f. bajo distintas modalidades de control de arvenses. **Agronomía Costarricense**, v. 43 n. 1, p. 9-19, 2019.

ARGUEDAS, M.; CANNON, P.; WINGFIELD, M.; MONTENEGRO F. Principales riesgos fitosanitarios en las plantaciones de teca. In: CAMINO, R.; MORALES, J. P. Las plantaciones

de teca en América Latina: mitos y realidades. **Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE)**, c. 8, p. 134-151, 2013.

BARCELI, A. C.; BONALDO, S. M.; FERNANDES, L. D. R. Severidade de ferrugem (*Olivea tectonae*) em diferentes clones de teca no norte de Mato Grosso. **Scientific Electronic Archives**, v. 12, n. 2, p. 42-46, 2019.

BEZERRA, A. F.; MILAGRES, F. R.; SILVA, M. L.; LEITE, H. G.; Análise da viabilidade econômica de povoamentos de *Tectona grandis* submetidos a desbastes no Mato Grosso. **Cerne**, v. 17, n. 4, p. 583-592, 2011.

BONALDO, S. M.; BARCELI, A. C.; TRENTO, R. A.; GASPAROTTO, F.; TAFFAREL, C. Relato oficial da ocorrência de *Olivea tectonea* em teca (*Tectona grandis*) no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 3, p. 153-153, 2011.

BORGES, R. C. F. Etiologia do cancro da teca e caracterização patogênica e molecular de *Lasiodiplodia theobromae*. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de Brasília. 86 p., 2014.

BORGES, R. C. F.; MACEDO, M. A.; CABRAL, C. S.; ROSSATO, M.; FONTES, M. G.; SANTOS, M. D. M.; FERREIRA, M. A.; FONSECA, M. E. N.; REIS, A.; BOITEUX, L. S. Vascular wilt of teak (*Tectona grandis*) caused by *Fusarium oxysporum* in Brazil. **Embrapa Hortaliças-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2018.

CABRAL, P. G. C.; CAPUCHO, A. S.; PEREIRA, O. L.; ZAMBOLIM, M. E.; FREITAS, R. L.; ZAMBOLIM, L. First report of teak leaf rust disease caused by *Olivea tectonae* in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 5, n. 1, p. 113-114, 2010.

CÁCERES FLORESTAL S. A. Manual do cultivo da teca. Cáceres: Versão eletrônica, 32 p., 2006. Disponível em: <[http://www.caceresflorestal.com.br/Manual\\_do\\_cultivo\\_da\\_teca-Caceres\\_Florestal.pdf](http://www.caceresflorestal.com.br/Manual_do_cultivo_da_teca-Caceres_Florestal.pdf)>

CALDEIRA, S. F.; CALDEIRA, S. A. F.; MENDONÇA, E. A. F. de; DINIZ, N. N. Caracterização e avaliação da qualidade dos frutos de teca (*Tectona grandis* L.f.) produzidos no Mato Grosso. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 216-224, 2000.

CÉSPEDES, P. B. Centros naturales de diversificación en el orden uredinales (fungi, royas). **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 56, n. 2, p. 1999-2019, 2003.

CÉSPEDES, P. B.; YEPES, M. S. Nuevos registros de royas (Uredinales) potencialmente importantes en Colombia. **Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín**, v. 60, n. 1, p. 3645-3655, 2007.

CÉSPEDES, P. B.; YEPES, M. S.; CARDONA, V. M. P. Pucciniales (Fungi) Rust of Colombia. **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 67, p. 1-93, 2014.

CHIMELLO, M. A. Variabilidade genética e avaliação da resistência à *Olivea neotectonae* em genótipos de *Tectona grandis*. **Dissertação de Mestrado**, Universidade do Mato Grosso, 63 p., 2016.

COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; SILVA, V. S. M. Experimentação e seleção no melhoramento genético de TECA (*Tectona grandis* L. f.). **Floresta e Ambiente**, v. 14, n. 1, p. 76-92, 2007.

DALY, A. M.; SHIVAS, R. G.; PEGG, G. S.; & MACKIE, A. E. First record of teak leaf rust (*Olivea tectonae*) in Australia. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 1, n. 1, p. 25-26, 2006.

DELMADI, L. C. *Tectona grandis* Lf: patologia de frutos, patogenicidade e epidemiologia. **Tese de Doutorado**, Universidade Estadual Paulista – *Campus* Botucatu, 96 p., 2017.

DELMADI, L. C.; PIERI C.; PORCENA, A. S.; FURTADO, E. L. Diagramatic scale for quantification of rust severity in teak leaves. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 36, n. 2, p. 331-341, 2018.

DÍAZ, L. M.; ISLAS, J. S. S.; ARGUEDAS, M. G. Prevalencia de la roya *Olivea tectonae* (Rac.) de la teca (*Tectona grandis* Lf) en Costa Rica. **Revista Forestal Mesoamericana Kurú**, v. 3, n. 9, p. 12-23, 2006.

DRESCHER, R. Crescimento e produção de *Tectona grandis* Linn F., em povoamentos jovens de duas regiões do estado de Mato Grosso-Brasil. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal de Santa Maria, 116 p., 2004.

FAVALESSA, C. M. C.; UBIALLI J. A.; CALDEIRA, S. F.; DRESCHER, R.; ACOSTA, F. C. Equações de sortimentos para *Tectona grandis* na região centro-sul de Mato Grosso. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 72, p. 389-399, 2012.

FERRARI, J. T. Ferrugem (*Olivea tectonae*) em plantas de teca. **Arquivos do Instituto Biológico, Documento Técnico 009**, p. 1-6, 2011.

FIGUEIREDO, E. O. Avaliação de povoamentos de Teca (*Tectona grandis* L. f.) na microrregião do baixo Rio Acre. **Embrapa Acre-Tese/dissertação (ALICE)**, 2005.

FIGUEIREDO, E. O.; OLIVEIRA, L. C.; BARBOSA, L. K. F. Teca (*Tectona grandis* L. f.): principais perguntas do futuro empreendedor florestal. Rio Branco: **Embrapa Acre, Documentos 97**, p. 87, 2005.

FIRMINO, A. C.; TOZZE JR, H. J.; FURTADO, E. L. First report of *Ceratocystis fimbriata* causing wilt in *Tectona grandis* in Brazil. **New Disease Reports**, v. 25, n. 24, 2012. doi: 10.5197/j.2044-0588.2012.025.024

**Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB142>>. Acesso em: 15 abr. 2020.

FOFANA, I. J.; OFORI, D.; POITEL, M.; VERHAEGEN, D. Diversidade e estrutura genética da teca (*Tectona grandis* Lf) em sua faixa natural utilizando marcadores microssatélites de DNA. **Novas florestas**, v. 37, n. 2, p. 175-195, 2009.

GASPAROTTO, L. & PEREIRA, J. C. R. A ferrugem da teca no Estado do Amazonas. **Embrapa Amazônia Ocidental-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2013.

GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R.; REZENDE, D. V. D. A ferrugem da teca no Amazonas. *In: Embrapa Amazônia Ocidental-Resumo em anais de congresso (ALICE)*. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA*, 46.; REUNIÃO BRASILEIRA DE CONTROLE BIOLÓGICO, 11., 2013, Ouro Preto. Expofito. Ouro Preto: UFV, 2013. 1 CD-ROM., 2013.

GOMES, E. A.; KASUYA, M. C. M.; BARROS, E. G.; BORGES, A. C. Polymorphism in the internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal DNA of 26 isolates of ectomycorrhizal fungi. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v.25, n.4, p.477-483, 2002.

GUERRERO-VÁSQUEZ, G. A.; ANDRADE, C. K. Z.; MOLINILLO, J. M. G.; MACÍAS, F. A. Practical First Total Synthesis of the Potent Phytotoxic ( $\pm$ )-Naphthotectone, Isolated from *Tectona grandis*. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2013, n. 27, p. 6175-6180, 2013.

HACKBARTH, A. C.; BONALDO, S. M.; TRENTO, R. A.; RIBEIRO, A. S. Influência da concentração, do fotoperíodo e da temperatura de armazenamento na germinação de urediniósporos de *Olivea tectonae*. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 2, 2014.

HARLEY, R. M. Checklist and key of genera and species of the Lamiaceae of the Brazilian Amazon. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 129-144, 2012.

HOY, M. A. **Agricultural acarology: introduction to integrated mite management**. CRC press, 2011.

IBA - Indústria brasileira de árvores (IBA). **Relatório Anual 2019 – ano base 2018**. Indústria brasileira de árvores: Brasília, 80 p., 2019.

INDEX FUNGORUM. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=288870>>. Acesso em: 12 abr. 2020.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>> Acesso em: 05 mar. 2021

JESUS J. G. Avaliação da reação de genótipos de *Tectona grandis* à *Olivea neotectonae*. **Monografia**, Universidade do estado de Mato Grosso - *Campus* Universitário de Cáceres Jane Vanini, 18 p., 2016.

KISTLER, H. C.; BOSLAND, W. P.; BENNY, U.; LEONG, S.; WILLIAMS H. P. Relatedness of strains of *Fusarium oxysporum* from crucifers measured by examination of mitochondrial and ribosomal DNA. **Phytopathology**, v. 77, n. 9, p. 1289-1293, 1987.

KOFFI, N. B. C.; N'DOUBA, A. P.; KOUASSI, C. K.; KOFFI, A. M. H.; DIALLO, H. A. First occurrence of teak leaf rust caused by *Olivea tectonae* in Côte d'Ivoire and Africa. **New disease Reports**, v. 37, 22 p., 2018.

KULKARNI, N.; PAUNIKAR, S.; HUSSAINI, S. S. Susceptibility of teak skeletonizer, *Eutectona machaeralis* (Walker) to the EPN, Heterorhabditis indica Poinar. **World Journal of Zoology**, v. 6, n. 1, p. 33-39, 2011.

LINDQUIST, E. E. The world genera of Tarsonemidae (Acari: Heterostigmata): a morphological, phylogenetic, and systematic revision, with a reclassification of family-group taxa in the Heterostigmata. **The Memoirs of the Entomological Society of Canada**, v. 118, n. S136, p. 1-517, 1986.

LIMA, I. L.; GARCIA, R.; LONGUI, E. L.; FLORSHEIN, S. M. B.; Dimensões anatômicas da madeira de *Tectona grandis* Linn. Em função do espaçamento e da posição radial do tronco. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 39, n. 89, p. 61-69, 2011.

LIMA, R. K. & CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: importantes óleos essenciais com ação biológica e antioxidante. 2013.

LORENZI, H. SOUZA, H. M.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. Árvores Exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas. Nova Odessa, SP: **Instituto Plantarum**, 368 p., 2003.

LUNZ, A. M.; COSTA, M. K. M.; AGUIAR, T. S.; CARDOSO, A. S.; Danos de gafanhotos (*Orthoptera, Acrididae, Leptysminae*) em reflorestamentos no Estado do Pará. **Embrapa Amazônia Oriental-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2008.

MACEDO, R. L. G.; GOMES, J. E.; VENTURIN, N.; SALGADO, B. G. Desenvolvimento inicial de *Tectona grandis* L.f. (teca) em diferentes espaçamentos no município de Paracatu, MG. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 1, p. 61-69, 2005. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/pdf/744/74411107.pdf>>. Acesso em: 21 set. 2020.

MAIA, L. C. & CARVALHO, A. A. J.; Introdução: os fungos do Brasil. In: FORZZA, R. C., org., *et al.* Catálogo de plantas e fungos do Brasil [online]. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: **Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, v. 1, p. 43-48, ISBN 978-85-8874-242-0, 2010.

MARQUES, M. L. S.; JESUS, J. M. I.; VIRTUOSO, M. C. S.; MARQUES, V. S.; SANTOS, G. R. Relato de ocorrência da ferrugem da teca, causada por *Olivea neotectonae* no Estado de Goiás. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 2015.

MARTIN, K. J. Introdução à análise molecular de comunidades ectomicorrízicas. **Soil Science Society of America Journal**, v. 71, n. 2, pág. 601-610, 2007. Doi: <10.2136/sssaj2006.0115>

MEDEIROS, R. A.; PAIVA, H. N.; LEITE, H. G.; NETO, S. N. O.; VENDRÚSCOLO, D. G. S.; SILVA, F. T. Análise silvicultural e econômica de plantios clonais e seminais de *tectona grandis* Lf em sistema Taungya. **Revista Árvore**, v. 39, n. 5, p. 893-903, 2015.

MESQUITA, J. B.; SANTOS, T. B. F.; RIBEIRO, G. T.; SANTOS, M. J. C. Ocorrência de ferrugem (*Olivea neotectonae*) em plantas de teca no estado de Sergipe. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 3, p. 278-279, 2016.

MENEZES, J. P., LUPATINI, M., ANTONIOLLI, Z. I., BLUME, E., JUNGES, E.; MANZONI, C. G. Variabilidade genética na região ITS do rDNA de isolados de *Trichoderma* spp. (Biocontrolador) e *Fusarium oxysporum* f. sp. chrysanthemi. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 132-139, 2010.

MIRANDA, M. C.; Caracterização morfológica e avaliação do desenvolvimento inicial de clones de teca (*Tectona grandis* Lf). **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Mato Grosso, 71 p., 2013.

NERY, F. U. Otimização do crescimento e desenvolvimento de teca (*Tectona grandis* Linn f.) in vitro. **Tese de Doutorado**, Universidade de São Paulo, 60 p., 2011.

NIAMKÉ, F. B.; AMUSANT, N.; STIEN, D.; CHAIX, G.; LOZANO, Y.; KADIO, A. A.; LEMENAGER, N.; GOH, D.; ADIMA, A. A.; KATI-COULIBALY, S.; JAY-ALLEMAND, C. ', 5'-Diidroxiepiisocatalponol, uma nova naftoquinona de *Tectona grandis* L. f. cerne e atividade fungicida. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 74, p. 93-98, 2012.

OLIVEIRA, A. S. & SILVA, R. A. Ocorrência e patogenicidade de *Meloidogyne javanica* sobre plantas de teca (*Tectona grandis* Linn. F.). **Ciência Florestal**, v. 23, n. 4, p. 563-569, 2013.

OCHOA, R.; SMILEY, R. L.; SAUNDERS, J. L. The family Tarsonemidae in Costa Rica (Acari: Heterostigmata). **International Journal of Acarology**, v. 17, n. 1, p. 41-86, 1991.

OSORIO, P. R. A. Caracterização morfológica, molecular e controle alternativo da ferrugem da teca (*Olivea neotectonae*) com óleos essenciais. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal do Tocantins, 107 p., 2016.

OSÓRIO, P. R. A.; LEÃO, E. U.; VELOSO, R. A.; MOURÃO, D. S. C.; e SANTOS, G. R. Óleos essenciais para controle alternativo da ferrugem em teca. **Floresta e Ambiente**, v. 25, n. 2, 2018. doi:10.1590 / 2179-8087.039116

OSORIO, P. R. A.; LEÃO, E. U.; FERREIRA, T. P. S.; ALVES, M. V. G.; SARMENTO, R. A.; SANTOS, G. R. Morphology and infection process of *Olivea neotectonae* in teak leaves. **Arquivos do Instituto Biológico**, 86, 2019.

PELLISSARI, A. L.; GUIMARÃES, P. P.; BEHLING A.; EBLING, A. A. Cultivo da teca: características da espécie para implantação e condução de povoamentos florestais. **Agrarian Academy**, v. 1, n. 1, p. 127-145, 2014.

PEREIRA, H. M. L.; ALMEIDA, C. M.; BRIOSO, P. S. T. Detecção de *Olivea tectonae* no Estado do Rio de Janeiro. In: 39 Congresso Paulista de Fitopatologia, 2016, Piracicaba (SP). **Summa Phytopathologica**. Botucatu (SP): Associação Paulista de Fitopatologia, v. 42, 2016.

PERES-FILHO, O.; TEIXEIRA, E. P.; BEZERRA, M. L. M.; DORVAL, A.; BERTI-FILHO E. First record of *Sinoxylon conigerum* Gerstäcker (Coleoptera: Bostrichidae) in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 5, p. 712-713, 2006.

PERES-FILHO, O.; DORVAL, A.; BERTI-FILHO, E. Ocorrência de *Hyblaea puera* (CRAMER, 1777) (LEPIDOPTERA: HYBLAEIDAE) em teca no Brasil. **Bragantia**, v. 61, n. 1, p. 59-60, 2002.

PÉREZ, M.; LÓPEZ, M. O.; MARTÍ, O. *Olivea tectonae*, leaf rust of teak, occurs in Cuba. **Plant Pathology**, v. 58, n. 2, p. 397-397, 2009.

PIERI, C.; PASSADOR, M. M.; FURTADO, E. L.; JUNIOR, A. A. C. Ferrugem da teca (*Olivea neotectonae*): novas ocorrências no Brasil e revisão do nome específico. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 4, p. 199-201, 2011.

PINTO, M. L. Propriedades e características da madeira de teca (*Tectona grandis*) em função da idade. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal de Santa Catarina, 124 p., 2007.

POLTRONIERI, L. S.; VERZIGNASSI, J. R.; BENCHIMOL, R. L. *Tectona grandis*, nova hospedeira de *Rhizoctonia solani* no Pará. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 291-291, 2008.

RIBEIRO, D. C. Relação filogenética, por ITS-rDNA, de *Colletotrichum* spp., agente causal da mancha foliar da gala em macieira. **Dissertação de Mestrado**, Universidade do Estado de Santa Catarina, 72 p., 2007.

ROCHA, H. F.; LEONARDO, F. V. S.; OLIVEIRA, A. C. Plantios comerciais de *Tectona grandis* Lf no Brasil. **Multitemas**, n. 48, p. 9-28, 2015.

SALES, N. I. S. Patogenicidade e transmissão de fungos associados às sementes de teca e progresso temporal da ferrugem causada por *Olivea Neotectonae*. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal do Tocantins, 51 p., 2016.

SALES, N. I. S.; LEÃO E. U.; CORREIA, L. C. M. A.; SIQUEIRA, C. A.; SANTOS, G. R. Progresso temporal da ferrugem da teca em uma área tropical do estado do Tocantins, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 47, n. 3, p. 277-280, 2017.

SALVI, M. B. Fungos basidiomicetos em biorremediação. **Curso de capacitação de Monitores e Educadores**. Instituto de Botânica de São Paulo, 23 p., 2011.

SANTOS, A.; TEIXEIRA, V. A.; PERES FILHO, O.; SERAFIN, M. E.; NETO, M. P.; OLIVEIRA, C. A. C. Primeiro registro de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) em mudas de teca no Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 34, n. 78, p. 165-167, 2014.

SANTOS, F. M. B. Análise do viroma em espécies arbóreas. **Dissertação de mestrado**, Universidade de Brasília - Instituto de Ciências Biológicas, 86 p., 2016.

SCHUHLLI, G. S. & PALUDZYSZYN, E. F. O Cenário da silvicultura de teca e perspectivas para o melhoramento genético. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 30, n. 63, p. 217-230, 2010.

SILVA, J. M. O. N.; BRAGANÇA, C. A. D.; LIMA, T. E. F.; ROCABADO, J. M. A.; MARTINS, F. M.; BEZERRA, J. L. Primeiro relato da ferrugem (*Olivea tectonae*) em plantas de teca no estado da Bahia. **Summa Phytopathologica**, v. 46, n. 3, p. 274-275, 2020.

SOOD, S. G.; COMSTOCK, J. C.; GLYNN, N. C. Leaf whorl inoculation method for screening sugarcane rust resistance. **Plant disease**, v. 93, n. 12, p. 1335-1340, 2009.

TONINI, H.; COSTA, M. C. G.; SCWENGBER, L. A. M. Crescimento da teca (*Tectona grandis*) em reflorestamento na Amazônia Setentrional. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 59, p. 05, 2009.

TROPICOS. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <<http://www.tropicos.org>>. Acesso em: 06 abr. 2020.



TSUKAMOTO FILHO, A. A.; SILVA, M. L.; COUTO, L.; MÜLLER, M. D. Análise econômica de um plantio de teca submetido a desbastes. **Revista Árvore**, v. 27, n. 4, p. 487-494, 2003.

VASCONCELOS, T. S. Montagem de novo do transcriptoma de teca (*Tectona grandis* L. f.) e busca por genes relacionados ao estresse hídrico. **Dissertação de Mestrado**, Universidade de São Paulo, 218 p., 2015.

VELASTEGUÍ, T. F.; GUTIÉRREZ, R. C.; GUERRERO, F. C. Pragas e doenças em plantações de teca (*Tectona grandis* LF) na área de Balzar, província de Guayas. **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 3, n. 1, p. 15-22, 2010.

VIEIRA, A. H.; ROCHA, R. B.; GAMA, M. M. B.; LOCATELLI, M. Desempenho de teca (*Tectona grandis*) em plantio adensado no Estado de Rondônia. **Embrapa Rondônia-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)** n. 56, 14 p., 2008.

VIEIRA, A. H.; ROCHA, R. B.; LOCATELLI, M.; GAMA, M. M. B.; TEIXEIRA, C. A. D.; MARCOLAN, A. L.; JUNIOR, J. R. V. Sistema de produção da teca para o Estado de Rondônia. **Embrapa Rondônia-Sistema de Produção (INFOTECA-E)**, 2007.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. **PCR protocols: a guide to methods and applications**, v. 18, n. 1, p. 315-322, 1990.