

IMPORTÂNCIA DA ESTRUTURA DA SUPERFÍCIE FOLIAR IMA INTERAÇÃO *Phytophthora capsici* - *Hevea brasiliensis*

Álvaro Figueredo dos Santos*
Kiyoshi Matsuoka**
Luiz Antonio Maffia***
Acelino Couto Alfnas***

RESUMO

O presente trabalho objetivou elucidar a interação do fungo *Phytophthora capsici* Leonian (= *P. palmivora* Mf4) com a seringueira (*Hevea brasiliensis* (Wild ex Adr. Juss.) Mull. Arg. Estudos histológicos foram realizados utilizando microscopia de luz e eletrônica de varredura e transmissão. Observou-se que os tubos germinativos de *Phytophthora capsici* penetraram através da epiderme e, em sua maioria, pelos estômatos na face abaxial dos folíolos novos de seringueira. Ocasionalmente, observou-se a penetração pelos estômatos nos folíolos maduros, pois a espessura da camada cuticular e as suas projeções dificultaram ou impediram a penetração dos tubos germinativos. Não existem estômatos na face adaxial dos folíolos jovens, e a penetração ocorreu diretamente através da cutícula foliar. A penetração não foi verificada na face adaxial dos folíolos maduros. A espessura acentuada da cutícula sobre as células epidérmicas inviabiliza essa via de penetração.

PALAVRAS CHAVES: Histopatologia, *Phytophthora capsici*, seringueira.

SURFACE STRUCTURE OF RUBBER LEAF RELATED TO THE INTERACTION *Phytophthora capsici* - *Hevea brasiliensis*

ABSTRACT

This work was aimed at elucidating the interaction between *Phytophthora capsici* Leonian and the rubber plant (*Hevea brasiliensis* (Wild ex Adr. Juss.) Mull. Arg. Histological studies were performed using light and electron microscopy (scanning and transmission). Germ tubes of the fungus show that penetration usually occurred stomata, and rarely through epidermis at abaxial leaf surface. Penetration through stomata was rare into the mature leaf, but the thick cuticular layer and its projections over and around seemed to reflect germ tubes away from them. No stomata were found on the adaxial surface of young leaves, and here direct penetration into epidermal cells was the rule. No penetration was seen on the mature leaf, probably due to the thick cuticle.

* Eng.-Agrônomo, Doutor, CREA-MG nº 16.911/D, Pesquisador da *Embrapa Florestas*.

** Eng.-Agrônomo, Doutor, Professor da Universidade Federal de Viçosa Departamento de Fitopatologia.

*** Eng. Florestal, Doutor, Professor da Universidade Federal de Viçosa Departamento de Fitopatologia.

KEY WORDS: Histopathology, *Phytophthora capsici*, rubber tree.

1. INTRODUÇÃO

As doenças causadas por *Phytophthora capsici* spp. constituem um dos principais problemas fitossanitários do pólo heveícola baiano. Os sintomas principais do ataque de *Phytophthora capsici* às copas de seringueira (*Hevea brasiliensis* (Wild ex. Adr. Juss.) Mull. Arg.) Adultas são evidenciadas pela queima de brotações novas e queda prematura das folhas maduras (Santos et al., 1989).

O controle de queima de brotações novas tem sido feito com fungicidas; no entanto, a altura das árvores (15 a 25m), a baixa eficiência dos equipamentos terrestres usados na pulverização em larga escala e o custo elevado da pulverização aérea (Santos et al., 1989) têm limitado o emprego de fungicidas. O uso de clones resistentes e produtivos é uma alternativa viável de controle. No Brasil, entretanto, trabalhos envolvendo estudos sobre a resistência têm sido escassos (Santos, 1991).

Em estudos preliminares, visando ao estabelecimento de metodologia para avaliação da resistência da seringueira a *Phytophthora capsici* Leonian (= *P. palmivora* Mf4), os autores do presente trabalho verificaram que os folíolos jovens, com 7-8 dias, quando inoculados nas faces abaxial e adaxial, apresentavam sintomas após 24 horas. Os folíolos maduros, inoculados na face adaxial, não apresentavam sintomas, e aqueles inoculados na face abaxial apresentavam, ocasionalmente, pontuações escuras ou lesões. Entretanto, foi observada a ocorrência de infecção nos folíolos maduros previamente feridos, independentemente da face inoculada. Assim, procurou-se neste estudo, proceder a exames histológicos tanto de folíolos jovens, suscetíveis, quanto de folíolos maduros, resistentes a *P. capsici*, para esclarecer o possível mecanismo de resistência envolvido na infecção de folíolos de seringueira por *P. capsici*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Hospedeiro, inóculo e inoculação

O clone PB 86 de *H. brasiliensis* foi escolhido para o estudo. As inoculações foram feitas em três tipos de folíolos: a) jovens: folíolo aos 7-8 dias pós-emergência foliar, acentuadamente avermelhado; b) intermediários: folíolo aos 13-15 dias pós-emergência, de coloração verde-clara, textura macia e flexível; e, c) maduros: folíolo aos 55-60 dias pós-emergência foliar.

Foi utilizado o isolado H2, virulento e esporulante, de *P. capsici* (= *P. palmivora* Mf4), cultivado em meio de cenoura-ágar por 9 dias sob luz contínua e, para a obtenção de zoósporos, foi utilizada a metodologia descrita por Santos (1991).

As inoculações foram feitas em folíolos destacados, nas fases jovem, intermediária e madura, dispostos em bandejas de vidro (45 x 25 x 4cm), cujo fundo havia sido forrado com papel Germitest umedecido com água destilada. Sobre a superfície adaxial ou abaxial dos folíolos, depositaram-se discos de papel filtro de 5 mm de diâmetro embebidos numa suspensão de $1^6 \times 10$ zoósporos/ml. A testemunha consistiu de discos de papel filtros embebidos em água destilada. Os folíolos maduros foram inoculados com e sem ferimentos.

2.2. Microscopia de luz - método de clareamento

Foram coletadas amostras três e seis horas após a inoculação. Essas consistiram de pequenos pedaços de folíolos que foram imersos em solução de cloral hidratado (2,5 g/ml) para clareamento (Santos, 1991). Os pedaços de folíolos clareados foram colocados em lâmina com glicerina, para posterior observação em microscópio de luz.

2.3. Microscopia eletrônica de varredura

As amostras foram coletadas seis horas após a inoculação. Adotou-se a metodologia descrita por Matsuoka (1988), na qual os folíolos inoculados foram seccionados em fragmentos com cerca de 3 x 3 mm, fixados em glutaraldeído 3% tamponado com cacodilato de sódio a 0,05 M, pH 6,9. Em seguida, os fragmentos foram transferidos para um recipiente de vidro (2,5 ml) que continha o mesmo fixador, onde permaneceram durante uma noite, em geladeira, a 5-8°C. Após a fixação, as amostras foram lavadas com tampão cacodilato, sendo pós-fixadas por quatro horas, a 4°C, em tetróxido de ósmio (OsO₄) a 1% tamponado em cacodilato de sódio a 0,05 M, pH 6,9. Em seguida, as amostras foram lavadas com tampão cacodilato e desidratadas em uma série de álcool etílico.

As amostras desidratadas foram secas pelo método de secagem no ponto crítico usando-se aparelho "Critical Point Dryer" (Balzers, modelo CPD 020). Depois, foram montadas sobre suporte de metal, fixadas em carbono coloidal e, em seguida, cobertas com ouro por meio de pulverização catódica no "Sputter Coater" (Balzers, modelo Fdu 010). As observações foram feitas em microscópio de varredura JEOL, (JSM-T200) operando em 15kV. Este ensaio foi repetido duas vezes.

2.4. Microscopia eletrônica de transmissão

As amostras foram coletadas 24 horas após a inoculação com zoósporos, para se observar a colonização por *P. capsici*. Foram seccionadas em fragmentos de aproximadamente 1 mm³, adotando-se o mesmo procedimento de fixação e desidratação relatado anteriormente. A metodologia a seguir foi baseada na de Matsuoka (1988). Após a desidratação, as amostras foram submetidas à impregnação, sendo, inicialmente, imersas em álcool etílico 1: resina epoxi Spurr 1, por 30 minutos, e transferidas, seqüencialmente, para álcool 1: resina 3 por 30 minutos; para álcool 0: resina 1, por quatro horas; e para resina pura por uma noite. As amostras impregnadas foram então incluídas na mesma resina, usando-se forma de borracha de silicone e polimerizadas a 70°C por 24 horas. Secções de 60-90 nm foram feitas em ultramicrótomo Sorval Mt-B. Essas secções foram recolhidas em telinhas de cobre, cobertas previamente com filme de Formvar e contrastadas duplamente com acetato de uranila, por 20 a 30 minutos e com citrato de chumbo por 15 a 20 minutos. Para as observações, utilizou-se um microscópio eletrônico Zeiss EM 109, operando em 50 kV. Este ensaio foi repetido duas vezes.

2.5. Microscopia de luz - cortes semifinos

As amostras foram processadas conforme relatado no item anterior. Os cortes semifinos de 0,5 a 1,0 µm de espessura foram colocados sobre uma gota de água

destilada em lâminas de microscópio e secos em chapa quente (Matsuoka, 1988). Em seguida foram coloridos com azul de toluidina 0 a 0,1% em bórax (Coffey & Wilson, 1983) e observados em microscópio de luz transmitida.

3. RESULTADOS

Nos folíolos jovens inoculados, independentemente da face, foram observados sintomas 24 horas após a inoculação e a presença de esporângios nas lesões após 48-50 horas.

Nos folíolos intermediários, na face abaxial, houve variação na eficiência da infecção (relação entre o número de folíolos infectados e o número de folíolos inoculados x 100) entre 70 e 100%; na face adaxial, não ocorreram sintomas.

Os folíolos maduros inoculados sem ferimentos reagiram diferentemente às inoculações. Na face abaxial, constatou-se desde ausência de sintomas até a presença de pontuações escuras ou lesão; na face adaxial não se verificaram sintomas até 120 horas, após a inoculação. No entanto, verificou-se, em ambas as faces com ferimentos, o aparecimento de sintomas cerca de 30 horas após a inoculação. Constatou-se a ocorrência de maior esporulação nas lesões da face abaxial, o que nem sempre ocorreu nas lesões da face adaxial.

Estômatos de folíolos de seringueira estão situados apenas na face abaxial. Nos folíolos jovens, na face abaxial, os zoósporos de *P. capsici* encistaram e germinaram emitindo tubos germinativos de comprimentos variados (Fig. 1A), que penetravam os estômatos isoladamente (Fig. 1B) ou em grupos (Fig. 1C). Foram observados cistos que emitiram tubos germinativos na direção de estômatos fechados (Fig. 1A). Foi observada, também, a penetração direta de células da epiderme após a formação de apressórios (Fig. 1D); e a formação de apressórios sobre os estômatos (Fig. 1E). Na face adaxial, os zoósporos também encistaram e germinaram emitindo tubos germinativos, que penetravam as células da epiderme após a formação de apressório (Fig. 1F, 1G). Ver Figuras no anexo.

Não tendo sido verificadas diferenças estruturais de superfície entre folíolos intermediários e maduros, ambos serão tratados apenas como folíolos maduros. Na superfície desses folíolos, houve aumento acentuado da espessura da camada cuticular, tanto na face abaxial quanto na adaxial (Fig. 2); há diferenças no padrão de deposição, mostrando características distintas entre as duas faces. Na face abaxial, os estômatos encontram-se em pequenas cavidades sobre a superfície foliar.

Estruturalmente, a superfície dos folíolos jovens difere da dos maduros por possuir cutícula muito fina, tanto na face adaxial quanto na abaxial. Na face adaxial dos folíolos maduros, a cutícula também é uniformemente lisa, mas com espessura variando de 1,3 a 3,0 μ m; na face abaxial, a cutícula é mais fina com espessura variando de 0,8 a 1,3 μ m, mas apresenta projecções características que chegam a atingir de 3,0 a 10,0 μ m de altura. Esta mudança estrutural da superfície foliar com o amadurecimento não afetou a fase de pré-penetração (encistamento e germinação) de *P. capsici*.

Na face abaxial dos folíolos maduros, os zoósporos encistaram e germinaram emitindo tubos germinativos (Fig. 2E, 2F); em poucos casos foi observada a penetração dos estômatos (Fig. 2E, 2G). Os tubos germinativos passaram sobre os estômatos (Fig. 2D), entre e sobre as projecções de cutícula (Fig. 2F), sem as penetrarem.

Na Figura 2 (A, B e C) são mostrados detalhes de *P. capsici* sobre a superfície

adaxial de folíolos maduros. Os cistos emitiram tubos germinativos longos (Fig. 2A) ou curtos (Fig. 2B, 2C), com apressórios normais (Fig. 2C), ou anormais (Fig. 2A, 2B). Os apressórios emitiram hifas (Fig. 2B) sem, no entanto, haver penetração. Na Figura 2A, foi observada a formação de dois apressórios em apenas um cisto.

Na Figura 3 (E, F, G e H) está representada a colonização por *P. capsici*, 24 horas após a inoculação, nesta fase os tecidos foliolares encontravam-se desorganizados em razão da rápida colonização do mesófilo pelo patógeno.

Na Figura 3 (A, B, D) estão representadas hifas de *P. capsici* sobre a cutícula da face abaxial de folíolos maduros. Ao se observarem os cortes semifinos em microscópio de luz, foi verificado que o fungo não penetrava a camada cuticular da face abaxial (Fig. 3B, 3D). Na Figura 2F, foi observado que os tubos germinativos passam entre as projeções sem, no entanto, penetrar a cutícula (Fig. 3B, 3D).

Na Figura 3C são apresentados detalhes da cutícula pouco espessa nas células-guardas. As projeções da cutícula em volta dos estômatos (Fig. 3D) dificultam a penetração por estas estruturas (Fig. 3A, 3B, 3D).

Os folíolos maduros apresentam uma estrutura típica de simetria dorsiventral, sendo que, com o amadurecimento, houve deposição acentuada de cutícula, a qual apresenta projeções. na face abaxial e maior espessura na face adaxial.

4. DISCUSSÃO

Na fase de pré-penetração (encistamento e germinação), o comportamento de *P. capsici* inoculado na forma de zoósporo foi independente da idade e da face do folíolo. Após a inoculação, os zoósporos encistaram e emitiram tubos germinativos de comprimentos variados, que penetraram os estômatos ou diretamente através da epiderme, após a formação de apressório. Similarmente, Coffey & Wilson (1983) observaram estas etapas em *P. infestans* - batata e Matsuoka (1988) em *P. capsici* - pimentão.

Na face abaxial de folíolos jovens, a penetração ocorreu, em sua maioria, pelos estômatos foliolares, a partir de tubos germinativos. Foi observada, também, a penetração pelas células da epiderme, com formação de apressório. Em folíolo de seringueira do clone RRIM 701, Thankamma et al. (1975) verificaram que a penetração de *P. palmivora* e *P. meadii* ocorreu apenas pelos estômatos, a partir de tubos germinativos. Em outro sistema, *P. infestans Solanum tuberosum*, Gees & Hohl (1988) observaram que a penetração ocorreu preferencialmente pelos estômatos. No entanto, no mesmo sistema patógeno-hospedeiro, Wilson & Coffey (1980) verificaram que a penetração de *P. infestans* ocorreu preferencialmente pelas células da epiderme adjacentes às células-guardas do estômato e não pelo estômato em si. Na interação *P. capsici*-Capsicum anuum, Matsuoka (1988) observou que a penetração em folhas ocorreu, na maioria das vezes, diretamente através da epiderme e ocasionalmente pelos estômatos.

Observações em microscópio de luz mostraram que a penetração já ocorria nos folíolos jovens, três horas após a inoculação, em ambas as faces. Em seringueira clone RRIM 701, Thankamma et al. (1975) inocularam *P. palmivora* e *P. meadii* em folíolos e observaram que os tubos germinativos completaram a penetração em quatro horas.

Na face abaxial dos folíolos jovens, foi verificado que os tubos germinativos emitidos pelos cistos de *P. capsici*, penetravam através da epiderme e, em sua maioria, pelos estômatos. Contudo, com o amadurecimento do folíolo a penetração é

dificultada ou mesmo impedida pelo espessamento da cutícula. Esta mudança estrutural da superfície foliolar (Zainuddin & Omar, 1988) com o amadurecimento não afetou a fase de pré-penetração (encistamento e germinação) de *P. capsici*.

Alguns cistos formaram dois apressórios. O mesmo já havia sido observado por Aveling & Rijkenberg (1989) com *P. cinnamomi* inoculado em raízes de abacateiro. Desconhece-se, entretanto, relatos anteriores sobre a formação de apressórios anormais como vistos neste estudo.

Na face adaxial dos folíolos jovens de seringueira não existem estômatos, e a penetração de *P. capsici* ocorreu diretamente na célula da epiderme, com formação de apressório. No entanto, embora tenha germinado e produzido apressórios, não se verificou a penetração do patógeno nas células da epiderme da face adaxial dos folíolos maduros. Foi observado que, a espessura acentuada da cutícula sobre as células epidérmicas inviabilizam esta via de penetração. Apesar de Kolattukudy & Köller (1983) já terem relatado que *P. cactorum* produz cutinase, e de várias evidências indicarem ação enzimática na penetração (Jones et al., 1974; Shimony & Friend, 1977; Matsuoka, 1988), este mecanismo não é completamente conhecido (Keen & Yoshikawa, 1983). Neste trabalho, não houve indícios de dissolução química da superfície da cutícula de seringueira nas proximidades das estruturas de *P. capsici*.

Embora vários autores tenham abordado o envolvimento da cutícula na resistência (Martin, 1964; Campbell et al., 1980; Archer & Cole, 1986; Kolattukudy & Köller, 1983; Misaghi, 1982), poucos, entretanto, concluíram que a sua participação é importante (Roberts & Martin, 1963; Campbell et al., 1980; Carver et al., 1990). Nos sistemas patógeno-hospedeiro estudados, a ausência de uma correlação direta entre a espessura da cutícula e a resistência (Misaghi, 1982), assim como a descoberta de fungos fitopatogênicos que produzem cutinase, levaram vários autores (Lin & Kolattukudy, 1980; Dickman & Patil, 1986; Trail & Köller, 1990) a questionar a efetividade da cutícula. Roberts & Martin (1963) e Carver et al. (1990) mostraram evidências sobre a resistência da cutícula de folhas de *Citrus aurantifolia* e *Lolium* spp. a *Gloeosporium limetticola* e *Erysiphe graminis*, respectivamente. Assim, embora haja divergências sobre a participação da cutícula na resistência, os resultados deste trabalho evidenciam que, na interação *P. capsici* - *Hevea brasiliensis*, ocorreram restrições à penetração do patógeno em folíolos maduros, em virtude da configuração e da espessura da cutícula, do clone PB 86.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Cláudia Vanetti, pelas sugestões.

5. LITERATURA CITADA

- ARCHER, K.J.; COLE, L.J. Cuticle wall ultrastructure and disease resistance in maidenhair fern. **New Phytologist**, Cambridge, v.103, p.341-348, 1986.
- AVELING, T.S.; RIJKENBERG, F.H.J. Behavior of *Phytophthora cinnamomi* on roots of four avocado cultivars. **Phytopathology**, Saint Paul, v.79, p.157-164, 1989.
- CAMPBELL, C.L.; HUANG, J.; PAYNE, G. A. Defense at the perimeter: the outer walls and the gates. In: HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B.; ed. Plant disease: an advanced treatise. New York: Academic Press, 1980. p.103-120.

- CARVER, T.L.W.; THOMAS, B.J.; INGERSON-MORRIS, S.M.; RODERICK, H.W. The role of the abaxial leaf surface waxes os *Lolium* ssp. in resistance to *Erisiphe graminis*. **Plant Pathology**, London, v.39, p.573-583, 1990.
- COFFEY, K.D.; WILSON, U.E. An ultrastructural study of the late blight fungus *Phytophthora infestans* potato cultivars possessing different levels of general (field) resistance. **Canadian Journal of Botany**, Otaawa, v.61, p.2669-2685, 1983.
- DICKMAN, M.B.; PATIL, S.S. Cultinase deficient mutants of *Colletotrichum gloesporioides* are nonpathogenic to papaya fruit. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, ₃v.28, p.235-242, 1986.
- GEES, R.; HOHL, H.L. Cytological comparision os specific (R) and general resistance to late blight in potato leaf tissue. **Phytopathology**, Saint Paul, v.78, p.350-357, 1988.
- JONES, D.R.; GRAHAM, W.G.; WARD, E.W.B. Ultrastructural changes in pepper cells in a compatible interaction with *Phytophthora capsici*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.64, p.1084-1090, 1974.
- KEEN, N.T.; YOSHIKAWA, M. Physiology of disease and the nature of resistance to *Phytophthora*. In: ERWIN, D.C.; BARTNICKI-GARCIA, S.; TSAO, P.H.; ed. **Phytophthora: its biology, taxonomy, ecology, and pathology**. St. Paul; APS, 1983. p.279-287.
- KOLATTUKUDY, P.E.; KÖLLER, W. Fungal penetration of the first line defensive barriers of plants. In: CALLOW, J.A., ed. **Biochemical plant pathology**. Chichester: J.Wiley, 1983. p.79-100.
- LIN, T.S.; KOLATTUKUDY, P.E. Isolation and characterization of a cuticular polyester (cutin) hydrolyzing enzyme from phytopathogenic fungi. **Physiological Plant Pathology**, London, v.17, p.1-5, 1980.
- MARTIN, J.T. Role of cuticle on the defense against plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.2, p.81-100, 1964.
- MATSUOKA, K. **Resistência de *Capsicum anuum* L. à *Phytophthora capsici* Leonian: um estudo ultraestrutural da interação**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1988. 112p. Tese Doutorado.
- MISAGHI, I.J. **Physiology and biochemistry of plant-pathogen interactions**. New York: Plenum Press, 1982. 287p.
- ROBERTS, M.F.; MARTIN, J.T. Withertip disease of limes (*Citrus aurantifolia*) in Zanzibar. III. The leaf cuticle in relation to infection by *Gloeosporium limetticola* Clausen. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v.51, p.411-413, 1963.
- SANTOS, A.F. dos. **Identificação de *Phytophthora* em *Hevea*, histopatologia e resistência do hospedeiro**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 139p. Tese Doutorado.
- SANTOS, A.F. dos; PEREIRA, J.C.R.; FERREIRA, F.A. Doenças da copa da seringueira causadas por *Phytophthora* ssp. - requeima e queda anormal das folhas. In: FERREIRA, F., ed. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: SIF, 1989. p.314-325.

- SHIMONY, C.; FRIEND, J. The ultrastructure of the interaction between *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary and tuber discs of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. King Edward. **Physiological Plant Pathology**, London, v.11, p.243-249, 1977.
- THANKAMMA, L.; RAJALAKSMI, V.K.; RADHAKRISHNA PILLAY, P.N. Mode of entry of *Phytophthora* in *Hevea brasiliensis*. In: INTERNATIONAL RUBBER CONFERENCE, 1975, Kuala Lumpur. **Proceedings of the international rubber conference**, Kuala Lumpur, 1975. p.213-216.
- TRAIL, F.; KÖLLER, W. Diversity of cutinases from plant pathogenic fungi: evidence for a relationship between enzyme properties and tissue specificity. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.36, p.495-508, 1990.
- WILSON, U.E.; COFFEY, M.D. Cytological evaluation of general resistance to *Phytophthora infestans* in potato foliage. **Annals of Botany**, London, v.45, p.81-90, 1980.
- ZAINUDDIN, R.O.; OMAR, M. Influence of the leaf surface of *Hevea* on activity of *Colletotrichum gloesporioides*. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v.91, p.427-432, 1998.

ANEXO

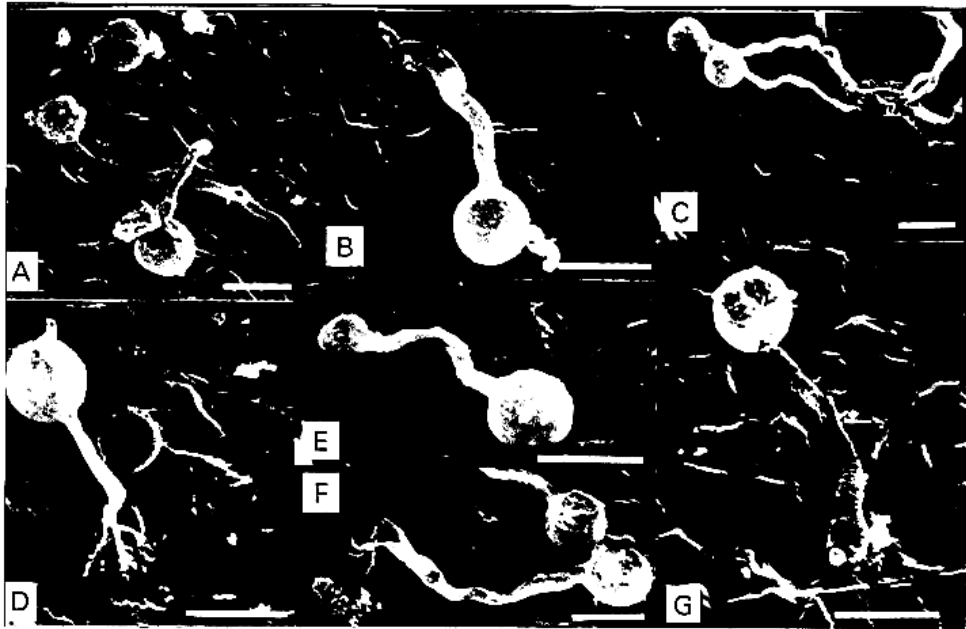


FIGURA 1: Fotomicrografia eletrônica de varredura das fases de germinação e da penetração de zoósporos encistados de *P. capsici* em folíolos jovens de seringueira. Face abaxial: A- zoósporos encistados e germinados; B- penetração pelo estômato, sem apressório; C- vários zoósporos, sem apressório, penetrando um estômato; D- zoósporo com apressório (a), penetrando por célula da epiderme; E- zoósporo com apressório, aparentemente penetrando pelo estômato. Face adaxial: F e G- zoósporos, com apressório (a), penetrando por uma célula da epiderme. Barra: 10 m.

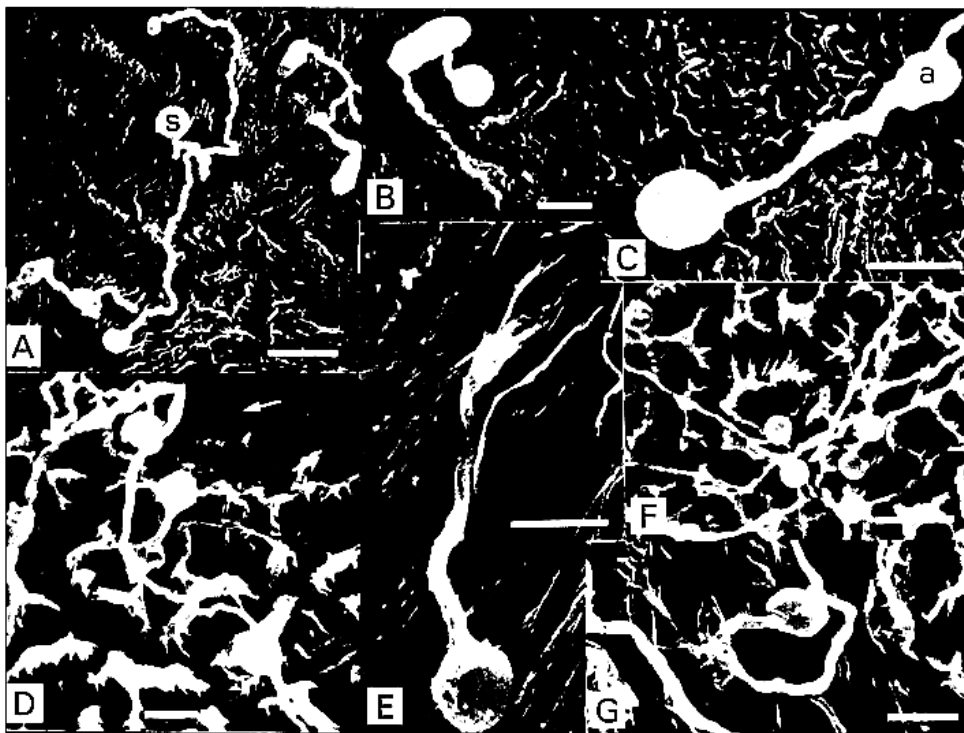


FIGURA 2. Fotomicrografia eletrônica de varredura da superfície das faces abaxial e adaxial de folíolos maduros de seringueira. Face adaxial (A, B e C): zoósporos encistados e germinados (s) com apressórios (a) normal em C e anormais em A e b. Face abaxial (D, E, F e G): zoósporos encistados e germinados em F e em D a presença de estômatos (seta); E e G- penetração de zoósporos encistados, sem apressório, pelos estômatos. Barra: 10 m em A, B, C, E e G; 2 m em D e F.



FIGURA 3. Secções semifinas (A,B, E, F e G) e ultrafinas (C, D e H) de folíolos jovens e maduros de seringueira. Face abaxial de folíolos maduros (A, B, C e D): A e B- hifas do patógeno (setas) na cutícula; C- estômato e detalhes das projeções da cutícula; D- hifas do patógeno (h) na cutícula, com detalhes das projeções cuticulares; folíolos jovens (E, F; G e H): E- secção transversal de regiões colonizadas e não-colonizadas pelo patógeno; F e G- colonização intensa dos parênquimas lacunoso e paliçádico, 24 horas após a inoculação na face abaxial. As setas indicam, em F e G, hifas do patógeno. Barra: 20 m em A, B, E, F e G; 5 m em C e G; 2 m em D.