

**INTERAÇÕES ENTRE O MOSAICO-EM-DESENHO DO
FEIJOEIRO E DUAS DOENÇAS FÚNGICAS, FERRUGEM
E MANCHA ANGULAR, EM PLANTAS DE FEIJOEIRO**

RENATO BEOZZO BASSANEZI
Engenheiro Agrônomo

Orientadora: Prof^a. Dr^a. LILIAN AMORIM

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, da
Universidade de São Paulo, para obtenção do
título de Mestre em Agronomia, Área de
Concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Novembro - 1995

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Bassanezi, Renato Beozzo

Interações entre o mosaico-em-desenho do feijoeiro e duas doenças fúngicas, ferrugem e mancha angular, em plantas de feijoeiro. Piracicaba, 1995.

124p. ilus.

Diss.(Mestre) - ESALQ

Bibliografia.

1. Feijão - Doença 2. Mosaico-em-desenho do feijoeiro I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

**CDD 635.652
632.8**

**INTERAÇÕES ENTRE O MOSAICO-EM-DESENHO DO
FEIJOEIRO E DUAS DOENÇAS FÚNGICAS, FERRUGEM
E MANCHA ANGULAR, EM PLANTAS DE FEIJOEIRO**

RENATO BEOZZO BASSANEZI

Aprovada em: 12.01.1996

Comissão julgadora:

Prof.^a Dr.^a Lilian Amorim
Prof. Dr. Armando Bergamin Filho
Prof. Dr. Carlos Alberto Labate

ESALQ/USP
ESALQ/USP
ESALQ/USP



Prof.^a Dr.^a LILIAN AMORIM
Orientadora

DEDICO

**Aos meus pais, Rodney e Maria Sílvia
e minhas irmãs Carla, Betina e Camila**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, colegas, professores e funcionários do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP pela atenção e amizade durante todo o curso, em especial:

À Prof^a. Lilian Amorim, pela orientação, apoio e amizade.

Ao Prof. Armando Bergamin Filho pelas idéias e auxílio na análise dos dados.

Ao Prof. Carlos Alberto Labate pelo uso do laboratório para as análises de fotossíntese e auxílio na interpretação dos resultados.

À Cláudia Vieira Godoy pela imensa ajuda, paciência e companheirismo, sem os quais este trabalho não seria possível.

Aos colegas epidemiologistas: Marilene, Marise, Marcelo, Maristella e Gisele pela amizade e conversas.

Aos virologistas Jorge A. M. Rezende, Anésio Bianchini e Sílvia R. Galetti pela ajuda e sugestões.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xii
RESUMO	xvii
SUMMARY	xix
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. Doenças do feijoeiro	03
2.1.1. Importância da cultura e das doenças do feijoeiro	03
2.1.2. Ferrugem do feijoeiro	05
2.1.2.1. Importância	05
2.1.2.2. Etiologia	05
2.1.2.3. Círculo de hospedeiros e sintomatologia	06
2.1.2.4. Principais fatores que interferem no desenvolvimento da doença	07
a) Fatores ambientais	08
b) Fatores do hospedeiro	09
c) Fatores relacionados à própria doença	10
2.1.2.5. Controle	10
2.1.3. Mancha angular do feijoeiro	12
2.1.3.1. Importância	12
2.1.3.2. Etiologia	13
2.1.3.3. Círculo de hospedeiros e sintomatologia	14
2.1.3.4. Principais fatores que interferem no desenvolvimento da doença	15
a) Fatores ambientais	15
b) Fatores do hospedeiro	16

2.1.3.5. Controle	17
2.1.4. Mosaico-em-desenho do feijoeiro	19
2.1.4.1 Importância	19
2.1.4.2. Etiologia	20
2.1.4.3. Círculo de hospedeiros e sintomatologia	21
2.1.4.4. Principais fatores que interferem no desenvolvimento da doença	22
2.1.4.5. Controle	23
2.2. Interação entre patógenos	23
2.2.1. Importância da interação entre patógenos	23
2.2.2. Tipos de interações entre patógenos	25
2.2.3. Interações entre vírus e fungos foliares	27
2.2.4. Avaliação da interação de doenças	28
2.2.4.1. Avaliação de parâmetros monocíclicos	29
2.2.4.2. Avaliação da respiração de plantas	30
2.2.4.3. Avaliação da fotossíntese	31
a) Conteúdo total de clorofila	32
b) Assimilação de CO ₂	33
c) Fluorescência da clorofila <i>a</i>	34
3. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1. Material vegetal	39
3.2. Obtenção dos patógenos e preparo do inóculo	39
3.2.1. <i>Uromyces appendiculatus</i>	39
3.2.2. <i>Phaeoisariopsis griseola</i>	40
3.2.3. Vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro (VMDeF)	41
3.3. Determinação da área foliar de plantas sadias e infectadas com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro	42
3.4. Avaliação do efeito da pré-inoculação com o vírus do mosaico-em-	

desenho do feijoeiro sobre o desenvolvimento da ferrugem em diferentes temperaturas	43
3.5. Avaliação do efeito da pré-inoculação com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro sobre o desenvolvimento da mancha angular em diferentes temperaturas	45
3.6. Avaliação do efeito das doenças, isoladas e em conjunto, sobre a eficiência fotossintética das folhas de feijoeiro	48
3.6.1. Avaliação da respiração e da assimilação de CO ₂	50
3.6.2. Avaliação da fluorescência da clorofila <i>a</i>	51
3.6.3. Determinação do conteúdo de clorofila total	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.1. Efeito da pré-inoculação com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro sobre o desenvolvimento da ferrugem em diferentes temperaturas	55
4.2. Efeito da pré-inoculação com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro sobre o desenvolvimento da mancha angular em diferentes temperaturas	64
4.3. Efeito das doenças, isoladas e em conjunto, sobre a eficiência fotossintética das folhas de feijoeiro	73
4.3.1. Severidade das doenças obtidas nos experimentos de fotossíntese	73
4.3.2. Clorofila total, respiração e assimilação de CO ₂	75
4.3.3. Fluorescência da clorofila <i>a</i>	82
4.3.3.1. ϕ PSII, F'v/F'm, qP e qNP	82
4.3.3.2. Fv/Fm, Fo e Fm	88
4.3.3.3. Considerações finais	89
5. CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

LISTA DE FIGURAS

FIGURA N°

Página

- 01 Curva de análise de “quenching” da fluorescência da clorofila *a* pelo método dos pulsos saturantes. $m \uparrow$, luz modulada vermelha fraca ligada; $s \uparrow$, pulso de luz saturante ligado; $a \uparrow$, luz actínica contínua ligada simultaneamente com um pulso saturante; $a \downarrow$, luz actínica desligada. Ao longo da curva são observados os pontos característicos da produção de fluorescência: F_0 (fluorescência mínima obtida com todos centros de reação do PSII abertos enquanto a membrana tilacóide está no estado não energizado, isto é, adaptada no escuro, $qP=1$ e $qNP=0$); F_m (fluorescência máxima obtida quando todos centros de reação do PSII estão fechados no estado adaptado no escuro, $qP=0$ e $qNP=0$); F_v (fluorescência variável máxima obtida quando $qNP=0$, isto é, $F_v=F_m-F_0$); $F'm$ (fluorescência máxima em qualquer estado adaptado na luz, $qP=0$ e $qNP>0$); $F'o$ (fluorescência mínima em qualquer estado adaptado na luz, $qP=1$ e $qNP>0$); F_s (fluorescência no estado fixo, isto é, a fluorescência não muda enquanto os fatores externos permanecerem constantes); qP (“quenching” fotoquímico) e qNP (“quenching” não fotoquímico) 38
- 02 Escala para avaliação do tamanho das pústulas da ferrugem do feijoeiro (valores em mm^2) 47
- 03 Escala para avaliação do tamanho das lesões da mancha

	angular do feijoeiro (valores em mm ²)	47
04	Período latente (h) da ferrugem do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C)	56
05	Freqüência de infecção (pústulas/cm ²) da ferrugem do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C)	57
06	Taxa de crescimento das pústulas (mm ² /hora) da ferrugem do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C)	58
07	Tamanho de pústulas (mm ²) da ferrugem do feijoeiro 17 dias após a inoculação com <i>Uromyces appendiculatus</i> nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C)	59
08	Severidade (%) da ferrugem do feijoeiro 17 dias após a inoculação com <i>Uromyces appendiculatus</i> nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-	

- infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C) 60
- 09** Período de incubação (h) da mancha angular do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C) 65
- 10** Frequência de infecção (manchas/cm²) da mancha angular do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C) 66
- 11** Taxa de crescimento das manchas (mm²/hora) da mancha angular do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C) 67
- 12** Tamanho de manchas (mm²) da mancha angular do feijoeiro 16 dias após a inoculação com *Phaeoisariopsis griseola* nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C) 68
- 13** Severidade (%) da mancha angular do feijoeiro 16 dias após a inoculação com *Phaeoisariopsis griseola* nas variedades

Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré- infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C)	69
---	----

LISTA DE TABELAS

TABELA Nº		Página
01	Severidade da ferrugem e da mancha angular (% de área foliar com lesão) em folhas de feijoeiro, das variedades Rosinha e Carioca, sem e com infecção viral sistêmica, na época da avaliação dos parâmetros de fotossíntese (média \pm erro padrão, 7 repetições)	74
02	Clorofila total (mg.m^{-2}), taxa de respiração ($\mu\text{mol CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e taxa de assimilação líquida de CO_2 com base na área foliar ($\mu\text{mol CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e no conteúdo de clorofila ($\mu\text{mol CO}_2.\text{mg clorofila}^{-1}.\text{s}^{-1}$) em folhas da variedade Rosinha sadias (controle), com ferrugem, com virose e com virose + ferrugem, a baixa ($150\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos nas suas respectivas unidades \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições)	75
03	Clorofila total (mg.m^{-2}), taxa de respiração ($\mu\text{mol CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e taxa de assimilação líquida de CO_2 com base na área foliar ($\mu\text{mol CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e no conteúdo de clorofila ($\mu\text{mol CO}_2.\text{mg clorofila}^{-1}.\text{s}^{-1}$) em folhas da variedade Carioca sadias (controle), com ferrugem, com virose e com virose + ferrugem, a baixa ($150\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos nas suas respectivas unidades \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7	

- repetições) 76
- 04** Clorofila total ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$), taxa de respiração ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e taxa de assimilação líquida de CO_2 com base na área foliar ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e no conteúdo de clorofila ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mg clorofila}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) em folhas da variedade Rosinha sadias (controle), com mancha angular, com virose e com virose + mancha angular, a baixa ($150\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos nas suas respectivas unidades \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições) 80
- 05** Clorofila total ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$), taxa de respiração ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e taxa de assimilação líquida de CO_2 com base na área foliar ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e no conteúdo de clorofila ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mg clorofila}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) em folhas da variedade Carioca sadias (controle), com mancha angular, com virose e com virose + mancha angular, a baixa ($150\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos nas suas respectivas unidades \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições) 81
- 06** Parâmetros de fluorescência (F_v/F_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro; ϕPSII = eficiência quântica das reações fotoquímicas; $F'v/F'm$ = eficiência da captura da

energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas na luz; qP = “quenching” fotoquímico e qNP = “quenching” não-fotoquímico), em folhas da variedade Rosinha sadias (controle), com ferrugem, com virose e com virose + ferrugem, a baixa ($150\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos em unidades arbitrárias \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições)

83

- 07** Parâmetros de fluorescência (F_v/F_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro; ϕ_{PSII} = eficiência quântica das reações fotoquímicas; F'_v/F'_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas na luz; qP = “quenching” fotoquímico e qNP = “quenching” não-fotoquímico), em folhas da variedade Carioca sadias (controle), com ferrugem, com virose e com virose + ferrugem, a baixa ($150\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos em unidades arbitrárias \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições)

84

- 08** Parâmetros de fluorescência (F_v/F_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro; ϕ_{PSII} = eficiência quântica das reações fotoquímicas; F'_v/F'_m = eficiência da captura da

energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas na luz; qP = “quenching” fotoquímico e qNP = “quenching” não-fotoquímico), em folhas da variedade Rosinha sadias (controle), com mancha angular, com virose e com virose + mancha angular, a baixa ($150\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos em unidades arbitrárias \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições)

85

- 9 Parâmetros de fluorescência (F_v/F_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro; ϕ_{PSII} = eficiência quântica das reações fotoquímicas; F'_v/F'_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas na luz; qP = “quenching” fotoquímico e qNP = “quenching” não-fotoquímico), em folhas da variedade Carioca sadias (controle), com mancha angular, com virose e com virose + mancha angular, a baixa ($150\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos em unidades arbitrárias \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições)

86

- 10 Parâmetros de fluorescência da clorofila (F_o = fluorescência mínima; F_m = fluorescência máxima; F_v/F_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro) para folhas de feijoeiro

com ferrugem (0, 4, 30 e 70% de severidade), com mancha angular (0 e 100% de severidade) e com virose. Os valores são expressos em % do controle (média de 12 repetições para ferrugem e 9 repetições para mancha angular e virose)

INTERAÇÕES ENTRE O MOSAICO-EM-DESENHO DO FEIJOEIRO E DUAS DOENÇAS FÚNGICAS, FERRUGEM E MANCHA ANGULAR, EM PLANTAS DE FEIJOEIRO

Autor: RENATO BEOZZO BASSANEZI

Orientadora: Prof.^a Dr.^a LILIAN AMORIM

RESUMO

Com o objetivo de estudar as interações entre o mosaico-em-desenho do feijoeiro e duas doenças fúngicas, ferrugem e mancha angular do feijoeiro, foram determinados os parâmetros monocíclicos das doenças e a eficiência fotossintética de plantas das variedades Rosinha G-2 e Carioca Comum infectadas com um ou mais patógenos.

Foram avaliados os parâmetros monocíclicos (frequência de infecção, período de incubação ou latência, taxa de crescimento das lesões, tamanho final das lesões e severidade) das duas doenças fúngicas em plantas pré-infectadas ou não com vírus, em diferentes temperaturas. Foram testadas as temperaturas de 9, 12, 15, 18, 21, 24 e 27°C para a ferrugem e de 15, 18, 21, 24, 27 e 30°C para a mancha angular.

Independente da pré-infecção viral, para *Uromyces appendiculatus*, o processo infeccioso e a colonização foram favorecidos pelas temperaturas de 17 e 18°C, respectivamente. O menor período latente ocorreu a 21°C.

Para *Phaeoisariopsis griseola*, independente da pré-infecção viral, o processo infeccioso e a colonização foram favorecidos pela temperatura de 24°C. O menor período de incubação foi alcançado, também, na temperatura de 24°C.

Nas duas doenças fúngicas, a pré-infecção viral, no entanto, reduziu significativamente todos os parâmetros monocíclicos, a exceção do período latente, para a ferrugem, e do período de incubação, para a mancha angular.

A eficiência da fotossíntese, avaliada pela assimilação de CO₂, foi reduzida nas plantas infectadas com um ou mais patógenos. Para as doenças fúngicas, a redução na assimilação de CO₂ foi proporcionalmente maior que a redução esperada devido à área lesionada e à perda de clorofila. As plantas pré-infectadas com vírus, por apresentarem baixos níveis de infecção dos fungos, comportaram-se de modo semelhante às plantas infectadas somente com o vírus.

Pela análise dos parâmetros de fluorescência, concluiu-se que o modo de ação dos patógenos biotróficos é diferente do hemibiotrófico considerados neste trabalho. Foi observado um menor dano ao aparato fotossintético nas plantas infectadas com patógenos biotróficos.

INTERACTION BETWEEN BEAN “MOSAICO-EM-DESENHO” AND TWO FUNGAL DISEASES, RUST AND ANGULAR LEAF SPOT, IN BEAN PLANTS

Author: RENATO BEOZZO BASSANEZI

Adviser: Prof. Dr. LILIAN AMORIM

SUMMARY

Monocyclic parameters of diseases and the photosynthetic efficiency were determined in plants of Rosinha G-2 and Carioca Comum varieties infected with one or more pathogens, in order to study the interaction between bean “mosaico-em-desenho” and two fungal diseases, bean rust and angular leaf spot.

Monocyclic parameters of rust and angular leaf spot (infection frequency, incubation or latent periods, lesion growth rate, final lesion size and disease severity) were determined in virus-free and virus infected plants at different temperatures (9, 12, 15, 18, 21, 24, and 27°C to bean rust and 15, 18, 21, 24, 27, and 30°C to bean angular leaf spot).

For *Uromyces appendiculatus*, the optimum temperatures to infectious process and colonization were 17 and 18°C, respectively, independent of previous virus infection. The shortest latent period occurred at 21°C.

For *Phaeoisariopsis griseola*, the optimum temperature to infectious process and colonization was 24°C, independent of previous virus infection. The shortest incubation period occurred at 24°C.

Previous virus infection significantly reduced all monocyclic parameters in both fungal diseases except the bean rust latent period and the angular leaf spot incubation period.

Photosynthesis efficiency, measured by net CO₂ assimilation, decreased in infected plants with one or more pathogens. The net CO₂ assimilation reduction by fungal diseases was proportionally higher than that expected based on the reduction caused by injured leaf area and decrease of leaf chlorophyll content. As the level of fungal infection is low in virus pre-infected plants, plants infected with virus had the same photosynthesis efficiency than plants infected with two pathogens.

By fluorescence parameters' analysis, it was concluded that the way by which biotrophic pathogens act is different than hemibiotrophic ones. Lower photosynthetic apparatus damage was observed in infected plants with biotrophic pathogens.

1. INTRODUÇÃO

Freqüentemente, as culturas em países tropicais são atacadas por um amplo espectro de patógenos, sendo comum a ocorrência de ataques múltiplos onde mais de um patógeno atua simultaneamente sobre a mesma planta.

O efeito de doenças isoladas sobre as culturas tem sido amplamente estudado, mas raramente tem-se dado atenção às interações entre as populações de patógenos, o que pode levar a sérios erros nas análises e modelagens de epidemias.

O modo pelo qual os patógenos interagem entre si e os efeitos desta interação na planta hospedeira têm implicações importantes na avaliação de danos nas culturas, no diagnóstico das causas principais destes danos e na avaliação da resistência múltipla a diversos patógenos. Além disso, o conhecimento das interações entre patógenos é essencial para a elaboração de um sistema de manejo integrado de doenças para uma determinada cultura.

A avaliação da interação entre patógenos pode ser feita em nível do desenvolvimento das doenças ou em nível dos efeitos sobre o hospedeiro. Com relação ao desenvolvimento das doenças, as avaliações envolvem a determinação dos parâmetros monocíclicos e policíclicos de cada patossistema. Já com relação aos efeitos sobre o hospedeiro, as avaliações envolvem os danos à produção ocasionados pelas alterações na fisiologia da planta. Em doenças foliares, o principal processo fisiológico interferido é a fotossíntese.

O presente trabalho teve como objetivo o estudo das interações entre o mosaico-em-desenho do feijoeiro e duas doenças fúngicas, ferrugem e mancha angular, em plantas de feijoeiro comum sob condições de ambiente controlado. Este estudo envolveu

a determinação dos parâmetros monocíclicos das doenças fúngicas em plantas pré-inoculadas ou não com o vírus e a determinação da taxa de fotossíntese das folhas infectadas com um ou mais patógenos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Doenças do feijoeiro

2.1.1. Importância da cultura e das doenças do feijoeiro

O feijoeiro comum, *Phaseolus vulgaris* L., fornece um dos alimentos básicos do povo brasileiro e de boa parte da América Latina. Além do elevado conteúdo calórico, o feijão constitui-se numa fonte acessível de proteínas, com composição aproximada de 20 a 25% de proteína na maioria dos cultivares nacionais. A proteína do feijão apresenta uma limitada quantidade dos aminoácidos metionina e cistina, mas alta quantidade de lisina, sendo o feijão importante como suplemento para alimentos como arroz e milho (SARTORATO, 1989; FANCELLI, 1990; MICHAELS, 1991).

Mesmo sendo componente da cesta básica, a produção de feijão no Brasil representa apenas 4% da produção de grãos colhidos. A cultura é distribuída ao longo do ano por todo o país, sendo plantada tanto para autoconsumo como em escala comercial (BANNO, 1994). O Brasil é o maior produtor mundial de feijão, gênero *Phaseolus*, e nos últimos cinco anos a produção nacional tem variado de 2,3 a 3,2 milhões de toneladas anuais assentadas numa área que varia de 4,5 a 5,8 milhões de hectares (FANCELLI, 1988; BANNO, 1994).

A produtividade média da cultura do feijoeiro no Brasil, 582 kg/ha na safra 93/94 (FEIJÃO, 1995), é considerada muito baixa quando comparada com a produtividade dos países desenvolvidos e com o potencial produtivo da espécie que gira em torno de 2500 a 3000 kg/ha (FANCELLI, 1988). Durante as três safras anuais, a produtividade

média nacional é bastante variada, sendo 700 kg/ha na safra das águas, 400 kg/ha na safra da seca e de até 2800 kg/ha na safra irrigada de inverno (BANNO, 1994).

Em virtude da alta vulnerabilidade da cultura às condições climáticas e aos ataques de pragas e doenças, ocorrem significativas variações na produção de ano para ano, e estes níveis instáveis de disponibilidade, sazonalidade da produção e variação dos preços contribuem para tornar o feijão um dos fatores de aumento da inflação brasileira (SILVA *et alii*, 1993; BANNO, 1994). Devido ao alto risco dessa cultura, atualmente, tem ocorrido um crescimento gradual do número de produtores de feijão mais tecnificados, sobretudo nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Bahia, Pernambuco e Ceará, e diminuído o cultivo através do sistema tradicional pouco tecnificado (FANCELLI, 1988; BANNO, 1994).

As principais causas apontadas para a baixa produtividade nacional de feijão são, entre outras, o elevado custo de produção e dificuldades de acesso ao crédito; a falta de apoio à pesquisa, extensão rural e produção de sementes de qualidade; a falta de adoção de tecnologias apropriadas como conservação do solo, correção da acidez do solo, emprego de fertilizantes, uso de sementes melhoradas, plantio em regiões e épocas adequadas e controle de pragas e doenças (FANCELLI, 1988).

Grande parte das mais de 300 doenças causadas por vírus, bactérias, fungos e nematóides que afetam o feijoeiro no Brasil é de ocorrência ocasional e sem importância econômica (COSTA, 1972). Entretanto, algumas doenças foliares, como o crestamento bacteriano, a antracnose, a ferrugem, a mancha angular, o mosaico dourado e o mosaico comum, têm se destacado em função da frequência de aparecimento e dos danos causados à produção do feijoeiro (VIEIRA, 1983; MENTEN, 1987; MENEZES, 1994; OLIVEIRA *et alii*, 1994b).

2.1.2. Ferrugem do feijoeiro

2.1.2.1. Importância

A ferrugem do feijoeiro chegou à América do Sul em 1902 (REY & LOZANO, 1961) e atualmente encontra-se distribuída pela América Latina, inclusive no Brasil, onde o feijoeiro é cultivado. Regiões tropicais, subtropicais e de clima temperado úmido, que apresentam temperaturas moderadas e alta umidade relativa são favoráveis à ocorrência da doença (COSTA, 1972; VIEIRA, 1983; RIOS, 1994).

Considerada uma das mais importantes doenças da parte aérea do feijoeiro, a ferrugem pode causar limitação na produção, principalmente quando coincidem raças virulentas do fungo, variedades suscetíveis do hospedeiro e ambiente favorável para o desenvolvimento da doença (MORENO & MORA, 1984). A produção pode ser severamente reduzida se as plantas forem infectadas na época de floração e enchimento de vagens, ao redor de 30-50 dias após a germinação (ALMEIDA *et alii*, 1977; CARRIJO *et alii*, 1979; ZAMBOLIM *et alii*, 1982; VIEIRA, 1983).

2.1.2.2. Etiologia

O agente causal da ferrugem do feijoeiro é o fungo basidiomiceto, da ordem Uredinales, *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger, anteriormente com os sinônimos, não mais válidos, *Uromyces phaseoli* var. *phaseoli* ou *Uromyces phaseoli* var. *typica* (STAVELY, 1991).

Este fungo é um parasita obrigatório, isto é, depende do hospedeiro para sua sobrevivência, sendo também classificado como biotrófico uma vez que obtém seu alimento do tecido vivo no qual ele completa seu ciclo de vida (LUTTRELL, 1974). O fungo apresenta as fases de pínio, écio, urédio e télio em um só hospedeiro,

constituindo-se no que se chama de ferrugem autóica e macrocíclica (ZAMBOLIM *et alii*, 1982; STAVELY, 1991; RIOS, 1994).

Os uredósporos são disseminados facilmente pelo vento a curtas e longas distâncias e também pelo homem, animais, insetos e implementos agrícolas (COSTA, 1972; KIMATI, 1980; STAVELY, 1991).

O ciclo de infecção inicia-se quando os uredósporos, produzidos assexuadamente, germinam e entram em contato com as células-guardas dos estômatos formando o apressório, a vesícula subestomatal e a hifa de infecção (VARGAS, 1980; STAPLES, 1985). O micélio formado no espaço intercelular não tem efeito sobre o hospedeiro, mas após a adesão da célula mãe do haustório à célula vegetal ocorre a penetração celular através do haustório e a retirada de alimento para o fungo (PRING, 1980).

As folhas de feijoeiro com ferrugem podem ter a fotossíntese inibida em torno de 60% em relação às folhas saudias. Uma folha primária sadia exporta para raízes e caule 50% do produto sintetizado, enquanto que uma folha doente, menos de 2% (LIVNE & DALY, 1966). A presença do patógeno inibe a translocação de fotossintetizados das folhas infectadas, limitando a disponibilidade de nutrientes às raízes e sementes em desenvolvimento (ZAKI & DURBIN, 1965; BOOKBINDER & BLOOM, 1980).

Durante o ciclo da cultura, ocorrem repetidas gerações de uredósporos, caracterizando uma doença policíclica. O padrão de esporulação é do tipo intermitente com vários picos durante o período infeccioso (IMHOFF *et alii*, 1982; AUST *et alii*, 1984; MENDES & BERGAMIN FILHO, 1990).

2.1.2.3. Círculo de hospedeiros e sintomatologia

Além do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), muitos outros hospedeiros são conhecidos como: *Phaseolus acutifolius*, *P. adenanthus*, *P. anisotrichus*, *P. atropurpureus*, *P. coccineus*, *P. dysophylus*, *P. lunatus*, *P. maculatus*, *P. multiflorus*, *P. obvallatus*, *P. polystachyus*, *P. retusus*, *P. sinuatus*, *Vigna repens*, *V. sinensis*, *V.*

unguiculata, *V. vexillata* (REY & LOZANO, 1961; ZAMBOLIM *et alii*, 1982; STAVELY & PASTOR-CORRALES, 1989).

Os sintomas da ferrugem manifestam-se principalmente nas folhas, podendo ocorrer nas hastes e vagens. Inicialmente, surgem pequenas manchas esbranquiçadas, puntiformes, levemente salientes, após 5-6 dias da infecção. Posteriormente, ocorre o rompimento da epiderme foliar e a exposição dos uredósporos, com coloração marrom-avermelhada, de aspecto ferruginoso. Pode ocorrer, ao redor dos soros, a formação de halos amarelados e, também, o aparecimento de pequenas pústulas secundárias. A produção de uredósporos nas pústulas cessa gradualmente em poucas semanas e pode haver a produção de teliósporos. As folhas severamente atacadas tornam-se amarelas, secam e caem (KIMATI, 1980; VARGAS, 1980; ZAMBOLIM *et alii*, 1982; VIEIRA, 1983; BIANCHINI *et alii*, 1989; STAVELY, 1991; MENEZES, 1994; RIOS, 1994).

O fungo, ao redor da pústula, ocasiona a desorganização do mesófilo e grande redução no tamanho das células afetadas (TORRE *et alii*, 1987). Na folha senescente, ocorre um aumento na síntese de clorofila nos sítios de infecção, podendo esta ser a explicação para o aparecimento de “ilhas verdes” ao redor das pústulas em folhas já amareladas (SZIRÁKI *et alii*, 1984).

2.1.2.4. Principais fatores que interferem no desenvolvimento da doença

Os fatores que mais interferem no desenvolvimento da ferrugem do feijoeiro são os fatores ambientais (temperatura, umidade), fatores do hospedeiro (estádio de desenvolvimento da planta, idade da folha, genótipo) e fatores relacionados à própria doença (densidade de lesões).

a) Fatores ambientais

A temperatura parece afetar todos os processos realizados pelo fungo. A melhor combinação temperatura diurna-noturna para o desenvolvimento da doença é de 26,6-21,1°C. Em temperatura mais elevada (32,2-26,6°C) há ausência de sintomas e em temperatura mais baixa (26,6-15,5°C) há um atraso no aparecimento dos sintomas (SCHEIN, 1961). Temperaturas abaixo de 7°C e acima de 27°C atrasam o desenvolvimento da ferrugem do feijoeiro, e podem paralisá-lo se ocorrem por longo período de tempo (BACCHI, 1993).

A germinação de uredósporos apresenta como temperatura mínima e máxima, 4 e 27,5°C, respectivamente. Entre 15 e 24°C, a taxa de germinação se mostra similar, porém, a 24°C, a penetração é prejudicada pela redução na formação de apressórios, e a 15°C, o crescimento do tubo germinativo é retardado (IMHOFF *et alii*, 1981; ALTEN, 1983).

Temperaturas altas durante a fase de penetração resultam na desorientação dos tubos germinativos e conseqüente decréscimo na freqüência de infecção (ALTEN, 1983). Na pré-penetração, as condições ambientais ótimas para o desenvolvimento da doença parecem estar entre 15-20°C e 24 horas de orvalho (CODE *et alii*, 1985). Na pós-penetração, o máximo desenvolvimento da doença ocorre a 20-26°C, o máximo número de pústulas, na faixa de 14-24°C, e o menor período latente, na faixa de 20-26°C, não havendo doença na faixa de 28-38°C (CODE *et alii*, 1985; BACCHI, 1993).

O período de incubação é de 7 dias na faixa de temperatura de 15-20°C e o período latente, de 9 dias (CODE *et alii*, 1985). Neste patossistema parece ocorrer o fenômeno de compensação, descrito por ROTEM (1978), visto que enquanto os menores períodos de incubação e latência ocorrem a 21°C, a maior freqüência de infecção ocorre a 17°C (MENDES & BERGAMIN FILHO, 1989a). A maior produção de esporos ocorre a 21°C e o período de esporulação e a capacidade germinativa dos uredósporos produzidos diminuem ou cessam a temperaturas maiores (IMHOFF *et alii*, 1981).

O período mínimo de molhamento sobre a folha do feijoeiro necessário para a ocorrência da ferrugem é de 4 a 8 horas, dependendo da temperatura (REY & LOZANO, 1961; IMHOFF *et alii*, 1981; CODE *et alii*, 1985; MENDES & BERGAMIN FILHO, 1989a). Porém, não é observado um efeito sobre o período latente e a frequência de infecção com períodos de molhamento acima de 15 ou 20 horas (GALVÃO & MENTEN, 1987; BACCHI, 1993).

Quanto maior a umidade, maior a produção de esporos por *Uromyces appendiculatus*, e um curto período de água livre (0,5 a 1 hora) aumenta o número de esporos liberados (YARWOOD, 1961).

b) Fatores do hospedeiro

Existem contradições sobre o grau de suscetibilidade entre as folhas primárias e as folhas trifolioladas. Alguns trabalhos apontam as folhas primárias como mais suscetíveis, apresentando menor período latente e maior frequência de infecção (ZULU & WHEELER, 1982; PIZA & MENTEN, 1987; TORRE *et alii*, 1987; MMBAGA & STEADMAN, 1992), outros trabalhos mostram o contrário (GROTH & RAMA RAJE URS, 1982; MENDES, 1985; MENDES, 1987; MENDES & BERGAMIN FILHO, 1989a; BACCHI, 1993), e outros não apontam diferenças nestes parâmetros (MENDES & BERGAMIN FILHO, 1986; GONZÁLES-ÁVILA *et alii*, 1987).

A resistência à ferrugem aumenta em função da idade da folha, sendo que folhas com 2 a 4 dias de idade são as mais suscetíveis e folhas mais velhas apresentam maior resistência (REY & LOZANO, 1961; SCHEIN, 1965; GROTH & RAMA RAJE URS, 1982; ZULU & WHEELER, 1982; MENDES & BERGAMIN FILHO, 1989b). A idade da folha porém, não afeta a taxa de germinação de uredósporos de *Uromyces appendiculatus* (IMHOFF *et alii*, 1981; ALTEN, 1983). A esporulação de *Uromyces appendiculatus* é maior na superfície inferior da folha (AUST *et alii*, 1984; MENDES, 1985).

Os parâmetros período de incubação, período latente, frequência de infecção, período infeccioso e esporulação para a ferrugem do feijoeiro variam de acordo com o genótipo do hospedeiro (AUST *et alii*, 1984; MENDES, 1985; AZEVEDO & KUSHALAPPA, 1986a; AZEVEDO & KUSHALAPPA, 1986b; MENDES & BERGAMIN FILHO, 1986; GONZÁLEZ-ÁVILA *et alii*, 1987; SILVA, 1992).

c) Fatores relacionados à própria doença

Quanto maior a concentração de pústulas por cm^2 , menor o diâmetro da lesão e menor a área esporulante. Além disso, para infecções mais pesadas o número de esporos produzidos por cm^2 , em um dia, é elevado e decresce rapidamente (YARWOOD, 1961).

Aumentando a concentração de inóculo utilizada na inoculação de plantas de feijoeiro com o agente causal da ferrugem, há um aumento na frequência de infecção, mas o período latente não é alterado (GALVÃO & MENTEN, 1987; TORRE *et alii*, 1987).

Quando os urédios se tornam mais populosos, produzem menos uredósporos por unidade de infecção e unidade de tempo e quanto maior a pústula, mais esporos são produzidos. Porém, não se sabe se urédios menos numerosos e maiores são mais prejudiciais ao hospedeiro do que urédios mais numerosos e menores (BOOKBINDER & BLOOM, 1980; KARDIN & GROTH, 1989). Contudo, é sugerida a existência de um limite superior de reprodução pela ferrugem do feijoeiro, por unidade de área do tecido hospedeiro, independente do tamanho do urédio, ao redor de 800.000 esporos por cm^2 (YARWOOD, 1961; KARDIN & GROTH, 1989).

2.1.2.5. Controle

As medidas de controle recomendadas para a ferrugem do feijoeiro incluem o uso de variedades resistentes, o controle químico e a escolha de épocas de plantio que minimizem a exposição da cultura a longos períodos de orvalho e temperaturas

favoráveis à infecção e ao desenvolvimento da doença (KIMATI, 1980; BIANCHINI *et alii*, 1989; STAVELY, 1991).

A aplicação racional de fungicidas parece ser o meio mais eficiente para garantir a sanidade de uma cultura suscetível. Os produtos mais utilizados e recomendados são: chlorothalonil + oxiclureto de cobre, enxofre, hidróxido de cobre, mancozeb, oxiclureto de cobre, oxiclureto de cobre + mancozeb, óxido cuproso, oxycarboxin, tebuconazole, tiofanato metílico, tiofanato metílico + chlorothalonil, tiofanato metílico + mancozeb, trifenil acetato de estanho, trifenil hidróxido de estanho, triforine (ANDREI, 1993) e difenoconazole (DARIO *et alii*, 1994b), além do inseticida cartap (ITO *et alii*, 1994).

Devido à existência de numerosas raças fisiológicas do fungo (COELHO & CHAVES, 1975; CARRIJO *et alii*, 1980; ZAMBOLIM *et alii*, 1982; YEH, 1983; STAVELY, 1984; MMBAGA & STAVELY, 1988; MORA *et alii*, 1992), a resistência horizontal deveria ser explorada mais intensamente no melhoramento de variedades de feijoeiro (MENTEN, 1980; MENTEN, 1987). O período latente é o melhor parâmetro para quantificar a resistência horizontal das variedades de feijão (AZEVEDO & KUSHALAPPA, 1986a; MENTEN, 1987; PIZA & MENTEN, 1987), porém, DINIZ (1988) considera o diâmetro da pústula e a esporulação como melhores parâmetros de resistência à ferrugem.

No Brasil, as variedades citadas na literatura com algum nível de resistência à ferrugem são: Carioca, Aeté 3, Catu, IAPAR 14, IAPAR 16, Goiano Precoce, IPA-1, Costa Rica, Ricobaio 1014, Turrialba, Bat75, Bat67, Roxo C-743, Jalinho, Pintado Rajado, AG-481, Rico Pardo e IAC-80; e as mais suscetíveis são: Roxinho, Bico de Ouro, Vagem Roxa, Uberaba, Michelite, Caraota e Rosinha G-2 (CARRIJO *et alii*, 1979; ISSA *et alii*, 1980; COSTA & MIRANDA, 1982; AUST *et alii*, 1984; ISSA & OLIVEIRA, 1985; AZEVEDO & KUSHALAPPA, 1986b; DINIZ, 1988; BIANCHINI *et alii*, 1989; CASTRO *et alii*, 1994). Algumas variedades recomendadas pelo Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária para cultivo em diversos Estados, entre elas, Ouro Negro, Carioca 80 SH, IPA 7419, Rico 1735, Carioca 80, Chapecó, Macanudo, Serrano,

Aroana 80, Aysó, Aeté 3, Catu, IPA-6, IPA-9, BR-IPA 10 e Aporé, mostraram-se resistentes à ferrugem (RIOS, 1994).

O monitoramento da temperatura e do número de horas de orvalho em locais e épocas favoráveis à doença é suficiente para a previsão da ocorrência da ferrugem do feijoeiro e serve como instrumento de auxílio ao controle (BACCHI, 1993). Deve-se, então, evitar que condições favoráveis à rápida multiplicação do patógeno coincidam com as fases críticas da planta, que são a pré-floração e a floração (SARTORATO, 1990). A safra das águas está menos sujeita a epidemias que a safra de inverno (BACCHI, 1993). Os cultivos de inverno sob irrigação proporcionam condições de ambiente extremamente favoráveis à ferrugem e constituem-se em áreas adicionais de multiplicação e disseminação de esporos do fungo (RIOS, 1994).

O controle biológico com *Verticillium lecanii* (ALLEN, 1982) e com *Bacillus subtilis* (BAKER *et alii*, 1985; BETTIOL *et alii*, 1992) apresentou bons resultados e precisa ser melhor desenvolvido.

O plantio consorciado do feijoeiro com milho parece atrasar o aparecimento da ferrugem e diminuir a intensidade da doença (MORENO & MORA, 1984).

2.1.3. Mancha angular do feijoeiro

2.1.3.1. Importância

A mancha angular do feijoeiro ocorre em todas as regiões em que se cultiva esta leguminosa (SARTORATO, 1989), afetando com maior ou menor intensidade todas as variedades recomendadas (SARTORATO & RAVA, 1994).

Por muito tempo, a mancha angular do feijoeiro foi considerada uma doença de importância secundária, de ocorrência tardia nas plantações e sem causar grandes danos à produção (BONILLA, 1958; PARADELLA FILHO, 1972; VIEIRA, 1974). Entretanto, nos últimos anos, os danos à produção de muitas lavouras foram a ela

atribuídos, passando a ser considerada uma das principais doenças da cultura do feijoeiro (SARTORATO & RAVA, 1994).

A razão para esta mudança parece ser o plantio de materiais suscetíveis aliado às condições de ambiente favoráveis (SARTORATO, 1989), especialmente nas safras da seca e de inverno irrigado por aspersão (MENEZES, 1994). Os danos à cultura, no Brasil, são atribuídos ao desfolhamento e maturação precoce das plantas e variam de 7 a 70% em função do grau de resistência das variedades, das condições ambientes e da patogenicidade dos isolados (ISSA *et alii*, 1980; MORA BRENES *et alii*, 1983; RAVA *et alii*, 1985; RODRIGUES *et alii*, 1987; SARTORATO & RAVA, 1992; GODOY, 1995).

2.1.3.2. Etiologia

O agente causal da mancha angular do feijoeiro é o fungo deuteromiceto, da ordem Moniliales, *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris, com os sinônimos *Isariopsis griseola* Sacc., *Graphium laxum* Ell., *Isariopsis laxa* (Ell.) Sacc., *Cercospora columnare* Ell. & Ev., *Cercospora sthulmanni* Henn. e *Lindaumyces griseola* Gonz. Frag. (LLANOS, 1957; FERRAZ, 1980).

Este fungo é considerado um parasita facultativo, pois sobrevive de uma estação de cultivo para outra em restos de cultura sobre a superfície do solo (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956; SINDHAN & BOSE, 1979) ou em sementes contaminadas (DIÁZ *et alii*, 1965) na forma de micélio dormente ou conídios. Este fungo também pode ser classificado como hemibiotrófico, uma vez que se alimenta tanto de tecido vivo como de tecido necrosado do hospedeiro (LUTTRELL, 1974).

O fungo, *Phaeoisariopsis griseola*, produz conídios cinzas, retos ou levemente curvados, com 1 a 6 septos (3 septos é mais comum), com 43 a 63 μm x 3-8 μm . Os conídios são produzidos em feixes de 8 a 40 conidióforos pardo escuros, que se constituem em um agrupamento de hifas, mas não unidas umas às outras e que se

separam à medida que envelhecem, indicando que esta estrutura não é um corêmio típico (MILES, 1917; LLANOS, 1957; FERRAZ, 1980).

A liberação dos conídios é favorecida pelo clima seco e a disseminação ocorre pelo vento e água de chuva ou irrigação, principalmente (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956; CAMPOS & ZAK, 1980; KIMATI, 1980; SAETTLER, 1991).

O ciclo de infecção inicia com a germinação dos conídios sobre a superfície foliar e com a penetração do tubo germinativo através dos estômatos. As hifas, então, crescem intercelularmente através das células do mesófilo provocando a desintegração dos cloroplastos e a necrose destas células, três dias após a penetração. A desintegração das células se estende ao parênquima esponjoso, às células paliçádicas e às células da epiderme superior da folha. Nove dias após a penetração, o fungo se desenvolve intracelularmente através dos tecidos necrosados até ser restringido pelos feixes vasculares (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956). Os conídios são, então, sob condições de alta umidade, produzidos na superfície inferior da folha e servirão de inóculo secundário dentro da lavoura (SARTORATO & RAVA, 1994).

2.1.3.3. Círculo de hospedeiros e sintomatologia

Além do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), o fungo causador da mancha angular apresenta os seguintes hospedeiros: *Phaseolus acutifolius* var. *acutifolius*, *P. angularis*, *P. calcaratus*, *P. coccineus*, *P. lunatus*, *P. multiflorus*, *P. vulgaris* silvestre, *Vigna angularis*, *V. mungo*, *V. umbellata* e *V. unguiculata* ssp. *unguiculata* (BROCK, 1951; CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956; DIÁZ *et alii*, 1965; GOLATO & MEOSI, 1972; CAMPOS & ZAK, 1980; SARTORATO & RAVA, 1994).

Os sintomas da mancha angular manifestam-se principalmente nas folhas, podendo ocorrer nas hastes e vagens. As primeiras lesões podem aparecer nas folhas primárias com forma mais ou menos circular, com halos concêntricos e de cor castanho-escuro. O sintoma característico manifesta-se nas folhas trifolioladas como lesões de forma angular

delimitadas pelas nervuras, inicialmente de cor cinzenta e posteriormente castanhas. Entretanto, devido à combinação isolado-hospedeiro, as lesões podem variar de irregulares a circulares (KIMATI, 1980; SARTORATO, 1990; SAETTLER, 1991; MENEZES, 1994; SARTORATO & RAVA, 1994). Quando as lesões atingem por volta de 20-30% da área foliar, elas coalescem causando o amarelecimento, necrose e queda prematura da folha (FERRAZ, 1980; MORA BRENES, 1983; GODOY, 1995).

Nas vagens, as lesões são superficiais, quase circulares, de cor castanho-avermelhada e bordos escuros. Nas hastes, as lesões são alongadas e de cor castanho-escura (KIMATI, 1980; SARTORATO, 1990; SAETTLER, 1991; MENEZES, 1994; SARTORATO & RAVA, 1994).

2.1.3.4. Principais fatores que interferem no desenvolvimento da doença

Os fatores que mais interferem no desenvolvimento da mancha angular do feijoeiro são os fatores ambientais (temperatura, umidade) e fatores do hospedeiro (estádio de desenvolvimento da planta, idade da folha, genótipo).

a) Fatores ambientais

A temperatura ótima para o crescimento de *Phaeoisariopsis griseola* é de 24°C, sendo a mínima de 8°C e a máxima de 30-36°C (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956; SANTOS FILHO *et alii*, 1976b; CAMPOS & ZAK, 1980; SARTORATO & RAVA, 1994). Em meio de cultura, na ausência de luz, a esporulação é ótima ao redor de 24°C e cultivando-se o fungo no escuro (SANTOS FILHO *et alii*, 1976b; SARTORATO & RAVA, 1994). A germinação dos conídios ocorre a partir de 8°C até 32°C com um ótimo entre 20 e 28°C, não sendo observada germinação a 36°C. A infecção ocorre desde 16°C até 28°C, com um desenvolvimento mais rápido a 24°C, não sendo observada a 32°C (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956). O período de

incubação da doença varia com a temperatura, sendo de 5 a 23 dias, sendo o menor à temperatura em torno de 22-28°C (LLANOS, 1957; OLAVE, 1958; CAMPOS & ZAK, 1980; SARTORATO & RAVA, 1994). A severidade da doença, o desfolhamento e a clorose devida à infecção ocorrem mais rapidamente em plantas mantidas a 24-30°C do que a 16°C (SARTORATO & RAVA, 1994).

Aliados a temperaturas moderadas de 24°C, períodos chuvosos ou longos períodos de alta umidade relativa (95 a 100%), alternados por baixa umidade, são os fatores climáticos mais importantes no desenvolvimento das epidemias de mancha angular (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956; DIÁZ *et alii*, 1965). A produção de conidióforos só ocorre na presença de alta umidade relativa (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956; SARTORATO & RAVA, 1994), mas a germinação dos conídios só ocorre com a presença de água livre na superfície da folha (SARTORATO & RAVA, 1994).

A severidade da doença depende do período de câmara úmida em que as plantas são mantidas após a inoculação. Com 3 horas de câmara úmida já ocorre a infecção, mas a severidade da doença aumenta com o aumento deste período de câmara úmida, havendo um máximo em torno de 40 a 56 horas (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956; LLANOS, 1957; CAMPOS & ZAK, 1980). É proposto um tempo de 48 a 72 horas de câmara úmida para testes de variedades com o patógeno (SARTORATO & RAVA, 1994).

O período de incubação pode variar bastante dependendo do tempo de câmara úmida após a inoculação (LLANOS, 1957; CAMPOS & ZAK, 1980) e da umidade relativa em que são mantidas as plantas inoculadas (OLAVE, 1958; SARTORATO & RAVA, 1994).

b) Fatores do hospedeiro

O estágio de desenvolvimento da planta e a idade da folha são fatores importantes que determinam a suscetibilidade expressa pelas variedades à mancha angular

(ALVAREZ-AYALA & SCHWARTZ, 1979; SINDHAN & BOSE, 1980). Plantas com 2 a 3 semanas de idade parecem ser menos suscetíveis que plantas mais velhas (SINDHAN & BOSE, 1980), entretanto, em alguns trabalhos não se observaram diferenças quanto ao grau de infecção em plantas inoculadas em diferentes idades (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956; OLAVE, 1958). Para fins de seleção de material resistente, propõe-se que a inoculação seja feita quando a planta tiver de 14 a 16 dias de idade ou quando apresentar a segunda ou terceira folha trifoliolada (LLANOS, 1957; SANTOS FILHO *et alii*, 1976a; ALVAREZ-AYALA & SCHWARTZ, 1979; CAMPOS & ZAK, 1980; SARTORATO, 1989; SARTORATO & RAVA, 1994). Os parâmetros período de incubação, período latente, frequência de infecção e severidade para a mancha angular do feijoeiro variam de acordo com o genótipo do hospedeiro e patogenicidade do isolado de *Phaeoisariopsis griseola* (SARTORATO, 1989; SARTORATO & RAVA, 1992).

2.1.3.5. Controle

As medidas de controle recomendadas para a mancha angular do feijoeiro incluem a rotação de culturas, o tratamento de sementes, o uso de variedades resistentes, pulverizações com fungicidas e escolha de épocas de plantio que minimizem a exposição da cultura a longos períodos de umidade e temperatura favoráveis à infecção e ao desenvolvimento da doença (FERRAZ, 1980; KIMATI, 1980; BIANCHINI *et alii*, 1989; SARTORATO, 1990; SAETTLER, 1991; MENEZES, 1994; SARTORATO & RAVA, 1994).

A rotação de culturas por um período de dois anos e a eliminação dos restos de cultura são recomendadas, uma vez que o patógeno sobrevive nos restos de cultura, sobre a superfície do solo (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956; DIÁZ *et alii*, 1965; SINDHAN & BOSE, 1979; FERRAZ, 1980; MENEZES, 1994).

Apesar da taxa de transmissão do patógeno através da semente ser relativamente baixa, recomenda-se o seu tratamento químico para evitar a introdução de novos patótipos em áreas nas quais os mesmos não existam (MENEZES, 1994; SARTORATO & RAVA, 1994). O produto recomendado para o tratamento de sementes é o benomyl (ANDREI, 1993).

O uso de variedades resistentes pode proporcionar uma proteção adicional dentro de um sistema de manejo integrado da doença. Contudo, genótipos resistentes num local podem se comportar como suscetíveis em outro devido à variabilidade patogênica que o fungo apresenta (SARTORATO, 1989; SARTORATO & RAVA, 1994). Desta forma, o emprego apenas da resistência vertical tem-se mostrado insuficiente no controle desta doença e deve-se, então, buscar fontes de resistência mais estáveis. Ensaio de campo realizados pelo Centro Nacional de Pesquisas do Arroz e Feijão da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CNPAP-EMBRAPA) em Goiás, indicaram as variedades Aporé, Bagajó, Costa Rica, FT-120, FT-Tarumã, Favita, Gordo, IAPAR 31, IAPAR 44, IPA 1, IPA 6, Iraí, Jalo, Jalo EEP 558, Mineiro Precoce, Ouro Negro, Pampa, Rico 1735, Rio Negro, Rim de Porco e Varre-Sai como resistentes e moderadamente resistentes à mancha angular (SARTORATO & RAVA, 1994). Ensaio do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) em São Paulo, consideraram as variedades Bolinha, Cavalo de Aço, IPA 6, Jalinho, Moura Rosa, Pintado Rajado, Pintado Rajado Pitoco, Pirapora e Vermelho Amendoim como resistentes (CASTRO *et alii*, 1993). As variedades Carioca SH e Rosinha são consideradas bastante suscetíveis à mancha angular (SARTORATO *et alii*, 1991; OLIVEIRA *et alii*, 1994a).

O controle químico curativo com os produtos registrados para a cultura não tem sido eficiente nas condições da safra de inverno irrigada por pivô central devido ao longo período de incubação do fungo (MENEZES, 1994). O controle, então, deve ser preventivo com duas a três aplicações dependendo do histórico da área. Realiza-se as aplicações aos 30-35 dias e aos 45-50 dias quando duas, ou aos 30, 45 e 60 dias se três (SARTORATO & RAVA, 1994). Os princípios ativos com melhores resultados e

recomendados no controle da mancha angular são: chlorothalonil, hidróxido de cobre, mancozeb, oxiclureto de cobre, oxiclureto de cobre + mancozeb, óxido cuproso, tiofanato metílico, tiofanato metílico + chlorothalonil (ANDREI, 1993), difenoconazole (DARIO *et alii*, 1994a), trifetil hidróxido e chlorothalonil + trifetil hidróxido (BARROS & CASTRO, 1994; VIEIRA *et alii*, 1994).

Em locais e épocas em que a temperatura é relativamente baixa, menores intensidades de mancha angular são observadas nas lavouras de feijão, sendo a escolha do local e época de plantio uma importante medida de controle desta doença (SARTORATO & RAVA, 1994).

2.1.4. Mosaico-em-desenho do feijoeiro

2.1.4.1. Importância

No Brasil, o mosaico-em-desenho do feijoeiro foi relatado pela primeira vez afetando lavouras de feijoeiro na região de Campinas, SP (CAMARGO *et alii*, 1969). Posteriormente, foi detectado no Distrito Federal (KITAJIMA *et alii*, 1980; CUPERTINO *et alii*, 1982) e nos Estados do Paraná (BIANCHINI, *et alii*, 1985), Minas Gerais e Goiás (ANJOS *et alii*, 1986).

Incidências acima de 50% foram constatadas em algumas lavouras do norte, nordeste e sudeste do Paraná (BIANCHINI *et alii*, 1989). Em levantamento feito no Distrito Federal e nos Estados de Goiás e Minas Gerais, no período de 1992 a 1994, 20 a 25% das lavouras apresentavam o mosaico-em-desenho do feijoeiro, indicando que esta virose está bem disseminada nos Cerrados, porém a porcentagem de plantas infectadas manteve-se baixa na maioria das lavouras (ANJOS *et alii*, 1994).

Devido ao cultivo do feijoeiro em duas safras consecutivas na região dos Cerrados, à transmissão eficiente do vírus de plantas infectadas para plantas sadias pelos insetos vetores e à existência de plantas hospedeiras, ocorre a continuidade do mosaico-em-

desenho do feijoeiro de uma safra para outra podendo, desta forma, levar a um aumento da incidência desta doença na cultura do feijoeiro (ANJOS *et alii*, 1994).

O vírus do mosaico-em-desenho reduziu o rendimento na produção de grãos das variedades Jalo, Mulatinho Paulista, Costa Rica (SPERANDIO, 1982), Rosinha G-2, Capixaba Precoce, Carioca e Safira (ANJOS *et alii*, 1994) em 29-59%, 10-27%, 10-27%, 48%, 11-53,9%, 20-56,7% e 3,6-11,2%, respectivamente. O número de vagens por planta também foi significativamente reduzido. Maiores reduções no rendimento são obtidas quanto mais cedo ocorre a infecção das plantas, e quando ocorrem infecções simultâneas de outras viroses (ANJOS *et alii*, 1994; BIANCHINI & BERGAMIN FILHO, 1994; MARTINS *et alii*, 1994).

2.1.4.2. Etiologia

O agente causal desta enfermidade é o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro (VMDeF). Baseando-se no agrupamento dos Comovírus em cinco serogrupos (FULTON & SCOTT, 1979), LIN *et alii* (1981) propuseram a inclusão do VMDeF no serogrupo do vírus do mosaico rugoso do feijoeiro, considerando-o como uma estirpe deste vírus.

O VMDeF é uma partícula isométrica de 25 a 30 nm de diâmetro e ocorre em concentração relativamente alta, sendo capaz de induzir inclusões citoplasmáticas cristalinas nas células do tecido foliar infectado do feijoeiro (CAMARGO *et alii*, 1969; CAMARGO *et alii*, 1976). Estas inclusões podem ser visíveis ao microscópio óptico em pedaços destacados da epiderme de folhas infectadas, permitindo a identificação e separação do VMDeF de outros vírus que causam sintomas de mosaico semelhantes (BULISINI, 1987).

As propriedades físicas observadas para o VMDeF são: ponto de inativação térmica entre 55-60°C; longevidade *in vitro* de até dois dias quando armazenado a 22-

26°C e 2-3 semanas a 6-8°C; e máxima diluição infectiva entre 10^{-3} a 10^{-4} (SPERANDIO, 1982).

O VMDeF é transmitido pelos besouros *Cerotoma arcuata* e *Diabrotica speciosa*, sendo o primeiro mais eficiente. Para *Cerotoma arcuata*, o período mínimo de aquisição é de três horas, o período de alimentação para a inoculação mais eficiente (70%) é de 12 horas, e 3 a 6 horas de jejum após a aquisição aumenta a taxa de transmissão. A relação vírus-vetor é do tipo persistente, sendo a infectividade mantida até 6-8 dias após a aquisição em plantas infectadas (SPERANDIO, 1982; SPERANDIO & COSTA, 1982). O vírus não é transmitido pela semente de feijão (SPERANDIO, 1982; SPERANDIO & COSTA, 1982; CUPERTINO *et alii*, 1991; ANJOS *et alii*, 1994), mas é facilmente transmitido por inoculação mecânica com o uso de abrasivos, podendo ocorrer alguma transmissão ocasional entre plantas vizinhas como resultado de atrito pelo vento ou danos mecânicos de máquinas e outros instrumentos (BULISINI, 1987).

2.1.4.3. Círculo de hospedeiros e sintomatologia

O círculo de hospedeiros do VMDeF é restrito às famílias Chenopodiaceae e Leguminosae (SPERANDIO, 1982; CUPERTINO *et alii*, 1991). Em *Chenopodium quinoa*, formam-se manchas cloróticas locais após 7 dias da inoculação que, posteriormente, tornam-se sistêmicas. Nas variedades de *Pisum sativum* Rag, Mikado e Triophin, ocorrem sintomas de mosaico após 15 dias da inoculação seguidos de queima do broto (SPERANDIO, 1982). Em *Glycine max*, os sintomas variam com as variedades. As variedades Americana, Doko, EMGOPA 301, EMGOPA 302, Eureka, FT-11, Siriema, Savana, IAC-11, Paraná, Santa Rosa, UFV-1, UFV-5 e Cristalina (CUPERTINO *et alii*, 1991) mostram sintomas de lesões locais cloróticas que se tornam necróticas, evoluindo para mosaico, bolhas nas folhas e encrespamento foliar com redução no porte da planta, enquanto as variedades Júpiter (SPERANDIO, 1982), CAC-1 e Estrela (ANJOS *et alii*, 1994) mostram mosqueado e redução do porte da planta.

O VMDeF infecta sistemicamente a maioria das variedades de feijão recomendadas para o cultivo no Brasil, mas há uma grande variação nos sintomas devido às variedades (SPERANDIO, 1982; ANJOS *et alii*, 1994).

O sintoma de mosaico sistêmico é predominante na maioria das variedades, podendo apresentar bolhas, deformação foliar e tipicamente formar um desenho na lâmina foliar. Apresentando estes sintomas incluem-se, entre outras, as variedades IPA-1, IPA-7419, Jalinho, Jalinho Comercial, Michelite e Rosinha G-2. O sintoma de manchas cloróticas locais e, posteriormente, mosaico sistêmico aparecem, entre outras, nas variedades Aeté, Aysó, Carioca 80, Costa Rica, Catú, Goiano Precoce, Jalo e Manteiga. Lesões necróticas locais e/ou necrose de nervuras ocorrem, entre outras, nas variedades Carioca, Rio Tibagi, Preto 153 e Venezuela. A queima do topo ocorre, entre outras, nas variedades Ricobaio 1014 e Rico 23.

Além dos sintomas foliares, ocorrem mosqueado das vagens, redução de tamanho e deformação da planta (ANJOS *et alii*, 1994).

2.1.4.4. Principais fatores que interferem no desenvolvimento da doença

Poucos são os estudos sobre os fatores que interferem no desenvolvimento do mosaico-em-desenho do feijoeiro. Fatores do hospedeiro (genótipo e idade da planta na época de inoculação) e o sinergismo com outros vírus parecem contribuir para a maior ou menor severidade da doença.

O genótipo interfere no tipo de sintoma e no grau de resistência das plantas. As variedades IAPAR 31, IAPAR 14, Goiano Precoce e Carnaval apresentaram menor grau de severidade (DALLA PRIA *et alii*, 1994) e as variedades Sanilac e Tubarão não apresentaram sintomas à inoculação com o VMDeF (ANJOS *et alii*, 1994).

Quanto à idade em que a planta é infectada, vários trabalhos mostram que quanto mais cedo ocorrer a infecção pelo VMDeF, maiores são os danos causados à produção

(SPERANDIO, 1982; ANJOS *et alii*, 1994; BIANCHINI & BERGAMIN FILHO, 1994; MARTINS *et alii*, 1994).

O efeito sinérgico do VMDeF foi observado com o vírus do mosaico do sul do feijoeiro (CUPERTINO *et alii*, 1982), com o vírus do mosaico dourado do feijoeiro (BIANCHINI & BERGAMIN FILHO, 1994) e com o vírus do mosaico comum da soja (MARTINS *et alii*, 1994).

2.1.4.5. Controle

Por enquanto, o VMDeF tem causado pequeno impacto na produção de feijão em nível de lavoura, e portanto, nenhuma medida especial de controle tem sido recomendada. Entretanto, devido à severidade das reações do feijoeiro ao VMDeF e à existência constante de insetos vetores, este vírus poderá ser, no futuro, um sério problema para a cultura do feijoeiro (ANJOS *et alii*, 1994).

Parece razoável, entretanto, que evitando o plantio da cultura do feijoeiro nas proximidades de culturas mais velhas e de plantas hospedeiras; o controle químico dos insetos vetores como insetos-praga; e a incorporação de fatores que confirmam resistência ao VMDeF em variedades que estão sendo melhoradas, consiga-se manter a incidência desta doença abaixo dos níveis de dano à cultura.

2.2. Interação entre patógenos

2.2.1. Importância da interação entre patógenos

As culturas em países tropicais são normalmente atacadas por um amplo espectro de patógenos, sendo comum a ocorrência de ataques múltiplos, ou seja, dois ou mais patógenos atuando simultaneamente sobre o mesmo hospedeiro. Estes patógenos podem

interagir entre si e/ou com a cultura hospedeira (LATCH & POTTER, 1977; WALLER & BRIDGE, 1984; ZADOKS, 1985; LUZ, 1991).

Os efeitos isolados de patógenos sobre a cultura são amplamente estudados, e pouca atenção tem sido dada aos efeitos combinados das populações de patógenos em dados epidemiológicos (WALLER & BRIDGE, 1984; CAMPBELL & MADDEN, 1990). Para quantificação e modelagem, os pesquisadores freqüentemente ignoram as outras doenças além daquela com que se preocupam (MADDEN & CAMPBELL, 1990). Isto pode não ser um problema se apenas uma doença ocorrer em alta intensidade e as demais permanecerem em níveis bem baixos. Entretanto, se houver um aumento considerável em mais de uma doença, analisar ou modelar apenas uma delas pode levar a sérios erros, pois o aumento de uma doença pode influenciar o aumento da outra e uma teoria geral da progressão da doença deveria levar em conta o efeito da doença *j* na doença *i* e vice-versa (CAMPBELL & MADDEN, 1990; MADDEN & CAMPBELL, 1990).

A maneira pela qual os patógenos interagem para infectar e causar danos nas culturas tem implicações importantes na avaliação de danos nas culturas, no diagnóstico das causas destes danos e no desenvolvimento de medidas de controle adequadas (WALLER & BRIDGE, 1984).

A teoria do limiar de dano tende a considerar as doenças como se elas nunca ocorressem simultaneamente, ainda que os custos de controle de duas doenças diminuam quando ambas são controladas na mesma pulverização pelo uso de defensivos de amplo espectro ou “misturas-de-tanque”. Quando se tem doenças concorrentes, os limiares de danos das doenças separadas não são independentes uns dos outros, e desta forma, a decisão de controle não pode ser feita por uma simples adição (ZADOKS, 1985). Para a tomada de decisão, neste caso, deve-se estudar o efeito das doenças sobre a produção da cultura separada e conjuntamente e desta forma estabelecer programas de manejo integrado. A busca desta visão holística, isto é, do efeito de patossistemas múltiplos

sobre a produção de determinadas culturas já vem sendo feita por alguns pesquisadores (ZADOKS, 1981; SAVARY & ZADOKS, 1992).

Outro aspecto importante da interação entre patógenos é que a suscetibilidade de uma planta a um determinado patógeno, muitas vezes, pode ser alterada se a planta já foi invadida por outro patógeno previamente. O aumento da resistência de uma planta a um determinado patógeno quando esta foi previamente infectada por outro, pode ocorrer. Este fenômeno, também conhecido por resistência induzida, indução de proteção ou imunidade adquirida, envolve a ativação de mecanismos latentes de resistência na planta através de tratamentos com agentes bióticos ou abióticos. A proteção induzida é dependente do intervalo de tempo entre o tratamento inicial e a subsequente inoculação do patógeno, indicando que mudanças específicas no metabolismo da planta, envolvendo a síntese e/ou acúmulo de substâncias, são importantes para a resistência induzida (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

Por outro lado, pode haver um aumento da patogenicidade ou quebra de resistência da planta a certos patógenos quando da ação anterior de outro patógeno sobre a planta hospedeira (WALLER & BRIDGE, 1984).

A interação que ocorre entre fungos foliares e viroses pode confundir a detecção e a avaliação da resistência do hospedeiro às doenças (WALLER & BRIDGE, 1984). O conhecimento das interações entre os patógenos é de grande utilidade quando busca-se a avaliação para resistência múltipla a diversos patógenos, permitindo o uso de inoculações múltiplas e conclusões corretas sobre a resistência do hospedeiro (FARIA & HAGEDORN, 1986; FARIA, 1988; ZAITER *et alii*, 1990).

2.2.2. Tipos de interações entre patógenos

As interações entre patógenos são classificadas de acordo com os efeitos que elas produzem sobre os próprios patógenos e sobre o hospedeiro comum.

Vários são os tipos de interações entre espécies, podendo haver ausência de interação (neutralismo), relações em que uma ou ambas as espécies são favorecidas sem prejuízo de nenhuma (comensalismo, protocooperação e mutualismo) e relações antagônicas em que pelo menos uma das espécies envolvidas será prejudicada (competição, amensalismo, parasitismo, predação e herbivoria) (ODUM, 1971).

Quanto aos danos causados ao hospedeiro pela múltipla infecção por diferentes patógenos, estes podem ser maiores, menores ou iguais à soma dos danos atribuídos a cada patógeno separadamente (TARR, 1972; WALLER & BRIDGE, 1984; LUZ, 1991).

O efeito é aditivo quando o dano causado por um patógeno não altera o dano causado pelo outro, não havendo, portanto, interação. Contudo, a simples competição pelo tecido do hospedeiro pode causar a inibição do desenvolvimento de um ou outro patógeno.

Quando o efeito combinado de dois organismos atuando juntos é maior que a soma dos efeitos isolados existe uma interação positiva. Os patógenos podem agir sinergisticamente, aumentando a patogenicidade, para produzir um efeito de interação positiva de dano. Entretanto, a maioria das interações positivas parecem resultar da diminuição da resistência do hospedeiro (predisposição), permitindo uma sucessão patológica, isto é, favorecendo a infecção pelo patógeno secundário após a infecção pelo patógeno primário.

Quando o efeito combinado de dois organismos atuando juntos é menor que a soma dos efeitos isolados existe uma interação negativa. Esta interação pode ser resultado da ação antagonística direta entre os patógenos, mas na maioria dos casos é resultado de uma alteração fisiológica do hospedeiro pelo estímulo dos seus mecanismos de defesa quando pré-inoculado com um organismo (proteção cruzada, premunização, indução de resistência).

2.2.3. Interações entre vírus e fungos foliares

A infecção por vírus pode aumentar ou diminuir a suscetibilidade do hospedeiro a fungos patogênicos. Vários exemplos são citados na literatura.

Plantas de batata com o vírus do enrolamento da folha da batata (PLRV) foram mais suscetíveis ao fungo *Phytophthora infestans* (RICHARDSON & DOLING, 1957), o mesmo ocorrendo em plantas com o vírus Y da batata (PYV) à infecção por *Alternaria solani* (HOOKER & FRONEK, 1960).

Plantas de beterraba infectadas com o vírus do amarelecimento da beterraba (SBYV) apresentaram um significativo aumento no número de lesões de *Cercospora beticola* em relação às plantas livres do vírus (CRANE & CALPOUZOS, 1969).

Plantas de milho e sorgo infectadas com o vírus do mosaico-anão do milho (MDMV) foram mais suscetíveis à infecção por *Helminthosporium maydis* raça T que as plantas livres de vírus, apresentando lesões maiores, de crescimento mais rápido, menor período latente e maior taxa de esporulação (BENIWAL & GUDAUSKAS, 1974).

A infecção de plantas de milho pelo vírus do estriado do milho (MSV) não protegeu o milho contra a infecção dos fungos *Peronosclerospora philippinensis* e *P. sorghi*, e os danos à produção foram bem maiores quando da presença simultânea dos patógenos (DAMSTEEGT *et alii*, 1993).

As áreas das folhas de feijoeiro Jalo infectadas com o mosaico angular do feijoeiro mostraram-se mais suscetíveis ao oídio (*Erysiphe polygoni*) (COSTA *et alii*, 1982).

Folhas de trigo infectadas com o vírus do mosaico estriado do trigo (WSMV) apresentaram um número maior de pústulas de *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, mas este sinergismo ficou restrito a três cultivares e a redução na produção foi semelhante ao ataque do vírus isolado. Porém, o desenvolvimento da ferrugem da folha do trigo foi semelhante em plantas com e sem o "bromegrass mosaic virus" (RAJU *et alii*, 1969).

Em aveia e cevada, o rendimento de grãos foi significativamente reduzido pelo fungo *Erysiphe graminis* e pelo vírus do nanismo amarelo da cevada (BYDV), mas não houve uma perda adicional pela presença dos dois patógenos (POTTER, 1980).

Estudos da interação entre o vírus do nanismo amarelo da cevada (BYDV) e as ferrugens *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, *Puccinia hordei* e *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* mostraram uma redução na densidade de pústulas nas plantas infectadas com o vírus (POTTER, 1982).

A densidade de pústulas de *Uromyces viciae-fabae* foi reduzida em plantas de *Vicia faba* infectadas com o vírus do mosaico amarelo do feijoeiro (BYMV) (OMAR *et alii*, 1986).

A infecção primária de feijoeiro pelo vírus do mosaico comum do feijoeiro (BCMV) não alterou o nível de infecção da ferrugem e os danos de produção ficaram restritos ao vírus (COSTA, 1985). Entretanto, em outro trabalho, a infecção pelo BCMV diminuiu a suscetibilidade do feijoeiro à infecção subsequente pelo fungo *Uromyces appendiculatus*, causador da ferrugem, evidenciada pela diminuição do tamanho das pústulas, mas não alterou a ordem dos cultivares, de resistente a suscetível (ZAITER *et alii*, 1990).

Em estudos sobre a avaliação de resistência de variedades de feijoeiro ao vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro observaram-se que as plantas não inoculadas com o VMDeF apresentaram uma maior severidade de ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) que ocorreu espontaneamente no campo (DALLA PRIA *et alii*, 1994).

2.2.4. Avaliação da interação de doenças

Para o entendimento dos fenômenos que ocorrem em nível de população, muitas vezes, é necessário que se realizem estudos em nível de indivíduo, no caso, o patógeno e o hospedeiro (ZADOKS & SCHEIN, 1980). A compreensão dos fenômenos que ocorrem nas interações entre doenças, também requer estudos em nível de indivíduo.

Em termos epidemiológicos, a interação entre patógenos pode ser quantificada através dos parâmetros monocíclicos de cada sistema, quando em ação isolada ou conjunta sobre o hospedeiro. A resposta do hospedeiro à ação conjunta de patógenos, por sua vez, pode ser medida pelos efeitos na fisiologia e na produção. Os patógenos podem provocar inúmeras alterações no hospedeiro, tanto fisiológicas como morfológicas, que podem levar à uma redução na produção. As alterações causadas por fungos foliares na respiração e na fotossíntese, principalmente, parecem ter uma influência direta com a produção da planta. Pode-se dizer, em termos gerais, que a taxa de respiração aumenta em um tecido doente e a taxa de fotossíntese tende a diminuir.

2.2.4.1. Avaliação de parâmetros monocíclicos

Os parâmetros monocíclicos são quantificados durante um único ciclo do patógeno sobre o seu hospedeiro e os principais parâmetros são (PARLEVLIET, 1979):

-Período de incubação: é o período de tempo compreendido entre a inoculação e o aparecimento dos primeiros sintomas;

-Período latente: é o período de tempo entre a inoculação e a produção de esporos;

-Frequência de infecção: é o número de lesões produzidas por unidade de área, a partir de uma concentração conhecida de inóculo;

-Esporulação: é o número de esporos produzidos por unidade de área de tecido afetado e/ou por unidade de tempo;

-Período infeccioso: é o tempo em que a lesão produz esporos novos para novas infecções;

-Tamanho das lesões e taxa de crescimento das lesões: correspondem à área final e à velocidade de incremento na área lesionada, respectivamente.

Os principais componentes da resistência que afetam a taxa de reprodução do patógeno são a redução da frequência de infecção, o aumento do período latente e a diminuição da produção de esporos. Quanto menor o período latente e maior a

frequência de infecção, maior será o número de ciclos do patógeno sobre seu hospedeiro e conseqüentemente, maior será a severidade final da doença.

Determinando-se o efeito do ambiente e de outros patógenos sobre os parâmetros monocíclicos de uma determinada doença, pode-se inferir sobre o desenvolvimento de epidemias.

O ambiente pode influenciar não apenas o hospedeiro ou o patógeno diretamente, como também a interação entre eles, e conseqüentemente o desenvolvimento da doença. Os efeitos da temperatura sobre a doença, por exemplo, agem na infecção, na duração do período latente e na produção de esporos (COLHOUN, 1973).

As câmaras de crescimento de plantas, com ambiente controlado, permitem o estudo mais adequado e exato do efeito de um determinado fator ambiental sobre a doença (KRANZ & HAU, 1980). Experimentos em condições controladas indicam o que pode acontecer, mas não necessariamente o que acontece no campo (ROTEM, 1988), entretanto, são poderosos guias nos estudos epidemiológicos.

2.2.4.2. Avaliação da respiração de plantas

A respiração no escuro (“dark respiration”) é o principal sistema gerador de energia para o crescimento das plantas. O termo respiração refere-se a uma série complexa de reações químicas pelas quais os organismos vivos obtêm energia através da oxidação de carboidratos, como amido e açúcares, em compostos mais simples (SMEDEGAARD-PETERSEN, 1984).

A respiração de um organismo infectado aumenta porque os tecidos doentes passam a utilizar suas reservas de carboidratos, ou seja, a planta aumenta a atividade metabólica e muita energia faz-se necessária para suprir a demanda. Em geral, o aumento do nível de respiração dá-se logo após o início da infecção e permanece elevado até a fase de multiplicação do patógeno, chegando a níveis normais, ou abaixo dos observados, nos tecidos saudáveis. O aumento da respiração está ligado ao metabolismo

geral da célula, especialmente ao metabolismo de carboidratos para a produção de energia (LEITE & PASCHOLATI, 1995).

O aumento da respiração em tecidos doentes pode ser devido à combinação de um ou mais mecanismos relacionados a seguir (HUTCHESON & BUCHANAN, 1983):

-Mecanismos de proteção e regeneração em tecidos injuriados por um patógeno, como a deposição de lignina e suberina;

-Desacoplamento do transporte mitocondrial de elétrons da síntese de ATP por ação de toxinas produzidas pelo patógeno;

-Aumento do consumo de ATP, NADPH e outros compostos ricos em energia através do aumento generalizado da atividade biossintética;

-Aumento dos níveis de atividade de enzimas envolvidas na degradação de carboidratos;

-Perda da compartimentalização de enzimas e metabólitos-chaves, devido ao aumento da permeabilidade da membrana por ação de toxinas;

-Aumento dos níveis de alguns substratos, como amido e açúcares solúveis, que se acumulam, resultando em bloqueio de translocação;

-Aumento na atividade de oxidases envolvidas na biossíntese de compostos secundários, como fenilpropanóides, flavonóides, isoflavonóides, cumarinas, etc.

2.2.4.3. Avaliação da fotossíntese

A fotossíntese é o processo através do qual a energia luminosa é transformada em açúcares que são facilmente utilizados pela respiração. Todo o processo resume-se na oxidação da água (retirada de elétrons com liberação de oxigênio) e na redução do dióxido de carbono para formar compostos orgânicos, como carboidratos (SALISBURY & ROSS, 1992).

Geralmente, a atividade fotossintética aumenta imediatamente após o início da interação com o patógeno, por um período bastante curto, seguido, invariavelmente, pela diminuição da taxa de fotossíntese líquida ou bruta (LEITE & PASCHOLATI, 1995).

Muitos mecanismos têm sido propostos para explicar a redução na taxa de fotossíntese em folhas infectadas por patógenos (SCHOLES, 1992):

- Alteração na difusão de CO₂ para dentro e dentro da folha;
- Aumento na respiração do hospedeiro e/ou patógeno, reduzindo a taxa de fotossíntese líquida;
- Alteração da relação de solutos entre as células do hospedeiro;
- Inibição direta do transporte de elétrons pela produção de toxinas ou pela destruição seletiva de componentes da cadeia de transporte de elétrons;
- Redução na quantidade e/ou atividade das enzimas do ciclo de Calvin, como Rubisco, NADP-GADPH, frutose-1,6-bifosfatase, 3-fosfoglicerato quinase;
- Retroação negativa da fotossíntese pelo acúmulo de carboidratos pelo patógeno;
- Seqüestro pelo patógeno do fosfato inorgânico do citoplasma do hospedeiro.

Além disso, os patógenos foliares podem reduzir a taxa de fotossíntese devido ao surgimento de áreas cloróticas a necrosadas, onde ocorre a redução ou destruição de moléculas de clorofila responsáveis pela captura da energia luminosa pela planta (LEITE & PASCHOLATI, 1995).

Alguns parâmetros têm sido usados para avaliar a eficiência fotossintética direta ou indiretamente, como: conteúdo total de clorofila, taxa de assimilação de CO₂ e fluorescência da clorofila *a*.

a) Conteúdo total de clorofila

Nas células fotossintetizantes eucarióticas, tanto as reações independentes de luz, ou escuras, quanto as reações dependentes de luz, ou luminosas, da fotossíntese se realizam nos cloroplastos. Os cloroplastos são organelas envoltas por uma membrana externa contínua muito frágil e com um sistema de membranas internas (membrana

tilacóide), nas quais estão muitos sacos ou vesículas (grana). As membranas tilacóides contêm todos os pigmentos fotossintetizantes do cloroplasto e todas as enzimas necessárias para as reações dependentes primariamente de luz (LEHNINGER, 1991).

Os pigmentos presentes nas membranas tilacóides são basicamente as clorofilas *a* e *b*, carotenos e xantofilas. Os pigmentos são arranjados em conjuntos ou aglomerados funcionais, denominados de fotossistemas (PSI e PSII), e podem absorver luz em todo o espectro visível, especialmente entre 400 e 500 nm e entre 600 e 700 nm. Estes pigmentos são responsáveis pela absorção da energia luminosa (moléculas antenas ou captadoras de luz) e pelo transporte desta energia até os centros de reação fotoquímica, onde esta energia luminosa é convertida em energia química (LEHNINGER, 1991).

A quantificação do conteúdo de clorofila total na folha pode dar uma idéia da atividade fotossintética da folha. A destruição dos cloroplastos, e conseqüente destruição das moléculas de clorofila pela ação de patógenos, é apontada como um dos fatores que levam à diminuição da taxa de fotossíntese em tecidos de plantas doentes.

b) Assimilação de CO₂

No processo da fotossíntese, o CO₂ é reduzido para formar compostos orgânicos, como os carboidratos. A avaliação da assimilação de CO₂ pela folha fornece uma medida direta da taxa líquida de fotossíntese. Quanto maior a assimilação de CO₂ pela folha, maior sua atividade fotossintética. Qualquer mudança na atividade fotossintética da folha será refletida na assimilação de CO₂ pela folha (LONG & HÄLLGREN, 1993).

A maioria dos estudos de troca de CO₂ tem envolvido métodos em que as folhas ficam confinadas em câmaras transparentes e a taxa de assimilação de CO₂ é determinada pela medição da mudança da concentração de CO₂ no ar que atravessa a câmara. Nos sistemas usados, o ar passa dentro de um analisador de gás infra-vermelho (IRGA) que continuamente registra a concentração de CO₂ no sistema, verificando a diferença entre o ar que atravessa a câmara com a folha e o ar que entra na câmara (LONG & HÄLLGREN, 1993).

c) Fluorescência da clorofila *a*

No aparato fotossintético, a luz é absorvida pelas moléculas antena e a energia de excitação destas moléculas é transferida ao centro de reação dos fotossistemas onde ocorrem as primeiras reações fotoquímicas. Entretanto, porções da luz absorvida são sempre perdidas como calor ou por reemissão como fluorescência. Como os processos de de-excitação das moléculas de clorofila são competitivos, mudanças na taxa fotossintética e/ou na emissão de calor dissipado irão causar mudanças complementares na intensidade da fluorescência emitida (KRAUSE & WEIS, 1991; BOLHÀR-NORDENKAMPF & ÖQUIST, 1993).

Sob condições de baixa luminosidade, aproximadamente 97% dos fótons ou quanta absorvidos são usados nas reações fotoquímicas, 2,5% são transformados em calor e 0,5% são reemitidos como luz vermelha fluorescente. Nesta situação, diz-se que todos os centros de reação estão abertos (oxidados) e a produção de fluorescência é mínima (F_0). Se todos os centros de reação estão fechados (reduzidos), 95-97% da energia absorvida pode ser eliminada via calor e 2,5-5,0% via fluorescência. Diz-se que, neste caso, a emissão de fluorescência é máxima (F_m) (BOLHÀR-NORDENKAMPF & ÖQUIST, 1993). À temperatura ambiente, a maioria da fluorescência é emitida das moléculas de clorofila *a* associadas com o fotossistema II (PSII) (KRAUSE & WEIS, 1991).

A produção de fluorescência *in vivo* é diminuída por fundamentalmente dois mecanismos diferentes denominados mecanismos de “quenching”. Comumente a extensão do “quenching” é expressa por coeficientes de “quenching” que indicam a proporção diminuída da fluorescência máxima, variando o valor do “quenching” de 0 a 1 (KRAUSE & WEIS, 1991).

O primeiro tipo de “quenching” ocorre devido à competição com as reações fotoquímicas, chamado de “quenching” fotoquímico ou qP. Para que ocorram as reações fotoquímicas, o primeiro acceptor de elétrons estável do PSII, a plastoquinona A (Q_A),

deve estar no estado oxidado. O q_P denota a proporção de “excitons” capturados e que são convertidos em energia química nos centros de reação do PSII. A re-oxidação da Q_A causa, então, a diminuição na produção de fluorescência, pois neste estado, a Q_A receberá os elétrons e diminuirá a quantidade de energia que será reemitida como fluorescência (KRAUSE & WEIS, 1991).

O segundo tipo de “quenching” é relacionado com a energização da membrana tilacóide e seus processos associados, e é denominado de “quenching” não-fotoquímico ou q_{NP} . A maior parte do q_{NP} é ligado à formação do gradiente transtilacóide de ΔpH e à acidificação do lúmen da tilacóide que ocorre na luz, e é chamado de “quenching” dependente de energia ou q_E . Outro importante componente do q_{NP} é o “quenching” fotoinibitório ou q_I relacionado com a fotoinibição da fotossíntese (KRAUSE & WEIS, 1991).

As medições de fluorescência são freqüentemente feitas após um período de adaptação no escuro. Quando as folhas escuro-adaptadas são iluminadas, a assimilação de CO_2 tem que ser ativada e inicia lentamente um período de indução que vai acelerando até uma taxa estável. Desta forma, no estágio inicial da indução da fotossíntese, a eficiência do PSII é muito baixa. Quando uma irradiação contínua é aplicada, a produção de fluorescência cresce rapidamente até um pico e diminui lentamente devido ao “quenching” da fluorescência pelos processos associados com a fotossíntese (FOYER, 1993)

A curva de indução da fluorescência, ou curva de Kautsky, apresenta diferentes fases que são denominadas O, I, D, P, S, M e T. O aumento da produção de fluorescência, após a iluminação das folhas com luz actínica, é bifásico, indo de F_0 (O) para um nível intermediário (I), (D) e, então, até o pico (P). De P, a produção de fluorescência cai num nível quase estacionário (S) até um nível máximo secundário (M) e, depois, até o nível terminal (T). A transição I-D-P-S, ou fase rápida, tem sido útil no estudo da regulação do transporte de elétrons, sendo associada aos processos primários do PSII. A diminuição subsequente na produção de fluorescência, ou fase lenta, está

relacionada com as interações entre os processos na membrana tilacóide e os processos metabólicos no estroma, isto é, o transporte de elétrons e o metabolismo primário do carbono, refletidas pelos componentes de “quenching”, q_P e q_{NP} (BOLHÀR-NORDENKAMPF & ÖQUIST, 1993; FOYER, 1993).

A eficiência quântica do transporte de elétrons do PSII é determinada pela eficiência com que um quantum absorvido pode alcançar um centro de reação e a proporção de centros de reação que são capazes de transferir um elétron para um acceptor num determinado momento, isto é, a proporção de centros de reação que estão abertos (GENTY *et alii*, 1989). Sendo $F'v/F'm$ a eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas na luz (BUTLER & KITAJIMA, 1975), e q_P a proporção de centros de reação oxidados ou abertos, a eficiência quântica das reações fotoquímicas do PSII (ϕ_{PSII}) em qualquer momento pode ser definida pelo produto da multiplicação de $F'v/F'm$ e q_P (GENTY *et alii*, 1989).

O valor de F_v/F_m , que é a medida da eficiência máxima do PSII e representa a eficiência de captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro, varia de 0,75 a 0,85 entre folhas de diferentes espécies e ecótipos (KRAUSE & WEIS, 1991; BOLHÀR-NORDENKAMPF & ÖQUIST, 1993).

A fotoinibição é uma consequência inevitável do funcionamento do PSII em condições de luminosidade excessiva e ocorre quando a capacidade de uso efetivo da energia luminosa absorvida é baixa ou danificada, levando a mudanças na membrana tilacóide que diminuem a eficiência do PSII em nível do centro de reação e seu sistema antena de captura de luz (DEMMING & BJORKMAN, 1987). Ao contrário do q_E , que reverte-se rapidamente no escuro, o q_I dura por longo tempo e produz uma diminuição relativamente estável na eficiência do PSII. Efeitos ambientais de longa duração freqüentemente resultam em fotoinibição crônica (OSMOND, 1994), que se manifesta pela redução da taxa F_v/F_m . Esta suscetibilidade intrínseca do PSII à fotoinibição fornece uma medida valiosa do grau de estresse na qual a planta ou o fotossistema foi submetido e como a planta responde ao seu ambiente (FOYER, 1993).

Efeitos ambientais de curta duração afetam a produção fotoquímica do PSII por mudanças nos níveis relativos do qNP (qE) e da fotossíntese, medida pelo qP (FOYER, 1993), resultando em fotoinibição dinâmica ou reversível (OSMOND, 1994).

Existe uma relação aproximadamente linear entre a produção quântica da evolução de O₂ e a taxa Fv/Fm, e posteriormente foi demonstrada uma boa correlação entre a produção quântica do transporte de elétrons do PSII e a produção quântica da evolução de O₂ (GENTY *et alii*, 1989). Finalmente, medições de fluorescência podem ser extrapoladas para dar estimativas de fluxo através da assimilação de carbono e outros ciclos (CORNIC & BRIANTAIS, 1991).

Desta forma, a fluorescência da clorofila *a* tem fornecido informações sobre quase todos os aspectos da fotossíntese e respostas das plantas aos fatores ambientais de estresse (altas ou baixas temperaturas e seca), poluição do ar, efeito de herbicidas e disponibilidade de nutrientes (SCHREIBER, 1983; LICHTENTHALER & RINDERLE, 1988; DONCASTER *et alii*, 1989; LABATE *et alii*, 1990; BAKER, 1991; KRAUSE & WEIS, 1991; FOYER, 1993). Atualmente, os dados de fluorescência também têm sido usados para estudos da ação de patógenos sobre a fotossíntese de plantas doentes (SCHOLES & FARRAR, 1985; BERGHAUS *et alii*, 1987; PETERSON & AYLOR, 1995; RAGGI, 1995).

Como resultado do desenvolvimento de instrumentos e métodos mais modernos de análise da emissão de fluorescência, esta tornou-se uma opção muito atrativa para obter informações rápidas, semi-quantitativas e não invasivas sobre a atividade fotossintética das plantas (KOOTEN & SNEL, 1990).

Com o uso da metodologia de SCHREIBER *et alii* (1986) (Figura 01) é possível a determinação e o cálculo dos vários parâmetros de fluorescência, principalmente, Fv/Fm, qP, qNP, F'v/F'm e ϕ PSII.

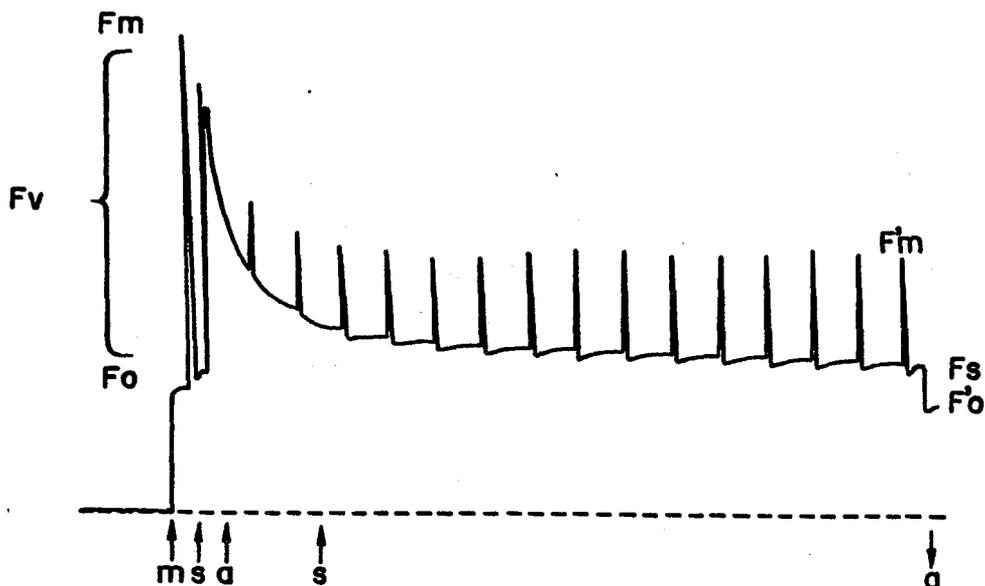


Figura 01. Curva de análise de “quenching” da fluorescência da clorofila *a* pelo método dos pulsos saturantes. $m \uparrow$, luz modulada vermelha fraca ligada; $s \uparrow$, pulso de luz saturante ligado; $a \uparrow$, luz actínica contínua ligada simultaneamente com um pulso saturante; $a \downarrow$, luz actínica desligada. Ao longo da curva são observados os pontos característicos da produção de fluorescência: F_o (fluorescência mínima obtida com todos centros de reação do PSII abertos enquanto a membrana tilacóide está no estado não energizado, isto é, adaptada no escuro, $q_P=1$ e $q_{NP}=0$); F_m (fluorescência máxima obtida quando todos centros de reação do PSII estão fechados no estado adaptado no escuro, $q_P=0$ e $q_{NP}=0$); F_v (fluorescência variável máxima obtida quando $q_{NP}=0$, isto é, $F_v=F_m-F_o$); $F'm$ (fluorescência máxima em qualquer estado adaptado na luz, $q_P=0$ e $q_{NP}>0$); $F'o$ (fluorescência mínima em qualquer estado adaptado na luz, $q_P=1$ e $q_{NP}>0$); F_s (fluorescência no estado fixo, isto é, a fluorescência não muda enquanto os fatores externos permanecerem constantes); q_P (“quenching” fotoquímico) e q_{NP} (“quenching” não fotoquímico).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material vegetal

Os experimentos foram conduzidos sobre duas variedades de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.):

-Rosinha G-2 - possui alta suscetibilidade a *Uromyces appendiculatus*, *Phaeoisariopsis griseola* e ao vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro.

-Carioca Comum - possui moderada suscetibilidade a *Uromyces appendiculatus* e *Phaeoisariopsis griseola*, e alta suscetibilidade ao vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro.

3.2. Obtenção dos patógenos e preparo do inóculo

3.2.1. *Uromyces appendiculatus*

Uredósporos do fungo *Uromyces appendiculatus* foram coletados em um campo situado na área experimental do Departamento de Fitopatologia da ESALQ em Piracicaba/SP. A multiplicação dos uredósporos era feita inoculando uma suspensão de uredósporos em água + tween 20 (1 gota/100 ml) sobre os folíolos de plantas da variedade Rosinha. Após a inoculação, as plantas eram cobertas com sacos plásticos para se formar uma câmara úmida, e mantidas no escuro a 21°C por 24 horas. Após este período, a câmara úmida era retirada e as plantas incubadas em câmara de crescimento sob fotoperíodo de 12 horas. Quando as pústulas iniciavam a esporulação, os

uredósporos eram coletados agitando-se os folíolos sobre uma folha de papel e, posteriormente, armazenados em cápsulas de gelatina colocadas em um frasco de vidro fechado contendo sílica gel sob condições de congelador.

Para o preparo do inóculo, era feita uma suspensão de uredósporos em água + tween 20 (1 gota/100 ml) e a concentração era ajustada após a contagem de uredósporos em uma câmara de Neubauer.

3.2.2. *Phaeoisariopsis griseola*

O fungo *Phaeoisariopsis griseola* foi isolado de folhas de feijoeiro com mancha angular provenientes da região de Ponta Grossa/PR. Com auxílio de uma agulha foram transferidos conídios na face inferior da folha para placas de Petri contendo meio ágar-água. As placas foram incubadas em estufas a 24°C e no escuro até que houvesse um crescimento micelial e, a partir de então, o fungo isolado foi repicado para tubos de ensaio com meio inclinado de suco de tomate (200 ml de suco de tomate integral + 15 g de ágar + 4,5 g de CaCO₃ + 800 ml de água destilada). Os tubos foram incubados sob as mesmas condições anteriores e quando percebeu-se a esporulação do fungo, adicionou-se água destilada estéril aos tubos, agitou-se, e colocou-se 1 ml da suspensão resultante em placas de Petri contendo meio de suco de tomate. A suspensão era espalhada por toda a superfície da placa com auxílio de uma alça de Drigalski e depois vedava-se a placa com um filme plástico para evitar contaminação e manter a umidade na placa. As placas eram mantidas em estufa a 24°C no escuro e após 2 a 3 semanas observava-se a abundante produção de conídios por toda superfície do meio.

Para o preparo do inóculo, adicionava-se água sobre a superfície das placas com o fungo esporulante e passava-se um pincel para que os conídios fossem liberados. Esta suspensão era então, filtrada em filó e a ela adicionava-se tween 20 (1 gota/500 ml). A concentração de conídios na suspensão era ajustada após a contagem de conídios em uma câmara de Neubauer.

3.2.3. Vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro (VMDeF)

O vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro foi obtido a partir de plantas infectadas da variedade Rio Tibagi provenientes da Estação Experimental do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) em Londrina/PR. A manutenção e multiplicação do inóculo era feita através da maceração de folhas jovens apresentando sintomas em tampão fosfato 0,02M pH 7,0 na proporção de 5g de folhas para 1ml de tampão. Plantas jovens de feijoeiro Rio Tibagi quando apresentavam somente as folhas primárias expandidas eram, então, inoculadas mecanicamente com abrasivo carborundum e com o extrato obtido da maceração das folhas infectadas. As plantas inoculadas eram mantidas em condições de casa-de-vegetação, obtendo 100% de transmissão do VMDeF por este método.

Para o preparo do inóculo era usado o mesmo método descrito acima para a manutenção e multiplicação do vírus.

Julgava-se que o VMDeF estivesse isolado durante todos os experimentos, mas foram constatadas partículas alongadas junto com as partículas isométricas do VMDeF em algumas plantas da variedade Carioca, e desta forma, julgou-se ter havido, em alguma etapa, uma contaminação involuntária por outro vírus. Este fato fez com que na análise dos resultados sobre a interação vírus-fungo fosse considerado o vírus como um complexo viral e não como somente o VMDeF. Através de testes serológicos, observação das partículas em microscópio eletrônico, teste de transmissão por semente e teste de transmissão em *Chenopodium quinoa*, *Gomphrena globosa*, *Nicotiana tabacum* TNN e Turkish, confirmou-se a presença do VMDeF e supôs-se que o outro vírus seja o vírus do mosaico amarelo do feijoeiro.

3.3. Determinação da área foliar de plantas sadias e infectadas com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro

Com o objetivo de facilitar a determinação da área foliar de plantas de feijoeiro com ou sem o VMDeF foi realizado um ensaio prévio. Para a variedade Rosinha G-2, 182 folhas de plantas sadias e 168 folhas de plantas com o VMDeF, e para a variedade Carioca Comum, 159 folhas de plantas sadias e 156 folhas de plantas com o VMDeF, foram coletadas ao acaso e mediu-se com o auxílio de um medidor de área foliar portátil (LI-COR modelo LI-3000A) a área foliar total de cada folha.

Com isto, tentou-se correlacionar a largura maior do folíolo central com a área foliar total, através de regressão não-linear. A escolha do melhor modelo de regressão baseou-se na relação de alometria entre a largura maior do folíolo central e a área total da folha, e nos valores do coeficiente de determinação (R^2).

Apesar do VMDeF causar uma leve deformação nos bordos dos folíolos, não foram observadas diferenças significativas entre as equações obtidas para folhas com ou sem vírus. Entretanto, observou-se diferenças significativas entre as variedades. Desta forma, foram considerados os melhores ajustes obtidos levando em conta todas as folhas de cada variedade, independentemente de ter ou não o VMDeF.

A equação que melhor representa a relação entre a área total da folha (A) e a largura maior do folíolo central (L) para a variedade Rosinha G-2 e Carioca Comum foram:

$$A_{\text{Rosinha}} = 2,44504 \times L^{1,94267} \quad (R^2 = 0,9364)$$

$$A_{\text{Carioca}} = 3,03311 \times L^{1,86796} \quad (R^2 = 0,8815)$$

3.4. Avaliação do efeito da pré-inoculação com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro sobre o desenvolvimento da ferrugem em diferentes temperaturas

Sementes das duas variedades de feijoeiro testadas foram semeadas em vasos de alumínio com dois litros de mistura de solo argiloso, areia e esterco de curral na proporção 2:1:2, respectivamente. Os vasos foram mantidos em condições de casa-de-vegetação.

Após 10 dias da semeadura, quando as plantas tinham somente as folhas primárias expandidas, metade das plantas tiveram as folhas primárias inoculadas mecanicamente com um extrato de folhas contendo o VMDeF na proporção 5:1. A outra metade das plantas era inoculada somente com tampão fosfato 0,02M pH 7,0, permanecendo sadia.

Após 10 dias da inoculação com o VMDeF, todas as plantas, com ou sem vírus, tiveram suas duas folhas trifolioladas inoculadas, utilizando-se um pulverizador, com uma suspensão em água + tween 20 (1 gota/100 ml), na concentração de 4×10^4 uredósporos de *Uromyces appendiculatus*/ml.

Imediatamente após a inoculação, as plantas foram cobertas com sacos plásticos umedecidos para se formar uma câmara úmida, e mantidas no escuro por 24 horas na temperatura desejada. Após este período, a câmara úmida foi retirada e as plantas incubadas em câmaras de crescimento sob o fotoperíodo de 12 horas ($200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), umidade relativa de 40-60% e temperatura desejada constante.

As temperaturas avaliadas foram de 9, 12, 15, 18, 21, 24 e 27°C. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 4 repetições, sendo cada repetição constituída de um vaso com duas plantas. Em cada planta foi avaliada somente a segunda folha trifoliolada, pois a infecção sistêmica do VMDeF já se mostrava bem estabelecida nesta folha, e nem sempre a primeira folha trifoliolada apresentava os sintomas típicos da virose.

As avaliações iniciaram a partir do aparecimento dos primeiros pontos cloróticos ("flecks") e continuaram até que o número de pústulas permanecesse estável, isto é, não aparecessem pústulas novas. As avaliações eram feitas diariamente determinando-se:

- Largura maior do folíolo central para determinação da área foliar total;
- Número de pústulas por folha;
- Tamanho médio das pústulas, incluindo o halo amarelado, realizado com o auxílio de uma escala de tamanho (Figura 02).

Com os valores da área foliar (cm^2) e do número de pústulas por folha foi calculado o número de pústulas por cm^2 de folha, em cada avaliação. Desta forma, foi estabelecida a curva de progresso da doença para cada repetição em cada tratamento. Através de regressão não-linear tentou-se ajustar vários modelos para cada curva de progresso da doença, sendo que o modelo monomolecular ($Y=B_1*(1-B_2*EXP(-B_3*X))$) apresentou melhor ajuste. Com base nas equações ajustadas para cada repetição, foi possível calcular os parâmetros:

-Frequência de infecção, considerado o número máximo de pústulas maduras (com uredósporos livres) por cm^2 de folha, isto é, o valor da assíntota da curva de progresso da doença (B_1);

-Período latente, considerado o tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das pústulas maduras, isto é, o tempo para $B_1/2$;

Com os dados de tamanho das pústulas, determinou-se o tamanho das pústulas aos 17 dias após a inoculação e obteve-se uma curva de crescimento das pústulas. Esta curva de crescimento foi linearizada transformando os valores de tamanho em raiz quadrada do tamanho. Através de regressão linear ($Y= A*X + B$) obteve-se a taxa de crescimento das pústulas para cada repetição (valor de A).

Outro parâmetro calculado com os valores de área foliar, do número de pústulas por cm^2 de folha e do tamanho das pústulas foi a severidade aos 17 dias após a inoculação, isto é, a porcentagem de área foliar ocupada pelas pústulas.

Com os parâmetros calculados, obteve-se um gráfico em função da temperatura e ajustou-se os pontos à função Beta generalizada ($Y=B_1 * (((T-B_2)^{B_3}) * ((B_4-T)^{B_3}))$) que tem se mostrado muito útil na descrição do efeito da temperatura nos parâmetros de doenças (HAU & KRANZ, 1990). Como não houve o aparecimento de pústulas a 27°C e considerando que não há o desenvolvimento da doença a 7°C (BACCHI, 1993), os parâmetros B_2 e B_4 foram fixados em 7 e 27, respectivamente, para que as curvas ajustadas sejam mais próximas do real. B_2 e B_4 representam a temperatura mínima e máxima para o desenvolvimento da doença, respectivamente, tendo, assim, um significado biológico.

3.5. Avaliação do efeito da pré inoculação com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro sobre o desenvolvimento da mancha angular em diferentes temperaturas

As duas variedades de feijoeiro testadas foram semeadas nas mesmas condições descritas anteriormente e os vasos foram mantidos em condições de casa-de-vegetação.

Após 10 dias da semeadura, quando as plantas tinham somente as folhas primárias expandidas, metade das plantas tiveram as folhas primárias inoculadas mecanicamente com um extrato de folhas contendo o VMDeF na proporção 5:1. A outra metade das plantas era inoculada somente com tampão fosfato 0,02M pH 7,0, permanecendo sadia.

Após 14 dias da inoculação com o VMDeF, todas as plantas, com ou sem vírus, tiveram suas duas folhas trifolioladas inoculadas, utilizando-se um pulverizador, com uma suspensão em água + tween 20 (1 gota/500 ml), na concentração de 4×10^4 conídios de *Phaeoisariopsis griseola*/ml.

Imediatamente após a inoculação, as plantas foram cobertas com sacos plásticos umedecidos para se formar uma câmara úmida, e mantidas no escuro por 48 horas na temperatura desejada. Após este período, a câmara úmida foi retirada e as plantas

incubadas em câmaras de crescimento sob o fotoperíodo de 12 horas ($200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), umidade relativa de 40-60% e temperatura desejada constante.

As temperaturas avaliadas foram de 15, 18, 21, 24, 27 e 30°C. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 4 repetições, sendo cada repetição constituída de um vaso com duas plantas. Em cada planta foi avaliada somente a segunda folha trifoliolada, pelos motivos já descritos anteriormente.

As avaliações iniciaram a partir do aparecimento dos primeiros sintomas (manchas angulares) e continuaram até que não aparecessem manchas novas. As avaliações eram feitas diariamente determinando-se:

- Largura maior do folíolo central para determinação da área foliar total;
- Número de manchas por folha;
- Tamanho médio das manchas, realizado com o auxílio de uma escala de tamanho (Figura 03).

Com os valores da área foliar (cm^2) e do número de manchas por folha foi calculado o número de manchas por cm^2 de folha, em cada avaliação. Desta forma, foi estabelecida a curva de progresso da doença para cada repetição em cada tratamento. Através de regressão não-linear tentou-se ajustar vários modelos para cada curva de progresso da doença, sendo que o modelo monomolecular ($Y=B_1*(1-B_2*EXP(-B_3*X))$) apresentou melhor ajuste. Com base nas equações ajustadas para cada repetição, foi possível calcular os parâmetros:

- Frequência de infecção, considerado o número máximo de manchas por cm^2 de folha, isto é, o valor da assíntota da curva de progresso da doença (B_1);
- Período de incubação, considerado o tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das manchas, isto é, o tempo para $B_1/2$, pois como a umidade relativa das câmaras de crescimento era baixa não houve a esporulação do fungo;

Com os dados de tamanho das manchas, determinou-se o tamanho das manchas aos 16 dias após a inoculação e obteve-se uma curva de crescimento das manchas. Esta curva de crescimento foi linearizada transformando os valores de tamanho em raiz

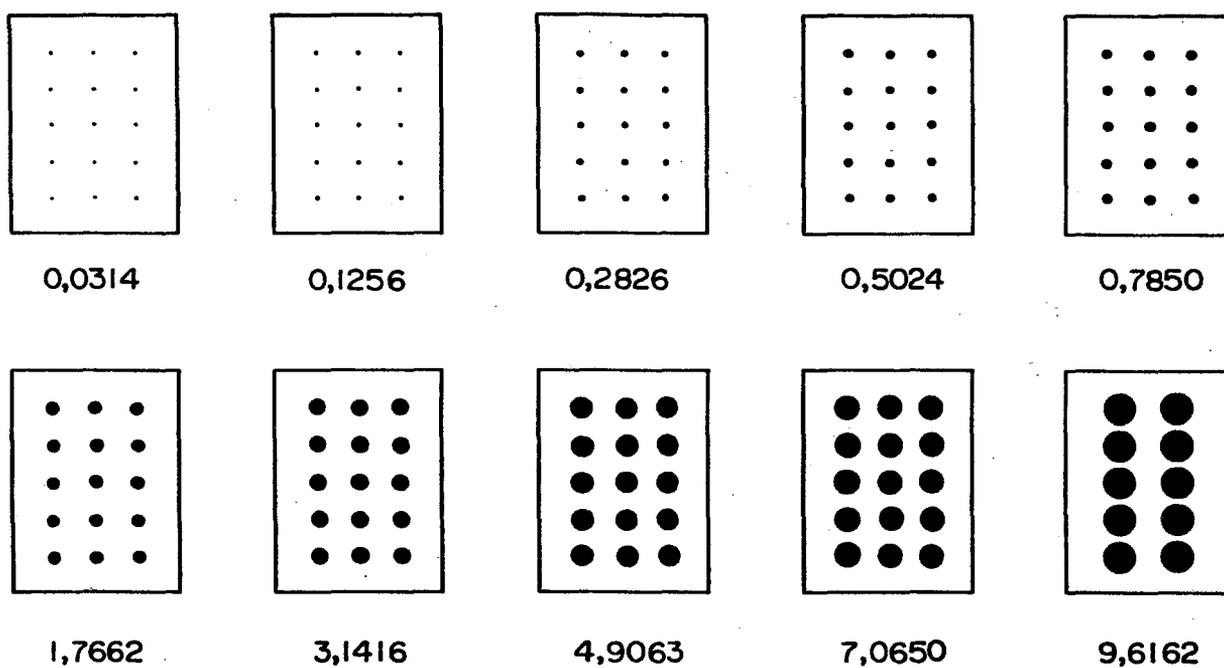


Figura 02. Escala para avaliação do tamanho das pústulas da ferrugem do feijoeiro (valores em mm^2).

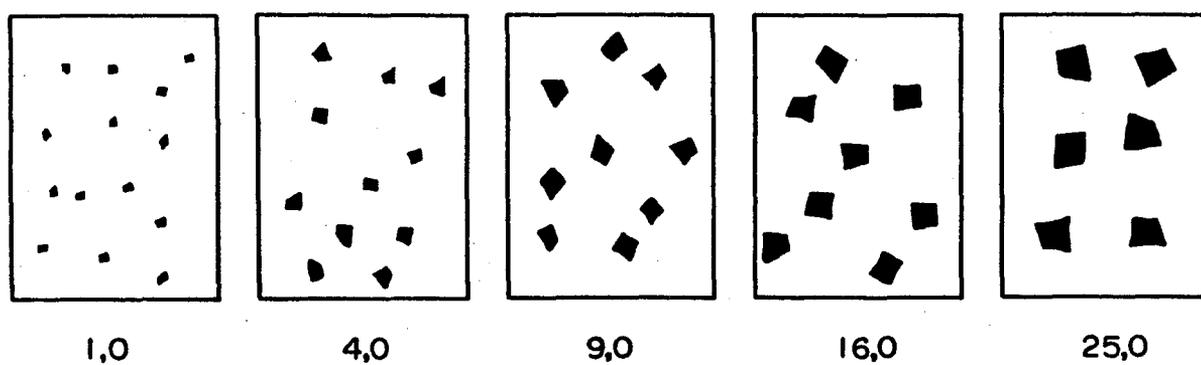


Figura 03. Escala para avaliação do tamanho das lesões da mancha angular do feijoeiro (valores em mm^2).

quadrada do tamanho. Através de regressão linear obteve-se a taxa de crescimento das manchas para cada repetição.

Outro parâmetro calculado com os valores de área foliar, número de manchas por cm^2 de folha e tamanho das manchas foi a severidade aos 16 dias após a inoculação, isto é, a porcentagem de área foliar ocupada pelas manchas.

Novamente, com os parâmetros calculados obteve-se um gráfico em função da temperatura e ajustou-se os pontos à função Beta generalizada ($Y=B_1*(((T-B_2)^{B_3})*((B_4-T)^{B_5}))$). Como não houve o aparecimento de manchas a 30°C , o parâmetro B_4 foi fixado em 30, para que as curvas ajustadas sejam mais próximas do real. B_4 representa a temperatura máxima para o desenvolvimento da doença.

3.6. Avaliação do efeito das doenças, isoladas e em conjunto, sobre a eficiência fotossintética das folhas de feijoeiro

Os experimentos foram realizados com as duas variedades de feijoeiro, Carioca Comum e Rosinha G-2. As sementes foram semeadas em vasos de alumínio com dois litros de mistura de solo argiloso, areia e esterco de curral na proporção 2:1:2, respectivamente. Os vasos foram mantidos inicialmente em condições de casa-de-vegetação, deixando duas plantas por vaso.

Após 10 dias da semeadura, metade das plantas foram inoculadas com o VMDeF da mesma maneira descrita nos experimentos anteriores, e a outra metade permaneceu sadia. Após o aparecimento da primeira folha trifoliolada, as plantas foram transferidas para câmaras de crescimento a 21°C , fotoperíodo de 12 horas ($200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e umidade relativa de 40-60%.

Nos experimentos envolvendo a ferrugem do feijoeiro, após 10 dias da inoculação do VMDeF, metade das plantas com vírus e metade das plantas sadias foram inoculadas com uma suspensão em água + tween 20 (1 gota/100 ml), na concentração de $5,5 \times 10^4$ uredósporos de *Uromyces appendiculatus*/ml. Imediatamente após a inoculação, as

plantas foram cobertas com sacos plásticos umedecidos para se formar uma câmara úmida, e mantidas no escuro por 24 horas na temperatura de 21°C. Após este período, a câmara úmida foi retirada e as plantas incubadas em câmaras de crescimento sob às mesmas condições anteriores. Desta maneira, obteve-se plantas totalmente sadias (controle), plantas somente com o vírus, plantas somente com ferrugem e plantas com o vírus + ferrugem.

Nos experimentos envolvendo a mancha angular do feijoeiro, após 14 dias da inoculação do VMDeF, metade das plantas com vírus e metade das plantas sadias foram inoculadas com uma suspensão em água + tween 20 (1 gota/500 ml), na concentração de 1×10^5 conídios de *Phaeoisariopsis griseola*/ml. Imediatamente após a inoculação, as plantas foram cobertas com sacos plásticos umedecidos para se formar uma câmara úmida, e mantidas por 48 horas a 21°C. Após este período, a câmara úmida foi retirada e as plantas incubadas em câmaras de crescimento sob as mesmas condições anteriores. Desta maneira, obteve-se plantas totalmente sadias (controle), plantas somente com o vírus, plantas somente com mancha angular e plantas com o vírus + mancha angular.

Durante todos experimentos, as plantas receberam solução nutritiva de SARRUGE (1970) duas vezes por semana a fim de garantir uma boa nutrição às plantas.

As avaliações foram feitas nas segundas folhas trifolioladas aos 13 a 18 dias após a inoculação com *Uromyces appendiculatus*, e nas terceiras folhas trifolioladas aos 14 a 18 dias após a inoculação com *Phaeoisariopsis griseola*.

Após 40 a 60 minutos do início do fotoperíodo nas câmaras de crescimento, as plantas a serem avaliadas eram levadas ao laboratório e mantidas em outra câmara à 21°C, mas com uma luminosidade menor em torno de 70 a 90 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Antes do início de cada avaliação, as plantas eram deixadas de 30 a 40 minutos no escuro para que todos os centros de reação do fotossistema II ficassem abertos.

A cada dia de avaliação, um lote, contendo uma planta controle, uma planta somente com vírus, uma planta somente com fungo e uma planta com o vírus + fungo, era avaliado sendo que ao final de cada experimento tinham-se 7 lotes avaliados no total.

Em cada dia de avaliação mudava-se a ordem das plantas com o objetivo de aumentar a casualidade dos dados. Para as análises estatísticas, considerou-se cada lote um bloco com uma repetição cada.

3.6.1. Avaliação da respiração e da assimilação de CO₂

Para a avaliação das trocas de CO₂ foi utilizado um sistema em que as folhas intactas são inseridas numa câmara de alumínio. A câmara era construída em dois blocos com duas janelas. Na face superior era fornecida a luz actínica à folha localizada entre os dois blocos de alumínio. A temperatura da câmara de análise da fotossíntese era de 27°C controlada por um termocirculador.

Para as análises de troca de CO₂ foi utilizado ar comprimido proveniente do ambiente externo ao laboratório (aproximadamente 340ppm de CO₂). Este ar era umedecido e depois passava por um banho-maria a 15°C onde eliminava-se o excesso de umidade do ar. A vazão de ar que passava pela câmara de análise de fotossíntese era de 1 litro por minuto.

A determinação da taxa de assimilação de CO₂ era feita utilizando-se um analisador de gás infravermelho (IRGA) acoplado à câmara de análise, que mede a taxa de absorção do CO₂ pela folha. A determinação da taxa de CO₂ é obtida comparando-se as concentrações de CO₂ no ar anterior à entrada na câmara e, no ar após a passagem pela folha.

Para a avaliação da respiração, as folhas, após o período de escuro, eram colocadas na câmara permanecendo ainda no escuro. O CO₂ liberado foi, então, considerado como resultado da respiração da folha.

Após a avaliação da respiração, a luz actínica era ligada e iniciava-se a avaliação da assimilação de CO₂ pela folha. As intensidades luminosas utilizadas para todos os experimentos foram de 150 e 1200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. As folhas eram mantidas sob a luz actínica contínua até que o valor da diferença de CO₂ permanecesse constante, o que

ocorria após uns 15 minutos. A taxa de respiração no escuro e a taxa de assimilação líquida de CO₂ pela folha era determinada pela seguinte fórmula:

$$A = (f/S) \times \Delta\text{CO}_2 \times ((1 - e_e/P)/(1 - e_o/P)) \times k$$

onde,

-A: taxa de assimilação líquida de CO₂ por unidade de área foliar ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)

-S: área foliar (0,0008552986 m²)

-\Delta\text{CO}_2: diferencial de CO₂ (ppm)

-e_e: pressão parcial de vapor d'água antes da câmara (KPa)

-e_o: pressão parcial de vapor d'água após a câmara (KPa)

-P: pressão atmosférica (mbar)

-k: fator de calibração do aparelho (1,324324)

-f = F x (1/22,4) x [273,15/(273,15 + T)] x (P/1013) x (1/60) (mol.s⁻¹)

onde,

-F: vazão do ar (1 l/min)

-T: temperatura da câmara (27°C)

3.6.2. Avaliação da fluorescência da clorofila *a*

As avaliações da emissão de fluorescência da clorofila da superfície superior das folhas foram feitas usando o método de pulsos saturantes descrito por SCHREIBER *et alii* (1986).

Para as avaliações foi utilizado um fluorímetro modelo PAM 101 (Heinz Walz, Effeltrich, Alemanha). A iluminação simultânea da folha pelas duas diferentes fontes de luz actínica e de luz modulada, bem como a detecção do sinal da fluorescência foi conseguido por um sistema bifurcado de fibra ótica. A frequência da luz modulada foi de 1,6 kHz. Os pulsos saturantes de luz branca com duração de 1 segundo e intensidade de 15000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ eram fornecidos por uma fonte de luz KL 1500 Schott (Schott,

Mainz, Alemanha) ativado por uma unidade de controle de disparo PAM 103 a intervalos de 80 segundos. A luz actínica contínua ($1200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) era fornecida por outra fonte de luz KL 1500 Schott (Schott, Mainz, Alemanha).

As folhas adaptadas no escuro por 30 a 40 minutos eram colocadas na câmara de análise de fotossíntese e ao mesmo tempo em que se fazia a avaliação da assimilação de CO_2 , também era analisada a emissão de fluorescência.

Com a folha na câmara, ligava-se a luz modulada vermelha fraca, obtendo-se por 20 segundos a fluorescência inicial (F_o). Após este tempo era dado um pulso saturante (intensidade de $15000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ por 1 segundo), obtendo-se a fluorescência máxima (F_m).

Após 20 segundos, a luz actínica ($150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) era ligada e media-se a fluorescência da clorofila *a* até que o estado fixo (F_s) fosse obtido (15 minutos). Pulsos saturantes de luz eram dados a cada 80 segundos durante este período obtendo-se $F'm$. Uma vez estabelecido o F_s , a luz actínica tinha sua intensidade aumentada para $1200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e media-se a fluorescência da mesma forma já descrita anteriormente. Quando o novo F_s era estabelecido, a luz actínica era desligada e o nível $F'o$ da fluorescência era medido por 30 segundos.

Desta maneira, era obtido para cada folha avaliada uma curva conforme a Figura 01, e a partir dela calculava-se os parâmetros de fluorescência: F_v/F_m , q_P , q_{NP} , $F'v/F'm$ e ϕ_{PSII} pelas seguintes fórmulas:

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$$

$$q_P = (F'm - F_s)/F'v = (F'm - F_s)/(F'm - F'o)$$

$$q_{NP} = (F_m - F'm)/F_v = 1 - [(F'm - F'o)/(F_m - F_o)]$$

$$F'v/F'm = (F'm - F'o)/F'm$$

$$\phi_{PSII} = F'v/F'm \times q_P = (F'm - F_s)/F'm$$

Posteriormente, a folha era removida da câmara de análise de fotossíntese e avaliava-se a severidade da doença na folha e a concentração de clorofila total.

Outro experimento foi realizado para avaliar os parâmetros iniciais de fluorescência (F_o , F_m e F_v/F_m) em folhas sadias e infectadas, visto que, no experimento anterior, os dados de F_o e F_m não podiam ser comparados entre si, uma vez que a distância entre a fibra ótica e a superfície foliar variava entre uma avaliação e outra. Neste experimento as plantas a serem avaliadas eram adaptadas no escuro por 30-40 minutos, e, então, da mesma maneira descrita anteriormente, media-se os parâmetros de fluorescência colocando a fibra ótica diretamente sobre a superfície superior da folha, permanecendo a distância entre ambas sempre constante. Os tratamentos avaliados foram: tecido de folha totalmente sadia (controle); tecido aparentemente sadio de folha com ferrugem; tecido com 4% de área ocupada por pústulas de ferrugem; tecido com 30% de área ocupada por pústulas de ferrugem; tecido com 70% de área ocupada por pústulas de ferrugem; tecido aparentemente sadio de folha com mancha angular; tecido com 100% de área ocupada por lesões de mancha angular; e tecido de folha infectada com vírus.

3.6.3. Determinação do conteúdo de clorofila total

Após as avaliações de assimilação de CO_2 e fluorescência, a folha era retirada da câmara de análise de fotossíntese e realizava-se a extração da clorofila na região da folha submetida às avaliações anteriores.

A extração da clorofila era feita pelo método de Arnon (1949), onde, com o auxílio de um pistilo e de um almofariz, era extraída a clorofila de 10 cm^2 de folha em solução aquosa de acetona a 80% (v/v).

Após a extração, a amostra tinha seu volume determinado e uma alíquota era centrifugada por 2 minutos. Após a centrifugação, media-se a absorbância da amostra

(sobrenadante) a 652 nm em um espectrofotômetro (Hitachi, modelo U-3300, Tokyo, Japão) e a concentração de clorofila total era calculada pela fórmula:

$$C = [A_{652} \times 1000/34,5] \times (V/S)$$

onde,

-C: concentração de clorofila total (mg de clorofila/cm² de folha)

-A₆₅₂: absorvância a 652 nm

-V: volume da amostra (ml)

-S: área da amostra de folha (10 cm²)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Efeito da pré-inoculação com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro sobre o desenvolvimento da ferrugem em diferentes temperaturas

A temperatura teve efeitos substanciais em todos os parâmetros estudados (período latente, freqüência de infecção, taxa de crescimento das pústulas, tamanho das pústulas e severidade) e estes efeitos foram bem descritos pela função Beta generalizada (Figuras 04a-d, 05a-d, 06a-d, 07a-d, 08a-d). A influência da temperatura em todas as fases do ciclo das relações patógeno-hospedeiro tem sido detectada em vários estudos, desde a germinação dos esporos até a produção de novas unidades de reprodução (COLHOUN, 1973; ROTEM, 1978). BACCHI (1993) concluiu que o comportamento da ferrugem do feijoeiro, em função da temperatura, considerando-se os parâmetros freqüência de infecção e período latente, é explicado pela função Beta. De acordo com as curvas obtidas pode-se determinar a temperatura ou faixa de temperatura que mais favorece a ocorrência e desenvolvimento da doença. Temperaturas maiores ou menores que a temperatura ótima irão atrasar o desenvolvimento da epidemia.

Na análise dos dados, observa-se uma maior variabilidade quando as plantas eram pré-infectadas pelo vírus, e desta forma, os ajustes destes dados à função Beta apresentaram geralmente menores coeficientes de determinação (R^2). Apesar da infecção viral ser sistêmica, muito provavelmente a concentração das partículas virais não foi homogênea nas folhas avaliadas, provocando uma maior dispersão dos resultados.

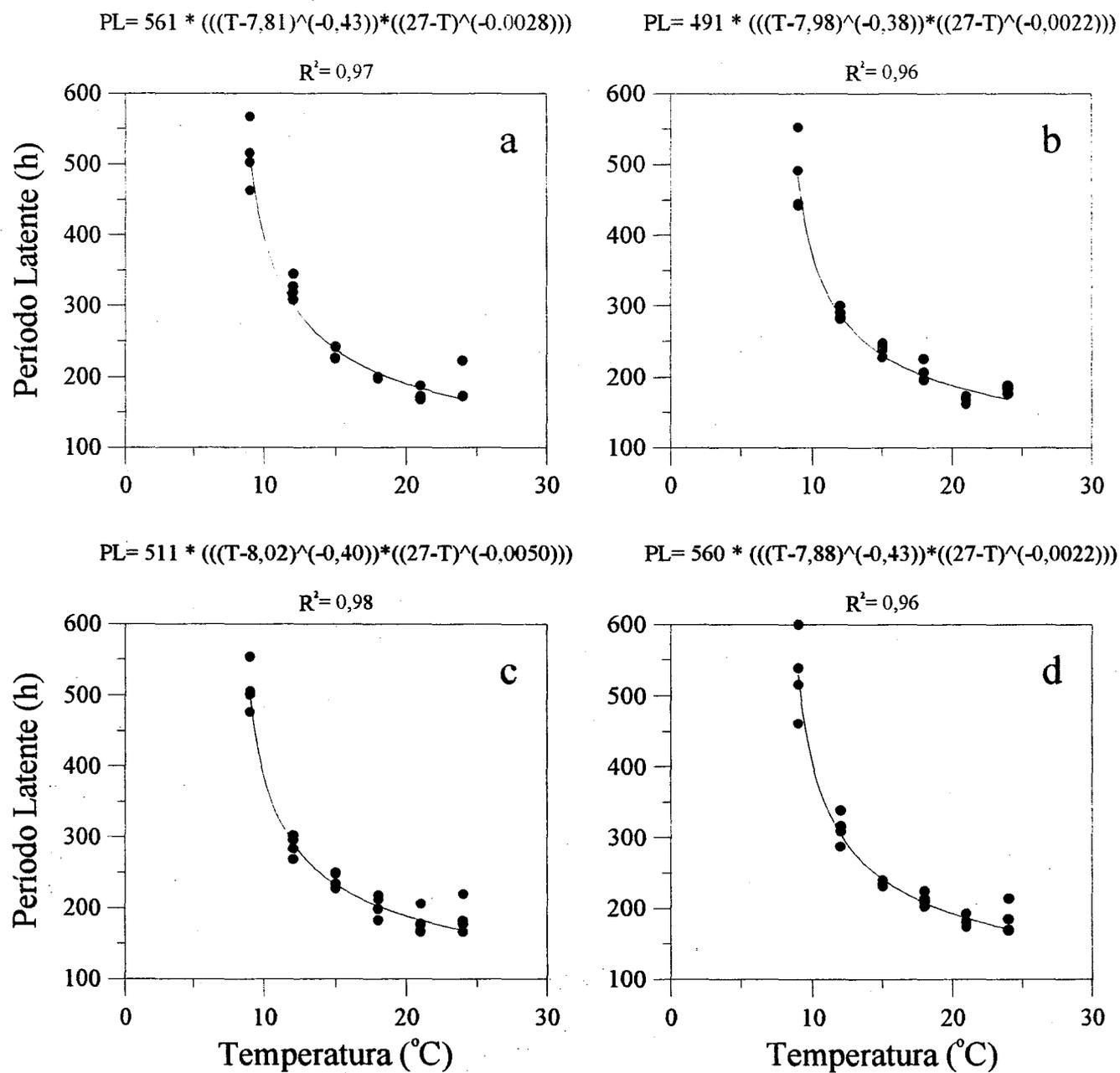


Figura 04. Período latente (h) da ferrugem do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C).

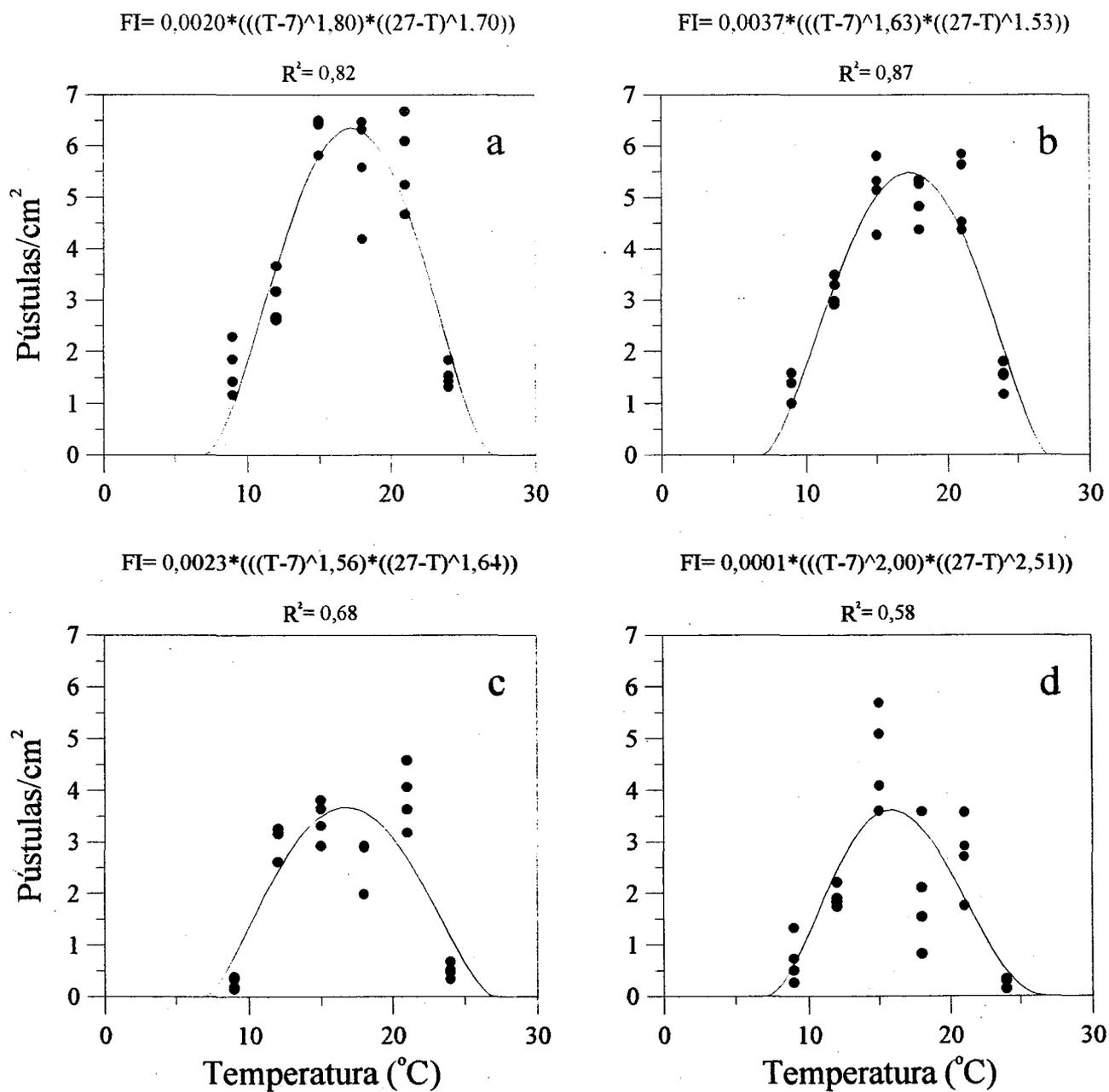


Figura 05. Frequência de infecção (pústulas/cm²) da ferrugem do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C).

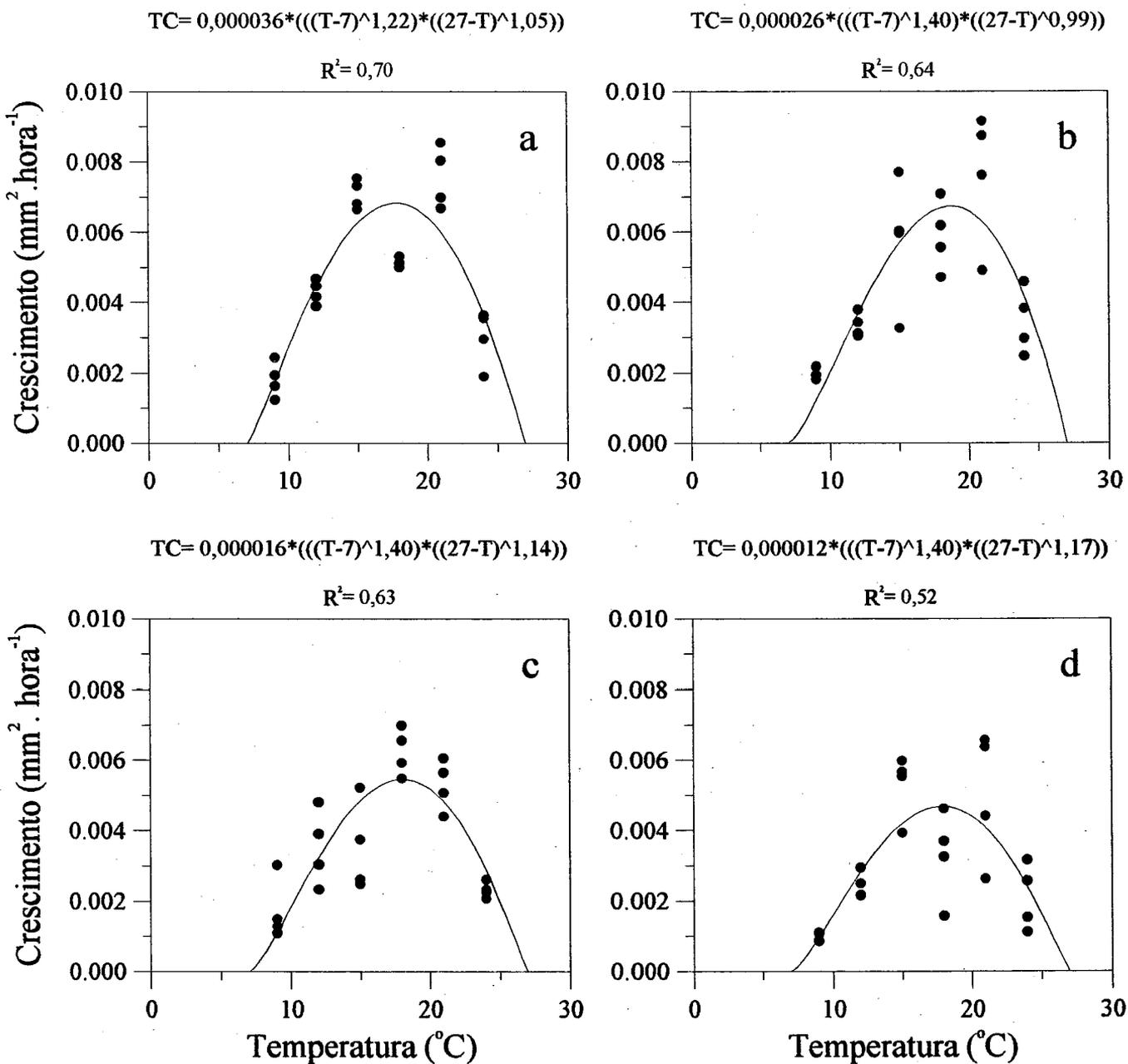


Figura 06. Taxa de crescimento das pústulas (mm^2/hora) da ferrugem do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas ($^{\circ}\text{C}$).

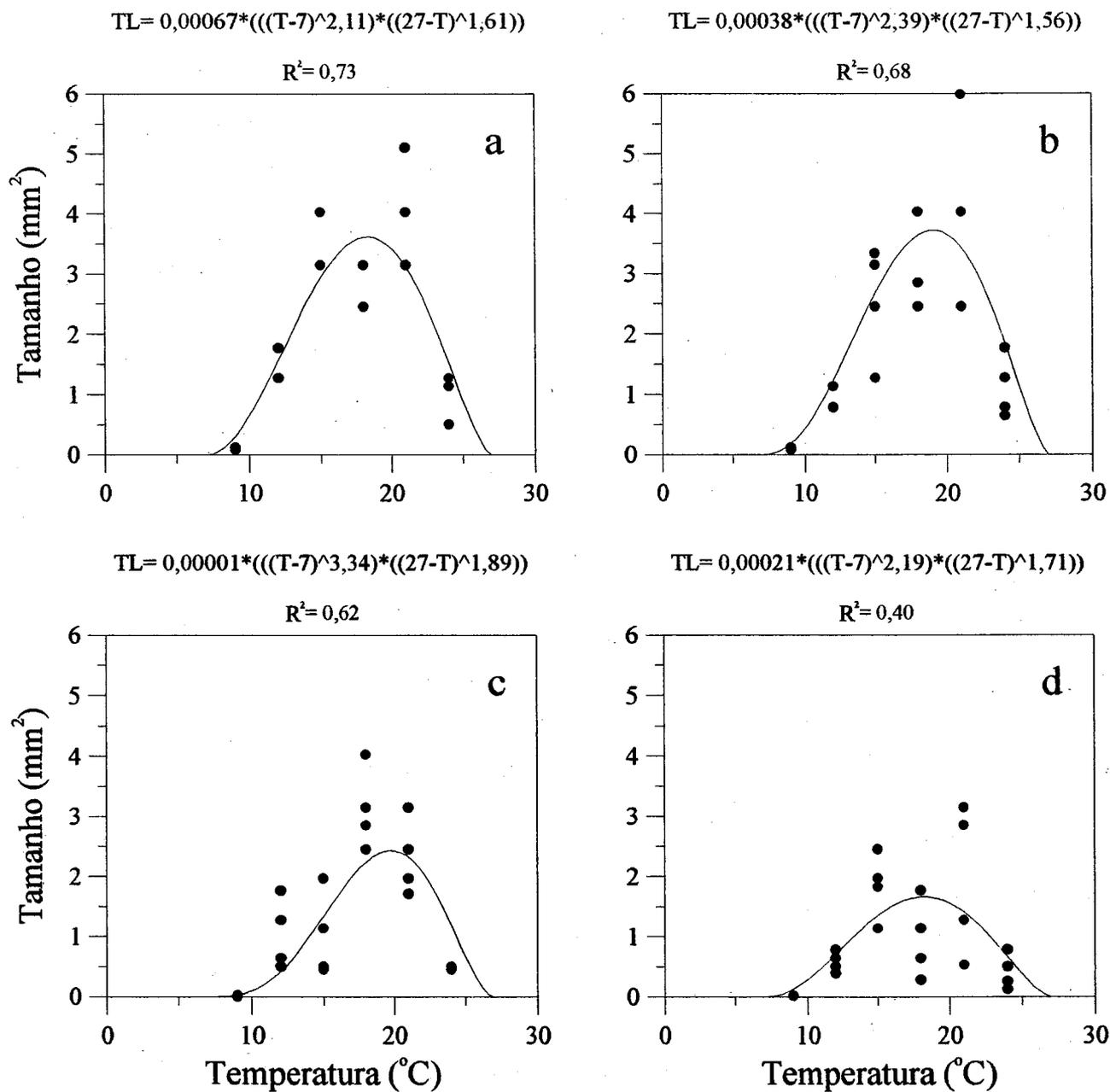


Figura 07. Tamanho de pústulas (mm²) da ferrugem do feijoeiro 17 dias após a inoculação com *Uromyces appendiculatus* nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C).

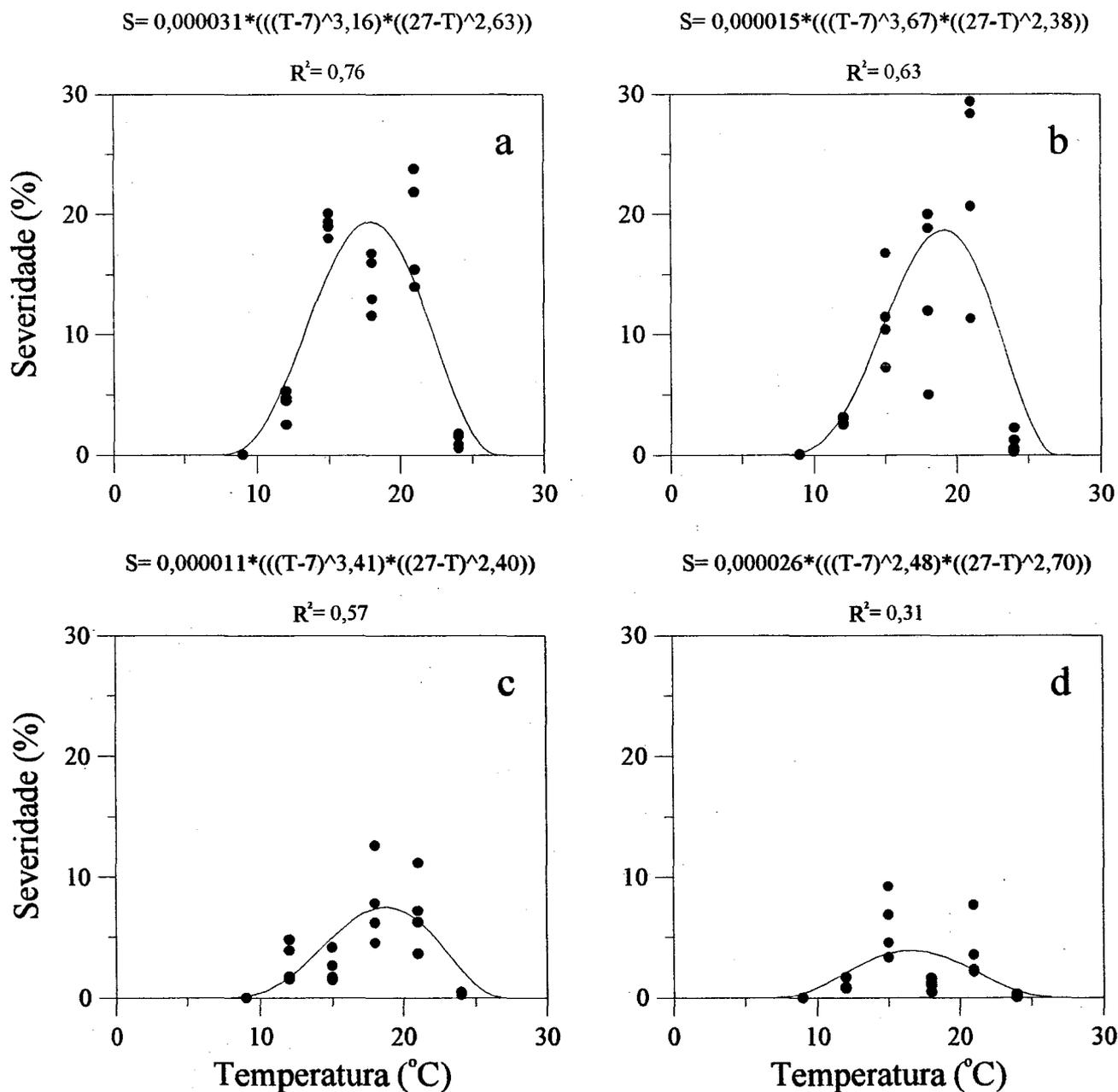


Figura 08. Severidade (%) da ferrugem do feijoeiro 17 dias após a inoculação com *Uromyces appendiculatus* nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C).

Pela análise da Figura 04a-d verifica-se que o período latente não foi alterado pela pré-infecção viral em ambas variedades, sendo as equações obtidas bem semelhantes. Esta falta de diferença entre o período latente entre variedades corrobora os resultados obtidos por MENDES (1987) e BACCHI (1993).

Em todos os casos, a temperatura que proporcionou o menor período latente (7,7 dias) foi 21°C, concordando com os dados encontrados por IMHOFF *et alii* (1981) e MENDES (1987). O período latente reflete a velocidade com que o fungo completa uma geração, independente da sua taxa de crescimento no hospedeiro, e neste caso, a pré-infecção viral parece não atuar sobre esta capacidade do fungo. Em trigo e cevada, a infecção com o vírus do nanismo amarelo da cevada (BYDV) não reduziu significativamente o período latente da ferrugem, mas nenhuma explicação para o fato foi mencionada (POTTER, 1982).

Na Figura 05a-d observa-se que a frequência de infecção, dada pelo número de pústulas por cm², foi ligeiramente menor na variedade Carioca (Figura 05b,d) em relação à variedade Rosinha (Figura 05a,c), confirmando a maior suscetibilidade da variedade Rosinha à ferrugem descrita anteriormente em vários trabalhos (MENDES, 1985; MENDES & BERGAMIN FILHO, 1986; MENDES, 1987; SILVA, 1992; BACCHI, 1993). Diferenças na frequência de infecção refletem diferenças acumuladas nos vários estágios de desenvolvimento da doença, desde a infecção até a reprodução (PARLEVLIET, 1979).

A frequência de infecção foi bastante reduzida nas plantas pré-infectadas (Figura 05c,d) em relação às plantas livres de vírus (Figura 05a,b). Tanto para a variedade Rosinha (Figura 05a,c), como para a variedade Carioca (Figura 05b,d), a redução na frequência de infecção foi de 47% em média. WILSON (1958) encontrou que a germinação de *Uromyces appendiculatus* foi suprimida em plantas de feijoeiro comum infectadas com o vírus do mosaico do fumo (TMV) e OMAR *et alii* (1986) observaram uma redução na densidade de pústulas de *Uromyces viciae-fabae* em plantas de *Vicia faba* com o vírus do mosaico amarelo do feijoeiro (BYMV).

Algumas hipóteses podem ser levantadas para explicar a redução na frequência de infecção da ferrugem em plantas pré-inoculadas com vírus: a) sendo o agente causal da ferrugem um patógeno que requer grande quantidade de açúcares, a ação do vírus pode estar ligada à redução no conteúdo de açúcares na folha; b) ativação pelo vírus de mecanismos de resistência no hospedeiro; c) competição pelos sítios de colonização visto que ambos são biotróficos.

A temperatura que possibilitou a maior frequência de infecção nas plantas livres de vírus (Figura 05a,b) foi 17°C tanto para a variedade Rosinha, como para Carioca, concordando com os resultados de MENDES (1987), mas um pouco acima dos 15°C encontrados por BACCHI (1993). Quando as plantas tinham vírus (Figura 05c,d) as curvas foram ligeiramente deslocadas para a esquerda e a temperatura para maior frequência de infecção diminuiu para aproximadamente 16°C.

O efeito da temperatura na taxa de crescimento das pústulas pode ser visto na Figura 06a-d. A temperatura de 18°C, após o ajuste das curvas, foi a que permitiu a maior taxa de crescimento das pústulas em todos tratamentos e a 24°C já ocorreu uma redução acentuada na taxa de crescimento, contrastando com os dados obtidos por IMHOFF *et alii* (1982), onde a taxa de crescimento foi maior a 24°C. A variedade Rosinha (Figura 06a,c) apresentou taxas de crescimento ligeiramente superiores em relação à variedade Carioca (Figura 06b,d), mostrando sua maior suscetibilidade.

A taxa de crescimento das pústulas foi reduzida nas plantas pré-inoculadas com vírus (Figura 06c,d) ao redor de 23%, em média, sem diferença entre as variedades (Figura 06a,b). De alguma forma, o vírus afeta a velocidade de colonização dos tecidos pelo agente causal da ferrugem, seja pela diminuição de compostos que servem de alimento para o fungo, principalmente pela redução do metabolismo de carboidratos, seja por uma alteração na estrutura das células foliares, ou ainda pela ativação de mecanismos de resistência da planta.

Como consequência da redução na taxa de crescimento das pústulas, houve uma redução no tamanho das pústulas aos 17 dias após a inoculação do fungo nas plantas

com a virose (Figura 07c,d) em relação às plantas sem a virose (Figura 07a,b), da ordem de 43% e 57% para as variedades Rosinha e Carioca, respectivamente. Esta diminuição do tamanho das pústulas, também foi observada em plantas de feijoeiro infectadas com o vírus do mosaico comum do feijoeiro (BCMV) na ordem de 25% (ZAITER *et alii*, 1990).

O maior tamanho de pústulas aos 17 dias após a inoculação do fungo foi obtido ao redor de 18,5 °C, contrariando novamente com os dados de IMHOFF *et alii* (1982) que obtiveram um maior tamanho das pústulas a 24°C.

Na Figura 08a-d é observado o efeito da temperatura sobre a severidade da ferrugem aos 17 dias após a inoculação com o fungo. A maior severidade ocorreu ao redor dos 18,5°C. Entre as variedades, percebe-se uma ligeira diferença, sendo a severidade maior na variedade Rosinha (Figura 08a,c) que na variedade Carioca (Figura 08b,d). Sendo a severidade dependente dos parâmetros frequência de infecção e tamanho da lesão, já era esperado que houvesse essa diferença entre as variedades Rosinha (altamente suscetível) e Carioca (moderadamente suscetível). Da mesma forma, ocorreu uma acentuada redução na severidade da ferrugem das plantas pré-inoculadas com vírus (Figura 08c,d) em relação às plantas livres de vírus (Figura 08a,b). Na variedade Rosinha, a redução foi, em média, de 65% e na variedade Carioca, de 79%. DALLA PRIA *et alii* (1994) observaram que plantas de feijoeiro infectadas com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro (VMDeF) apresentaram uma menor severidade de ferrugem em condições de campo e, especificamente para as variedades Rosinha e Carioca, a redução foi em torno de 35% e 39%, respectivamente.

Observou-se que a ordem de resistência das variedades à ferrugem não foi alterada pela infecção viral, sendo a variedade Rosinha sempre mais suscetível que a Carioca. Isto também foi encontrado por ZAITER *et alii* (1990) e DALLA PRIA *et alii* (1994).

Embora a faixa ótima de temperatura para o desenvolvimento da ferrugem pouco tenha se alterado, as consequências da pré-infecção pelo vírus no desenvolvimento de epidemias de ferrugem do feijoeiro são claras: menor velocidade de epidemia, tanto na

variedade Rosinha quanto na variedade Carioca, ocasionada por reduções na frequência de infecção, no tamanho de lesão e na severidade final da doença. Desta forma, a elevada acurácia do simulador FERRUGEM (AMORIM *et alii*, 1995; BERGER *et alii*, 1995) na previsão do progresso da doença, em Piracicaba, por exemplo, pode não se verificar em campos onde o vírus esteja presente. Naquele simulador, sob condições ótimas de umidade e temperatura, a taxa básica máxima de infecção era igual a 12. Esta taxa será certamente menor em plantas infectadas com o vírus. As estimativas de danos provocados pela ferrugem, sejam elas baseadas na severidade de doença (ALMEIDA *et alii*, 1977; MENTEN, 1980), ou na redução da área foliar de plantas severamente infectadas (IAMAUTI, 1995) podem, também, apresentar-se imprecisas no caso da ocorrência simultânea da ferrugem com a virose.

4.2. Efeito da pré-inoculação com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro sobre o desenvolvimento da mancha angular em diferentes temperaturas

Da mesma forma que para a ferrugem, a temperatura teve influência em todos os parâmetros estudados e esta influência foi bem descrita pela função Beta generalizada (Figuras 09a-d, 10a-d, 12a-d, 13a-d), exceto para o parâmetro taxa de crescimento das manchas (Figura 11a-d), que devido à dispersão dos dados não permitiu um bom ajuste. Assim, novamente, observou-se a influência da temperatura em todas as fases do ciclo das relações patógeno-hospedeiro, agora para o patossistema *Phaeoisariopsis griseola*-feijoeiro. Com as curvas obtidas pode-se, então, determinar a temperatura ou faixa de temperatura mais favorável à ocorrência e desenvolvimento desta doença.

O período de incubação (Figura 09a-d), considerado o tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das manchas, não foi alterado pela pré-infecção viral em ambas variedades, sendo as equações obtidas bem semelhantes. Entre as variedades parece haver uma ligeira diferença no período de incubação, sendo que para a variedade Carioca este é menor que o da variedade Rosinha, principalmente na faixa de temperatura de 21 a

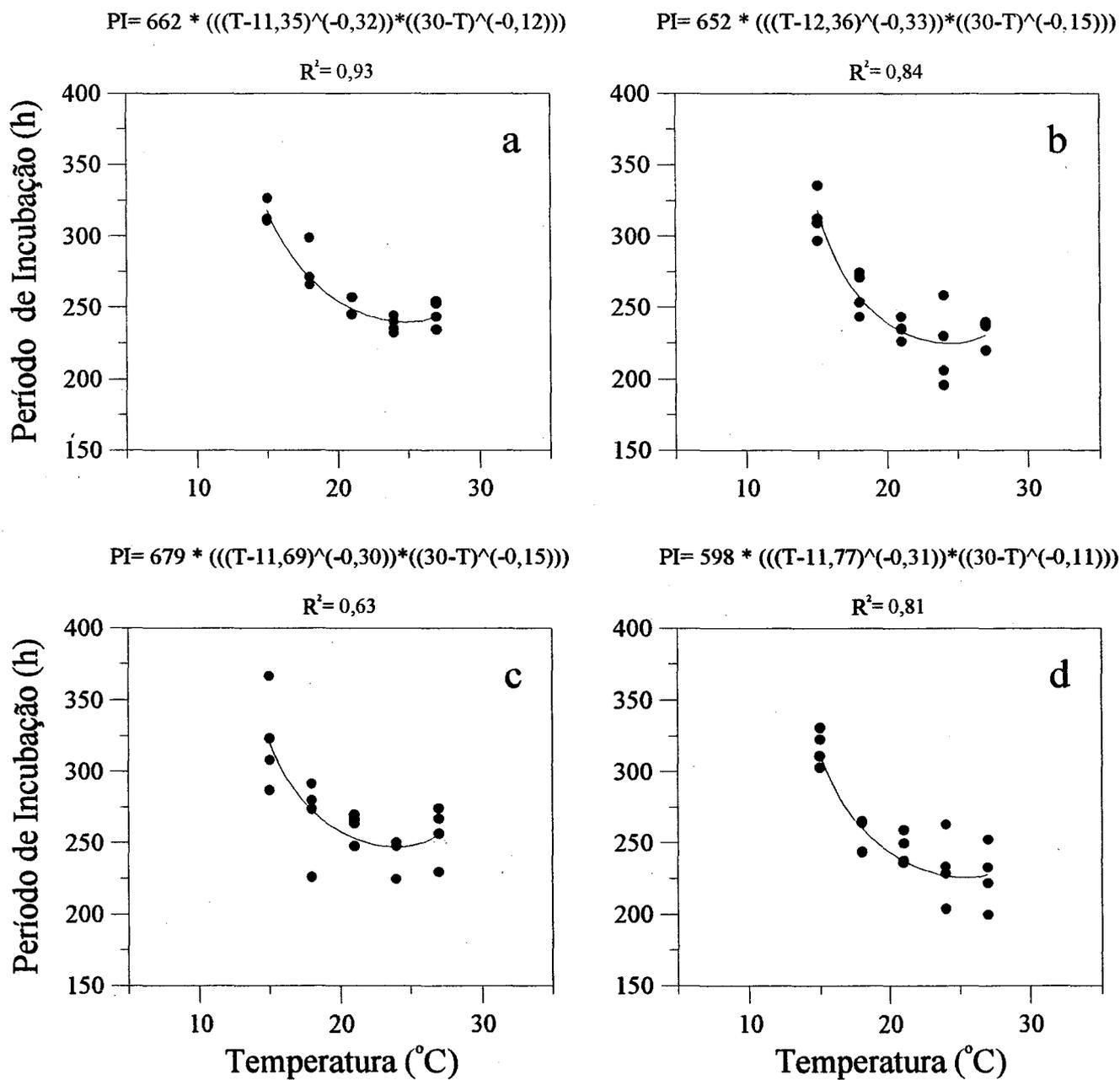


Figura 09. Período de incubação (h) da mancha angular do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C).

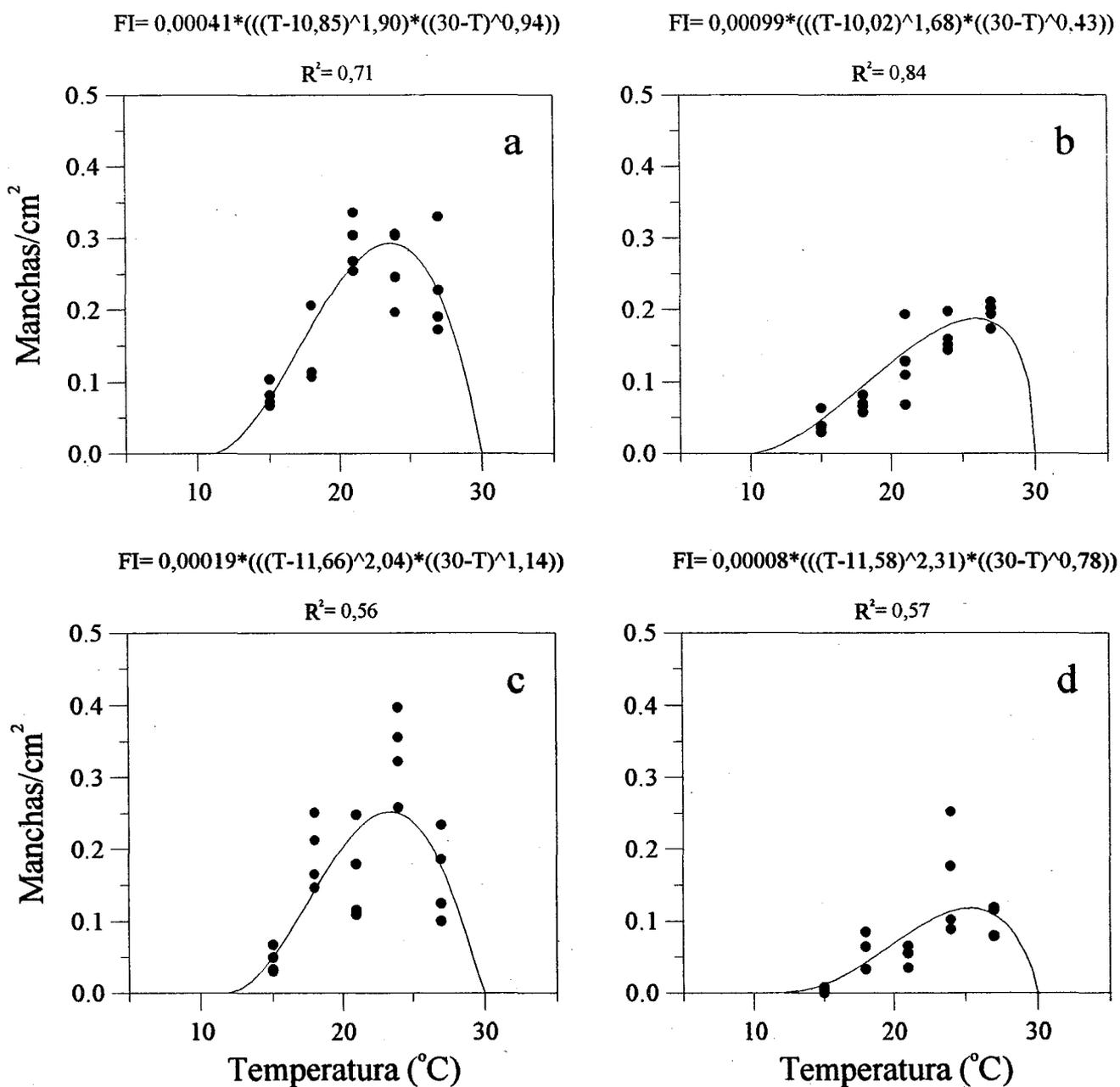
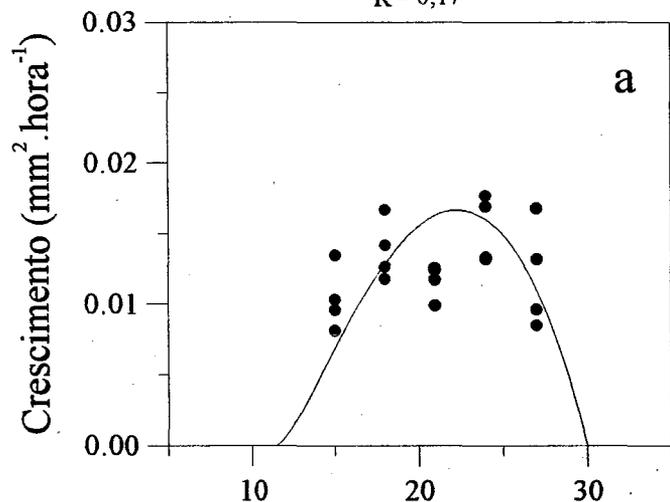


Figura 10. Frequência de infecção (manchas/cm²) da mancha angular do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C).

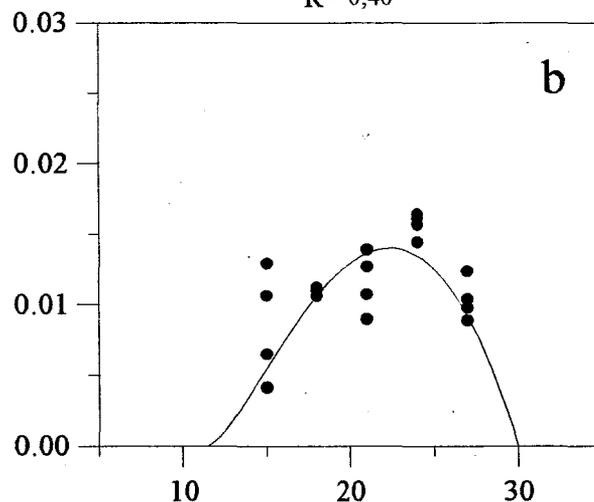
$$TC = 0,000094 * ((T - 11,5)^{1,35}) * ((30 - T)^{0,96})$$

$$R^2 = 0,17$$



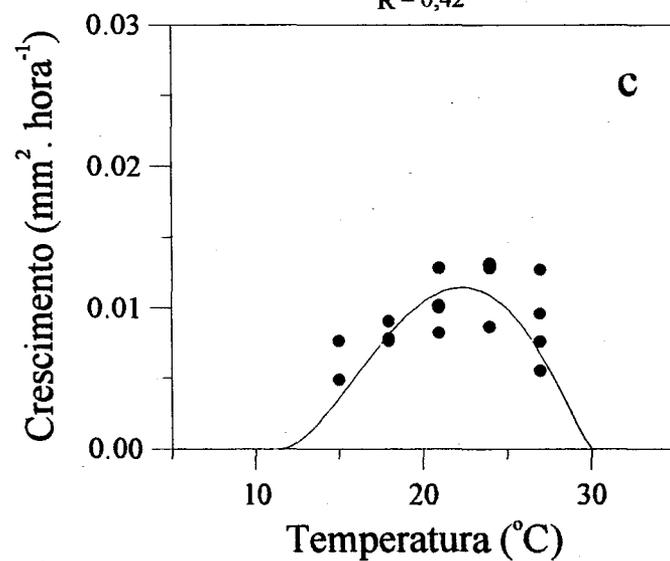
$$TC = 0,000063 * ((T - 11,5)^{1,42}) * ((30 - T)^{0,99})$$

$$R^2 = 0,40$$



$$TC = 0,000014 * ((T - 11,5)^{1,76}) * ((30 - T)^{1,24})$$

$$R^2 = 0,42$$



$$TC = 0,000030 * ((T - 11,5)^{1,49}) * ((30 - T)^{1,05})$$

$$R^2 = 0,29$$

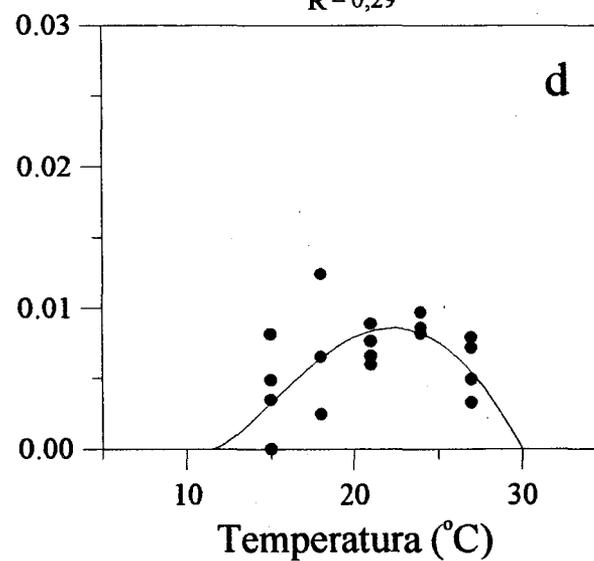


Figura 11. Taxa de crescimento das manchas (mm^2/hora) da mancha angular do feijoeiro nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas ($^{\circ}\text{C}$).

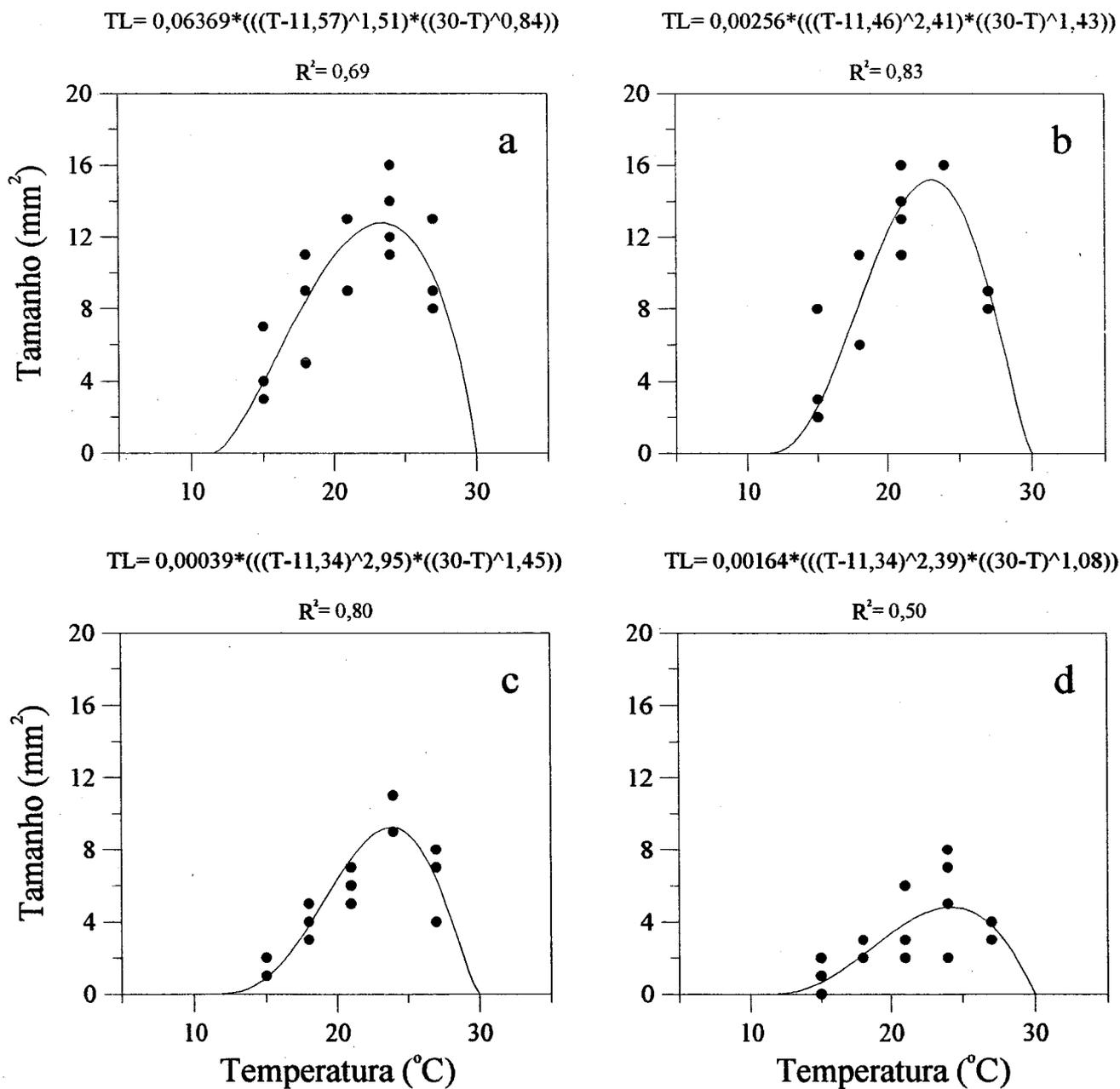


Figura 12. Tamanho de manchas (mm²) da mancha angular do feijoeiro 16 dias após a inoculação com *Phaeoisariopsis griseola* nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C).

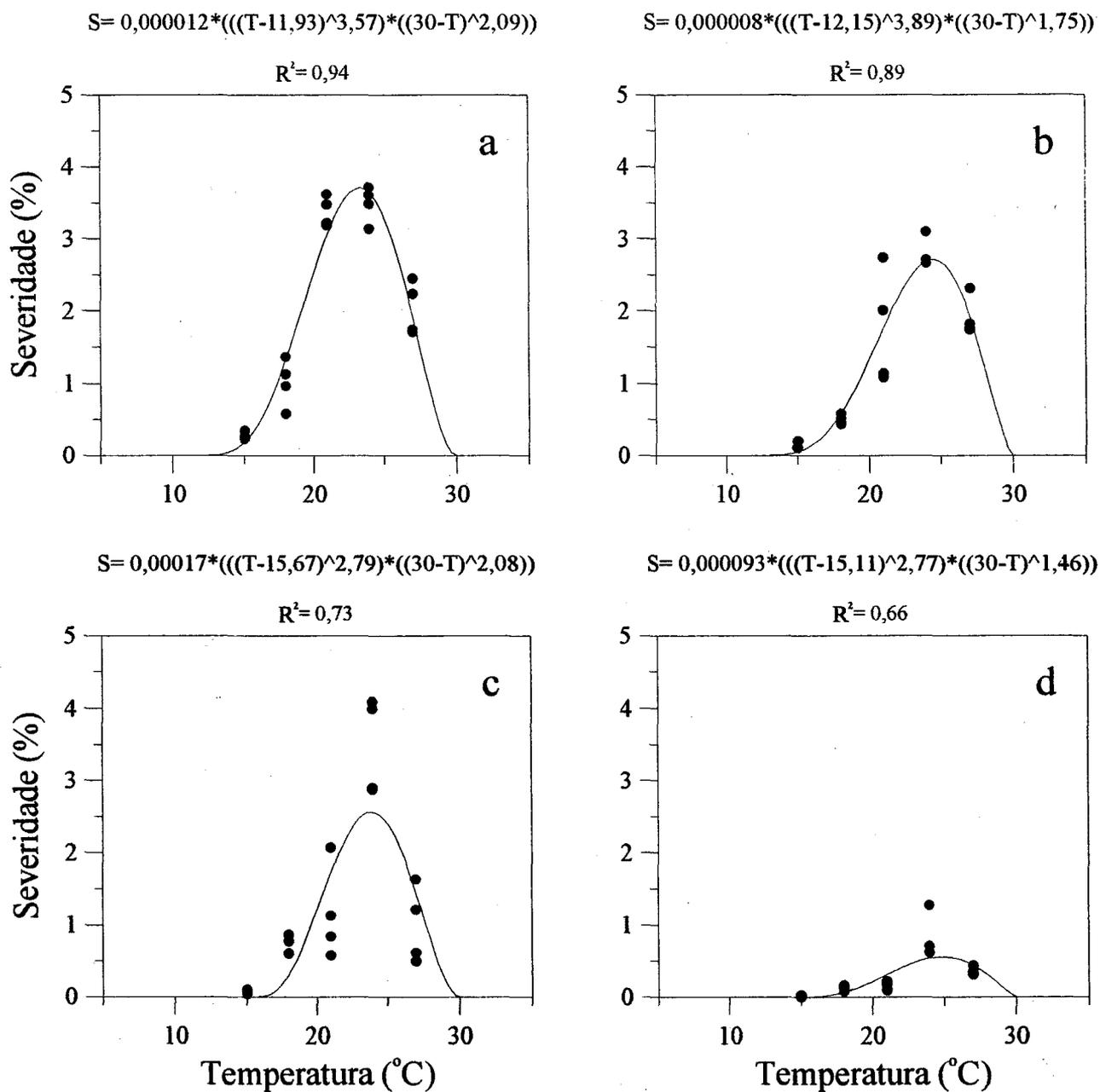


Figura 13. Severidade (%) da mancha angular do feijoeiro 16 dias após a inoculação com *Phaeoisariopsis griseola* nas variedades Rosinha (a, c) e Carioca (b, d) sem infecção (a, b) e pré-infectadas (c, d) com o vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro em diferentes temperaturas (°C).

27°C. Considerando que a variedade Carioca tem sido apontada como mais resistente à mancha angular que a variedade Rosinha, este resultado parece ser contraditório. Entretanto, considerando o tempo entre a inoculação e o aparecimento das primeiras manchas não foram observadas diferenças entre as variedades.

Em todos os casos, a temperatura que proporcionou o menor período de incubação foi 24°C, concordando com os relatos de LLANOS (1957), OLAVE (1958), CAMPOS & ZAK (1980) e SARTORATO & RAVA (1994). A 24°C, o período de incubação foi ao redor de 10 e 9,5 dias para as variedades Rosinha e Carioca, respectivamente. OLAVE (1958) notou que os primeiros sintomas apareceram 8 dias após a inoculação quando as plantas foram mantidas a 24,5°C com aproximadamente 100% de umidade relativa, porém CAMPOS & ZAK (1980) observaram o aparecimento dos sintomas aos 12 dias após a inoculação.

Na Figura 10a-d observa-se que a frequência de infecção, dada pelo número de manchas por cm², foi bem menor na variedade Carioca (Figura 10b,d) em relação à variedade Rosinha (Figura 10a,c), confirmando a maior suscetibilidade da variedade Rosinha à mancha angular descrita anteriormente.

A frequência de infecção foi bastante reduzida nas plantas da variedade Carioca pré-infectadas com vírus (Figura 10d) em relação às plantas livres de vírus (Figura 10b), sendo a redução da ordem de 44% em média. Já para a variedade Rosinha pré-infectada com vírus (Figura 10c), a redução na frequência de infecção foi de 14% em média quando comparada com plantas livres de vírus. Observa-se, então, uma ação diferenciada do vírus sobre o desenvolvimento da mancha angular dependendo da variedade de feijoeiro.

A maior frequência de infecção na variedade Rosinha (Figura 10a,c) foi obtida no intervalo de 21-26°C tanto para plantas com ou sem vírus. Para a variedade Carioca (Figura 10b,d), a maior frequência de infecção ocorreu entre 24 e 26°C. A variedade Rosinha apresenta uma faixa mais ampla em que a frequência de infecção é elevada, indo de 18 a 27°C, e a variedade Carioca tem uma faixa menor, de 21 a 27°C.

CARDONA-ALVAREZ & WALKER (1956) e SAETTLER (1991) apontam como requisito primordial para que a infecção ocorra e a doença se desenvolva rapidamente, temperatura ótima de 24°C, com mínima de 16°C e máxima de 28°C, não sendo observada infecção a 32°C.

O efeito da temperatura na taxa de crescimento das manchas pode ser visto na Figura 11a-d. Neste caso, o modelo de regressão utilizado não explicou a variação dos dados. Na variedade Rosinha livre de vírus (Figura 11a), por exemplo, obteve-se taxas semelhantes de crescimento de lesão, ao redor de 0,013 mm²/hora, para todas temperaturas testadas e o coeficiente de determinação foi apenas 0,17. Na variedade Carioca, por sua vez, temperaturas mais baixas mostram alta dispersão de dados. Nesta variedade, o crescimento de lesões é favorecido no intervalo 21-27°C, mas, ainda neste caso, baixos valores de R² (0,40 e 0,29) para plantas sem e com pré-infecção viral, respectivamente, foram obtidos. O crescimento deste fungo em meio de cultura tem sido observado a partir de 8°C; aumenta com o incremento da temperatura até um ótimo de 24°C e decresce abruptamente a 28°C, não tendo sido observado a temperaturas superiores a 30°C (CARDONA-ALVAREZ & WALKER, 1956; CAMPOS & ZAK, 1980).

A variedade Rosinha (Figura 11a) apresentou taxas de crescimento semelhantes às da variedade Carioca (Figura 11b) quando as plantas estavam livres de vírus, porém nas plantas pré-infectadas com vírus, a variedade Rosinha (Figura 11c) teve taxas de crescimento das manchas ligeiramente maiores que as da variedade Carioca (Figura 11d). A taxa de crescimento das manchas foi reduzida nas plantas pré-inoculadas com vírus (Figura 11c,d) principalmente na variedade Carioca. A redução foi em média de 26% e 42% para as variedades Rosinha e Carioca, respectivamente. De alguma forma, o vírus afeta a velocidade de colonização dos tecidos pelo agente causal da mancha angular, possivelmente pela ativação de mecanismos de resistência da planta.

Como consequência da redução na taxa de crescimento das manchas, houve uma redução no tamanho das manchas aos 16 dias após a inoculação do fungo nas plantas

com a virose (Figura 12c,d) em relação às plantas sem a virose (Figura 12a,b), da ordem de 43% e 69% para as variedades Rosinha e Carioca, respectivamente. Estes resultados confirmam a tendência encontrada na taxa de crescimento das manchas nas plantas pré-infectadas com vírus. Da mesma forma não houve diferença significativa no tamanho das manchas entre as variedades quando livres de vírus e o maior tamanho das manchas aos 16 dias após a inoculação do fungo foi obtido ao redor de 21 a 24°C. Estes resultados corroboram os resultados de INGLIS & HAGEDORN (1986), em que as maiores lesões foram obtidas após incubação e pós-incubação a 24°C e as menores lesões, após incubação a 28 ou 16°C e pós-incubação a 16°C.

Na Figura 13a-d é observado o efeito da temperatura sobre a severidade da mancha angular aos 16 dias após a inoculação com o fungo. A maior severidade ocorreu ao redor dos 24°C, concordando com os resultados obtidos por LLANOS (1957) em que tanto a severidade da doença, como o desfolhamento e a clorose devidos à infecção ocorreram em maior intensidade e precocemente em plantas mantidas a 24 ou 30°C do que a 16°C. Da mesma forma, INGLIS & HAGEDORN (1986) observaram 100% de desfolha após a incubação a 24 e 28°C e pós-incubação a 20 e 24°C, 60-67% após incubação a 20°C e pós-incubação a 20 e 24°C e muito pouca desfolha após incubação e pós-incubação a 16 ou 28°C.

Entre as variedades, percebe-se uma ligeira diferença, sendo a severidade maior na variedade Rosinha (Figura 13a,c) que na variedade Carioca (Figura 13b,d). Sendo a severidade dependente dos parâmetros freqüência de infecção e tamanho da lesão, já era esperado que houvesse essa diferença entre as variedades Rosinha (altamente suscetível) e Carioca (moderadamente suscetível). Da mesma forma, ocorreu uma acentuada redução na severidade da mancha angular das plantas pré-inoculadas com vírus (Figura 13c,d) em relação às plantas livres de vírus (Figura 13a,b). Na variedade Rosinha, a redução foi, em média, de 44% e na variedade Carioca, de 83%. A ordem de resistência das variedades à mancha angular não foi alterada pela pré-infecção com vírus.

Da mesma forma que observado para a interação vírus-ferrugem, a pré-infecção pelo vírus não acarretou mudanças na faixa ótima de temperatura para a ocorrência e o desenvolvimento da mancha angular. No entanto, nas duas variedades estudadas, os parâmetros monocíclicos, excetuando-se o período de incubação, foram reduzidos pela pré-infecção viral.

Os efeitos deste tipo de interação, se não considerados, podem refletir-se em decisões erradas no manejo da mancha angular. GODOY (1995), por exemplo, determinou relações de dano devido à mancha angular, nas variedades Rosinha e Carioca, mas estas serão alteradas caso ocorram no campo as duas doenças simultaneamente.

4.3. Efeito das doenças, isoladas e em conjunto, sobre a eficiência fotossintética das folhas de feijoeiro

4.3.1. Severidade das doenças obtidas nos experimentos de fotossíntese

As severidades das doenças fúngicas (% de área foliar com lesão) obtidas nestes experimentos estão apresentadas na Tabela 01. A severidade do vírus foi avaliada em função da intensidade dos sintomas e foram observados em todos os experimentos, sem diferença entre variedades, sintomas severos da virose, como: mosaico sistêmico, formando um desenho na lâmina foliar, deformação dos bordos foliares e redução do tamanho das folhas.

Tabela 01. Severidade da ferrugem e da mancha angular (% de área foliar com lesão) em folhas de feijoeiro, das variedades Rosinha e Carioca, sem e com infecção viral sistêmica, na época da avaliação dos parâmetros de fotossíntese (média \pm erro padrão, 7 repetições).

Severidade (%)	<i>Ferrugem</i>	<i>Mancha angular</i>
<i>var. Rosinha</i>		
sem vírus	31,6 \pm 2,1	32,4 \pm 4,8
com vírus	3,9 \pm 0,8	14,7 \pm 3,0
<i>var. Carioca</i>		
sem vírus	23,2 \pm 2,4	11,8 \pm 2,0
com vírus	7,4 \pm 3,0	4,4 \pm 0,7

As variedades apresentaram diferentes respostas de resistência tanto para a ferrugem quanto para a mancha angular, sendo a variedade Rosinha mais suscetível em ambos os casos, confirmando os resultados obtidos nos experimentos de avaliação de parâmetros monocíclicos (itens 4.1. e 4.2.). Dentro de cada variedade, a severidade não teve grande variação, permitindo a comparação entre os resultados de cada bloco avaliado.

Novamente, as plantas pré-infectadas com vírus reduziram substancialmente a severidade das doenças fúngicas estudadas. No caso da ferrugem, as reduções foram de 88% e 68% e, para a mancha angular, foram de 55% e 63%, para as variedades Rosinha e Carioca, respectivamente.

Em função desta redução na severidade das doenças fúngicas, o efeito da interação (vírus + fungo) na eficiência fotossintética das folhas de feijoeiro foi muito semelhante ao efeito causado pelo vírus separadamente. Este fato é relevante quando o objetivo for a quantificação dos danos causados por estas doenças conjuntamente na cultura do feijoeiro.

4.3.2. Clorofila total, respiração e assimilação de CO₂

Nas Tabelas 02 e 03 são apresentados os resultados do conteúdo de clorofila total, da taxa de respiração no escuro e da taxa líquida de assimilação de CO₂ com base na área foliar e no conteúdo de clorofila das folhas saudias, com ferrugem, com virose e com virosé + ferrugem.

De uma maneira geral, o efeito da interação (vírus + ferrugem), apesar de algumas vezes ser maior, não foi significativamente diferente do efeito do vírus sozinho, e, desta forma, os resultados obtidos para ambos serão discutidos conjuntamente. Observou-se que a virose diminuiu, geralmente, o conteúdo de clorofila das folhas, a assimilação de CO₂ com base na área foliar, tanto em baixa como alta intensidade de luz, mas não afetou, significativamente, a respiração e a assimilação de CO₂ com base no conteúdo de clorofila.

Tabela 02. Clorofila total (mg.m⁻²), taxa de respiração (μmol CO₂.m⁻².s⁻¹) e taxa de assimilação líquida de CO₂ com base na área foliar (μmol CO₂.m⁻².s⁻¹) e no conteúdo de clorofila (μmol CO₂.mg clorofila⁻¹.s⁻¹) em folhas da variedade Rosinha saudias (controle), com ferrugem, com virose e com virose + ferrugem, a baixa (150μmol.m⁻².s⁻¹) e alta (1200μmol.m⁻².s⁻¹) intensidade de luz. Valores expressos nas suas respectivas unidades ± erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições).

Parâmetros	Controle	Ferrugem	Virose	Virose + Ferrugem
<i>Clorofila total</i>	432,98 ± 20,62 c	66 a	67 ab	60 a
<i>Respiração</i>	0,677 ± 0,133 a	226 c	111 ab	104 a
<i>Assimilação/área</i>				
luz baixa	3,090 ± 0,282 d	49 a	73 bc	69 ab
luz alta	9,756 ± 0,846 c	49 a	57 ab	55 a
<i>Assimilação/clor.</i>				
luz baixa	0,007 ± 0,001 ab	72 a	110 ab	117 b
luz alta	0,023 ± 0,002 b	72 a	84 ab	91 ab

Letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 03. Clorofila total ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$), taxa de respiração ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e taxa de assimilação líquida de CO_2 com base na área foliar ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e no conteúdo de clorofila ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mg clorofila}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) em folhas da variedade Carioca sadias (controle), com ferrugem, com virose e com virose + ferrugem, a baixa ($150\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos nas suas respectivas unidades \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições).

Parâmetros	Controle	Ferrugem	Virose	Virose + Ferrugem
Clorofila total	287,74 \pm 17,11 b	82 ab	91 ab	81 a
Respiração	1,098 \pm 0,211 a	151 b	92 a	116 ab
Assimilação/área				
luz baixa	4,598 \pm 0,480 b	24 ab	24 ab	36 a
luz alta	10,037 \pm 0,957 c	72 ab	71 a	54 a
Assimilação/ clor.				
luz baixa	0,017 \pm 0,002 a	93 a	81 a	79 a
luz alta	0,036 \pm 0,004 b	91 ab	77 ab	68 a

Letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

O efeito mais comum observado em tecidos infectados com vírus é a diminuição da taxa fotossintética líquida quando comparada em base de, por exemplo, área foliar, com um controle sadio. Entretanto, as mudanças bioquímicas e fisiológicas induzidas pela infecção viral são de difícil definição (MATTHEWS, 1991).

Embora existam diferenças marcantes entre as diferentes combinações vírus/hospedeiro, algumas características comuns podem ser levantadas. Para a multiplicação do vírus, ele utiliza os produtos primários da fotossíntese e estimula a biossíntese de compostos, como aminoácidos, necessários para sua replicação. Em todas as interações entre vírus sistêmicos e hospedeiro, que resultam em sintomas visíveis de clorose, existem mudanças na morfologia e metabolismo dos cloroplastos afetando o processo da fotossíntese (GOODMAN *et alii*, 1986). A redução do número de cloroplastos nos tecidos cloróticos e, mais significativamente, a formação de anormalidades nos cloroplastos são características comuns em várias infecções por vírus.

As anormalidades podem incluir mudanças na morfologia externa e no tamanho, desorganização ou desenvolvimento prejudicado da lamela, vesiculação da membrana, invaginação citoplasmática, acúmulo de fitoferretina, acúmulo de grãos de amido e agregação dos cloroplastos (GOODMAN *et alii*, 1986). A clorose dos tecidos infectados sistemicamente é sempre acompanhada pela redução do conteúdo de clorofila, sendo observada em muitos patossistemas, entre eles vírus do mosaico da soja-soja, vírus do mosaico comum do feijoeiro-feijoeiro e vírus do mosaico da alface-alface (OMAR *et alii*, 1986). Estes autores concluíram que a redução da clorofila, embora não muito grande, contribuiu para a redução da fotossíntese. Entretanto, a redução da atividade do PSII não é totalmente resultante da redução do conteúdo de clorofila, mas, também, da redução da concentração de plastoquinona, redução da atividade da reação de Hill e fotofosforilação, diminuição da assimilação de CO₂ e acúmulo de carboidratos nos tecidos (GOODMAN *et alii*, 1986). Os resultados mostram que a assimilação de CO₂ com base no conteúdo de clorofila não é significativamente afetada pela infecção viral, o que levaria à conclusão de que a redução da taxa fotossintética nestas folhas foi devida, apenas, à redução do conteúdo de clorofila nas folhas infectadas. Contudo, os dados mostram uma tendência, principalmente na luz alta, de uma menor assimilação de CO₂ com base no conteúdo de clorofila pelas folhas infectadas com vírus (as reduções na assimilação de CO₂ com base na área foliar são sempre maiores que as reduções no conteúdo de clorofila), indicando que a eficiência da clorofila remanescente está ligeiramente afetada e que outros fatores estão ligados à redução da assimilação de CO₂.

A respiração das plantas infectadas com vírus não foi estatisticamente diferente da respiração das plantas saudáveis, mas mostrou uma tendência a ser maior nas plantas infectadas. Infecções sistêmicas geralmente estimulam, apenas marginalmente, a taxa respiratória quando medida em termos de consumo de O₂ ou evolução de CO₂. Segundo MATTHEWS (1991), em uma infecção viral sistêmica não existem mudanças consideráveis no ciclo da respiração. Evidências, embora limitadas, sugerem que as

mudanças respiratórias nas plantas são uma resposta às mudanças induzidas pelo vírus no hospedeiro ao invés de uma resposta à demanda de energia para a replicação do vírus.

Em relação à ferrugem, observa-se que, no geral, ocorreu uma redução no conteúdo total de clorofila proporcional à severidade da doença, mas a assimilação líquida de CO₂, com base na área foliar, já na baixa intensidade de luz, decresceu proporcionalmente mais do que o decréscimo do conteúdo de clorofila e do que o valor de severidade. Na maioria das interações hospedeiro/patógeno biotrófico (parasita obrigatório), a fotossíntese líquida e a clorofila diminuem no tecido, com o progresso da doença (SCHOLES, 1992). LIVNE (1964) concluiu que a diminuição da capacidade fotossintética de folhas de feijoeiro com ferrugem foi, provavelmente, devida à perda de clorofila. Entretanto, estudos monitorando a fotossíntese em doenças causadas por patógenos biotróficos têm mostrado que a situação é mais complicada, havendo outros fatores que contribuem para a redução da fotossíntese além da simples destruição de clorofila (GOODMAN *et alii*, 1986). No caso da ferrugem do feijoeiro, a redução da taxa líquida de assimilação de CO₂ estaria também associada ao metabolismo do fungo, que absorve os produtos fotossintetizados, acumulando carboidratos e resultando em mudanças nos padrões de translocação através da planta (LIVNE & DALY, 1966). Também, estaria associada ao aumento da respiração da folha e/ou do fungo (RAGGI, 1980).

Assim, o conceito de lesão virtual, proposto por BASTIAANS (1991), no qual a doença causa um efeito na taxa de fotossíntese maior que o efeito esperado com base na área da lesão visível, deveria ser aplicado para este patossistema na quantificação de danos. Este conceito parte do princípio de que para alguns patossistemas a redução da taxa de fotossíntese deve-se, além da redução da área foliar pela formação das lesões, a um efeito do patógeno na fotossíntese do tecido foliar verde ao redor das lesões. A lesão virtual seria a lesão visível mais um halo ao redor da lesão no qual a atividade fotossintética é negligível. O tamanho deste halo é escolhido de tal forma que a redução da taxa de fotossíntese seja totalmente explicada. A razão entre a lesão virtual e a lesão

visível, expressa pelo parâmetro β , caracteriza o efeito da doença na taxa de fotossíntese da folha. Valores de β maiores que 1 demonstram que o efeito da doença na taxa de fotossíntese é β vezes maior que o esperado com base no tamanho da lesão visível.

Também é observado um aumento significativo da respiração das folhas com ferrugem. Um aumento na taxa respiratória foi observado em vários patossistemas, incluindo as ferrugens (SHAW, 1963). O aumento na respiração usualmente ocorre com o aparecimento dos primeiros sintomas visíveis, aumenta até um máximo na esporulação, e, posteriormente, declina. Frequentemente é sugerido que o aumento da respiração ocorre devido à respiração do tecido do hospedeiro e que a participação direta do patógeno é negligível, apesar de que a extensão na qual o fungo participa não é, ainda, clara (GOODMAN *et alii*, 1986).

Nas Tabelas 04 e 05 são apresentados os resultados do conteúdo de clorofila total, da taxa de respiração no escuro e da taxa líquida de assimilação de CO_2 com base na área foliar e no conteúdo de clorofila das folhas saudáveis, com mancha angular, com virose e com virose + mancha angular.

Os resultados das folhas com virose e com virose + mancha angular seguiram a mesma tendência descrita anteriormente nas Tabelas 02 e 03, não havendo diferenças significativas entre os dois tratamentos, apesar de uma tendência dos efeitos serem ligeiramente maiores no caso da interação. Desta forma, torna-se desnecessária a discussão novamente.

Em relação à mancha angular, observa-se que, no geral, ocorreu uma redução no conteúdo total de clorofila semelhante à severidade da doença, mas a redução da assimilação líquida de CO_2 , com base na área foliar, foi proporcionalmente maior. A redução na taxa de assimilação líquida de CO_2 já é percebida tanto na baixa quanto na alta intensidade de luz nas folhas doentes.

Tabela 04. Clorofila total ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$), taxa de respiração ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e taxa de assimilação líquida de CO_2 com base na área foliar ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e no conteúdo de clorofila ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mg clorofila}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) em folhas da variedade Rosinha sadias (controle), com mancha angular, com virose e com virose + mancha angular, a baixa ($150\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos nas suas respectivas unidades \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições).

Parâmetros	Controle	Mancha angular	Virose	Virose + Mancha angular
Clorofila total	381,50 \pm 10,94 c	67 a	84 bc	75 ab
Respiração	0,662 \pm 0,140 a	153 b	126 ab	160 b
Assimilação/área				
luz baixa	3,193 \pm 0,603 b	48 a	68 ab	52 a
luz alta	7,887 \pm 0,999 c	52 a	70 ab	58 a
Assimilação/clor.				
luz baixa	0,008 \pm 0,002 a	69 a	76 a	71 a
luz alta	0,021 \pm 0,003 a	77 a	83 a	78 a

Letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Nas interações hospedeiro/patógeno hemibiotrófico (parasita facultativo), onde o processo doença termina em necrose, a fotossíntese líquida é afetada primariamente pela degeneração dos cloroplastos, resultando na perda de clorofila e na redução da fixação de CO_2 (GOODMAN *et alii*, 1986). Apesar de não haver diferença estatística entre a assimilação de CO_2 com base no conteúdo de clorofila entre folhas sadias e com mancha angular, existe uma tendência desta ser menor nas folhas com mancha angular. Parasitas facultativos colonizam e esporulam em tecido necrosado, ocupando o substrato através da sua destruição, por exemplo, pela ação de toxinas (LUTTREL, 1974). Desta forma, o tecido imediatamente ao lado da lesão necrótica já estaria sendo afetado pela ação do fungo e a taxa de assimilação de CO_2 seria afetada em um nível maior que com base na lesão visual. Novamente, o conceito de lesão virtual, proposto por BASTIAANS (1991), deveria ser aplicado para este patossistema na quantificação de danos. GODOY (1995)

Tabela 05. Clorofila total ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$), taxa de respiração ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e taxa de assimilação líquida de CO_2 com base na área foliar ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e no conteúdo de clorofila ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mg clorofila}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) em folhas da variedade Carioca sadias (controle), com mancha angular, com virose e com virose + mancha angular, a baixa ($150\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos nas suas respectivas unidades \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições).

Parâmetros	Controle	Mancha angular	Virose	Virose + Mancha angular
Clorofila total	507,13 \pm 28,06 c	75 ab	74 a	71 a
Respiração	0,721 \pm 0,162 a	142 a	102 a	94 a
Assimilação/área				
luz baixa	2,340 \pm 0,330 a	87 a	91 a	92 a
luz alta	7,210 \pm 0,961 b	74 ab	63 a	67 a
Assimilação/clor.				
luz baixa	0,005 \pm 0,001 a	110 a	119 a	123 a
luz alta	0,015 \pm 0,002 a	96 a	83 a	92 a

Letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

aponta a necessidade de estudos mais avançados sobre o efeito da mancha angular na fotossíntese de folhas de feijoeiro para avaliar se o efeito da doença é devido somente à redução do tecido foliar ou a um efeito na utilização da radiação interceptada pela cultura.

Também é observado um aumento significativo da respiração das folhas com mancha angular, da mesma forma que as folhas com ferrugem.

As variedades, devido à diferença de resistência, tiveram comportamentos diferentes em relação aos parâmetros avaliados. A variedade Rosinha, que apresentou maiores severidades de ferrugem e mancha angular, teve uma maior redução no conteúdo de clorofila que a variedade Carioca. A redução na variedade Rosinha foi de 34% e 33% e na variedade Carioca, de 18% e 25% para folhas com ferrugem e mancha angular, respectivamente.

Da mesma forma, as reduções nas taxas de assimilação de CO₂ com base na área foliar foram maiores na variedade Rosinha, sendo 51% e 48% para folhas com ferrugem e mancha angular, respectivamente. Na variedade Carioca, foram de 28% e 26%. O mesmo ocorreu para as taxas de assimilação de CO₂ com base no conteúdo de clorofila.

A respiração foi invariavelmente maior na variedade Rosinha que na variedade Carioca para ambas doenças fúngicas. Os aumentos da respiração, nas folhas com ferrugem, foram de 126% e 51% e, para as folhas com mancha angular, foram de 53% e 42% para as variedades Rosinha e Carioca, respectivamente.

Estes resultados confirmam a maior suscetibilidade da variedade Rosinha, em relação à variedade Carioca, para as doenças ferrugem e mancha angular.

No caso da virose, os dados foram inconsistentes em relação às variedades, sendo que estas apresentaram reações semelhantes de suscetibilidade ao vírus, confirmando os resultados de DALLA PRIA *et alii* (1994).

4.3.3. Fluorescência da clorofila *a*

4.3.3.1. ϕ PSII, $F'v/F'm$, qP e qNP

Os resultados são apresentados para as duas intensidades de luz (luz baixa = 150 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; luz alta = 1200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), mas as discussões serão feitas somente para a alta intensidade de luz, uma vez que os efeitos foram menos evidentes sob baixa intensidade de luz, havendo pouca ou nenhuma diferença entre os tratamentos na análise dos parâmetros de fluorescência.

Os parâmetros de fluorescência, medidos conjuntamente com a assimilação de CO₂, para as plantas sadias (controle), com ferrugem, com virose e com virose + ferrugem são apresentados nas Tabelas 06 e 07. Da mesma forma, os parâmetros de fluorescência relativos ao experimento com mancha angular e sua interação com a virose são apresentados nas Tabelas 08 e 09.

Tabela 06. Parâmetros de fluorescência (F_v/F_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro; ϕ_{PSII} = eficiência quântica das reações fotoquímicas; $F'v/F'm$ = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas na luz; qP = “quenching” fotoquímico e qNP = “quenching” não-fotoquímico), em folhas da variedade Rosinha sadias (controle), com ferrugem, com virose e com virose + ferrugem, a baixa ($150\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos em unidades arbitrárias \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições).

Parâmetros de Fluorescência	Controle	Ferrugem	Virose	Virose + Ferrugem
F_v/F_m	0,819 \pm 0,002 b	98 a	99 ab	98 a
ϕ_{PSII}				
luz baixa	0,724 \pm 0,004 b	93 a	96 ab	94 a
luz alta	0,290 \pm 0,016 c	59 a	69 ab	61 a
$F'v/F'm$				
luz baixa	0,778 \pm 0,003 a	98 a	100 a	99 a
luz alta	0,457 \pm 0,010 b	95 ab	90 a	92 a
qP				
luz baixa	0,931 \pm 0,005 c	94 a	96 ab	95 a
luz alta	0,634 \pm 0,027 b	62 a	76 ab	67 a
qNP				
luz baixa	0,209 \pm 0,007 a	105 a	104 a	119 a
luz alta	0,809 \pm 0,009 a	101 ab	104 c	103 bc

Letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Os resultados obtidos para as interações, virose + ferrugem (Tabelas 06 e 07) e virose + mancha angular (Tabelas 08 e 09), e para a virose foram, novamente, semelhantes, não diferindo estatisticamente. Entretanto, há uma certa tendência dos parâmetros de fluorescência para as interações serem menores que os encontrados para a virose isolada. Mesmo assim, os resultados foram analisados em conjunto da mesma forma que no item 4.3.2.

Tabela 07. Parâmetros de fluorescência (F_v/F_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro; ϕ_{PSII} = eficiência quântica das reações fotoquímicas; $F'v/F'm$ = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas na luz; qP = “quenching” fotoquímico e qNP = “quenching” não-fotoquímico), em folhas da variedade Carioca sadias (controle), com ferrugem, com virose e com virose + ferrugem, a baixa ($150\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos em unidades arbitrárias \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições).

Parâmetros de Fluorescência	Controle	Ferrugem	Virose	Virose + Ferrugem
F_v/F_m	0,795 \pm 0,003 a	98 a	100 a	99 a
ϕ_{PSII}				
luz baixa	0,698 \pm 0,009 a	93 a	98 a	93 a
luz alta	0,184 \pm 0,013 a	78 a	90 a	76 a
$F'v/F'm$				
luz baixa	0,762 \pm 0,002 a	98 a	100 a	96 a
luz alta	0,352 \pm 0,012 ab	107 b	97 ab	96 a
qP				
luz baixa	0,916 \pm 0,012 b	95 a	98 ab	97 ab
luz alta	0,520 \pm 0,026 a	73 a	93 a	80 a
qNP				
luz baixa	0,217 \pm 0,009 a	114 a	108 a	133 a
luz alta	0,866 \pm 0,007 ab	98 a	101 b	101 b

Letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Apesar da redução da assimilação líquida de CO_2 ser da ordem de 30-45% nas folhas infectadas com vírus, as reduções na eficiência quântica do PSII em folhas adaptadas no escuro (F_v/F_m), não ocorreram na mesma grandeza, ficando em torno de 0 a 4% e, na maioria dos casos, não tendo diferenças significativas em relação ao controle. Da mesma forma, as reduções na eficiência potencial de captura dos éxcitons no PSII ($F'v/F'm$) não foram significativas (1 a 10%) juntamente com os aumentos no

Tabela 08. Parâmetros de fluorescência (F_v/F_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro; ϕ_{PSII} = eficiência quântica das reações fotoquímicas; $F'v/F'm$ = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas na luz; qP = “quenching” fotoquímico e qNP = “quenching” não-fotoquímico), em folhas da variedade Rosinha sadias (controle), com mancha angular, com virose e com virose + mancha angular, a baixa ($150\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos em unidades arbitrárias \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições).

Parâmetros de Fluorescência	Controle	Mancha angular	Virose	Virose + Mancha angular
F_v/F_m	0,818 \pm 0,001 b	88 a	100 b	96 ab
ϕ_{PSII}				
luz baixa	0,702 \pm 0,007 b	81 a	98 ab	94 ab
luz alta	0,214 \pm 0,016 a	71 a	87 a	88 a
$F'v/F'm$				
luz baixa	0,773 \pm 0,004 a	87 a	99 a	97 a
luz alta	0,431 \pm 0,004 b	81 a	99 b	95 ab
qP				
luz baixa	0,908 \pm 0,007 b	91 a	98 ab	97 ab
luz alta	0,494 \pm 0,034 a	90 a	88 a	93 a
qNP				
luz baixa	0,283 \pm 0,022 a	68 a	102 a	60 a
luz alta	0,835 \pm 0,006 a	98 a	100 a	98 a

Letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

“quenching” não-fotoquímico (qNP) (0 a 4%). O efeito mais evidente da virose nos parâmetros de fluorescência, ocorreu pela redução do “quenching” fotoquímico (qP) e, conseqüentemente, da eficiência quântica do PSII na luz (ϕ_{PSII}), mas os resultados nem sempre foram estatisticamente diferentes do controle. As reduções no qP foram da ordem de 10 a 25% e, no ϕ_{PSII} , de 10 a 40%.

Tabela 09. Parâmetros de fluorescência (F_v/F_m = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro; ϕ_{PSII} = eficiência quântica das reações fotoquímicas; $F'v/F'm$ = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas na luz; qP = “quenching” fotoquímico e qNP = “quenching” não-fotoquímico), em folhas da variedade Carioca sadias (controle), com mancha angular, com virose e com virose + mancha angular, a baixa ($150\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e alta ($1200\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) intensidade de luz. Valores expressos em unidades arbitrárias \pm erro padrão para o controle e em % do controle para as folhas infectadas (média de 7 repetições).

Parâmetros de Fluorescência	Controle	Mancha angular	Virose	Virose + Mancha angular
F_v/F_m	0,829 \pm 0,001 c	98 a	98 ab	97 a
ϕ_{PSII}				
luz baixa	0,722 \pm 0,006 b	95 a	97 ab	95 a
luz alta	0,319 \pm 0,031 c	68 a	70 ab	69 a
$F'v/F'm$				
luz baixa	0,777 \pm 0,002 a	99 a	100 a	100 a
luz alta	0,447 \pm 0,016 c	89 a	90 ab	89 a
qP				
luz baixa	0,930 \pm 0,010 b	96 a	97 ab	96 ab
luz alta	0,705 \pm 0,046 c	78 a	78 ab	78 a
qNP				
luz baixa	0,284 \pm 0,010 b	86 a	88 ab	82 a
luz alta	0,832 \pm 0,010 a	102 a	103 a	102 a

Letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Em relação às folhas com ferrugem (Tabelas 06 e 07), observam-se resultados semelhantes aos das plantas infectadas por vírus, porém de maior amplitude, principalmente, na variedade Rosinha (Tabela 06). Novamente, a redução da assimilação líquida de CO_2 foi maior, proporcionalmente, que as reduções nos parâmetros F_v/F_m (2%) e $F'v/F'm$ (5%) e que o aumento do qNP (1%). Entretanto, as diferenças, quase sempre, não foram significativas. O principal efeito observado foi a redução do ϕ_{PSII} (20 a 40%), principalmente devida à redução do qP (25 a 40%), que

foram significativas para a variedade Rosinha e não significativas para a variedade Carioca (Tabela 07).

Esta não alteração nos parâmetros de F_v/F_m e $F'v/F'm$, nas folhas com virose e/ou com ferrugem, mostra que do ponto de vista da capacidade de transporte de elétrons e geração de ATP e NADPH as folhas doentes não estão sendo afetadas. Logo, a diminuição da atividade fotossintética deve ser devido a outro fator ligado ao metabolismo do carbono como uma redução na atividade ou quantidade de enzimas do Ciclo de Calvin ou acúmulo de açúcares.

A redução do qP , implica numa menor capacidade de re-oxidação dos aceptores de elétrons, que torna-os prontos para receber e dar continuidade ao transporte de elétrons. A ação destes patógenos estaria, de certa forma, ligada a este processo.

Tanto o vírus, como o agente causal da ferrugem, são patógenos biotróficos e necessitam do tecido vivo do hospedeiro para poder se desenvolver. Neste raciocínio, pode-se inferir que os mecanismos pelos quais estes patógenos interferem na fotossíntese das plantas parasitadas são menos destrutivos. Mudanças nos níveis relativos de qNP e qP refletem efeitos de curto período (reversíveis) na produção fotoquímica do PSII (FOYER, 1993), resultando em fotoinibição dinâmica (OSMOND, 1994).

Com relação à mancha angular, os resultados foram diferentes dos encontrados para a virose e ferrugem. Observa-se que a variação dos parâmetros de fluorescência não acompanham a mesma proporção da redução da assimilação líquida de CO_2 (25 a 50%). A redução significativa no parâmetro $\phi PSII$ (30%), parece ser causada pela redução do parâmetro $F'v/F'm$ (10 a 20%) e qP (10 a 20%). A redução significativa de F_v/F_m , apesar de reduzida neste experimento (2 a 12%), indica que ocorreu um efeito no aparato fotossintético de longa duração, causando danos não-prontamente reversíveis e/ou irreversíveis (FOYER, 1993), que freqüentemente resulta em fotodano ou fotoinibição crônica (OSMOND, 1994).

Neste caso, o agente causal da mancha angular, sendo um patógeno hemibiotrófico, que destrói os tecidos do hospedeiro para o seu desenvolvimento, parece ter um efeito mais drástico sobre os mecanismos de regulação do processo fotossintético.

4.3.3.2. Fv/Fm, Fo e Fm

Os resultados do experimento de avaliação dos parâmetros iniciais de fluorescência de folhas com ferrugem, mancha angular e virose estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Parâmetros de fluorescência da clorofila (Fo = fluorescência mínima; Fm = fluorescência máxima; Fv/Fm = eficiência da captura da energia de excitação pelos centros de reação do PSII em folhas adaptadas no escuro) para folhas de feijoeiro com ferrugem (0, 4, 30 e 70% de severidade), com mancha angular (0 e 100% de severidade) e com virose. Os valores são expressos em % do controle (média de 12 repetições para ferrugem e 9 repetições para mancha angular e virose).

Parâmetros de Fluorescência	Fo	Fm	Fv/Fm
<i>Controle (sadio)</i>	100 a	100 a	100 a
<i>Ferrugem</i>			
tecido sadio (0%)	95 a	96 a	100 a
4% de severidade	99 a	97 a	100 a
30% de severidade	98 a	83 b	95 b
70% de severidade	112 b	78 b	90 c
<i>Mancha Angular</i>			
tecido sadio (0%)	109 a	100 a	98 a
100% de severidade	77 b	38 b	71 b
<i>Virose</i>			
	110 a	101 a	98 a

Letras diferentes na coluna diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Tukey a 5%.

Neste experimento, ficou bem claro o efeito dos patógenos fúngicos, principalmente, nas maiores severidades, sobre a produção quântica do PSII em folhas adaptadas no escuro (F_v/F_m). Este efeito foi, em parte, menos evidente no experimento anterior, porque, naquele experimento, a região avaliada das folhas doentes foi escolhida aleatoriamente. A fibra ótica mediu, simultaneamente, a fluorescência de regiões sadias e doentes, e diluindo o efeito do patógeno. Este fato já foi relatado por SCHOLETS & FARRAR (1985) onde nos experimentos realizados, medindo toda a folha infectada, são gerados resultados que são uma média de tecido sadio e doente, resultando numa menor amplitude dos efeitos do patógeno sobre a folha doente. Esta conclusão é reforçada pelo fato de o tecido sem lesões das folhas doentes não apresentar diferenças nos parâmetros de fluorescência em relação ao controle (Tabela 10), fato também observado por SCHOLETS & FARRAR (1985).

Percebe-se que a ferrugem, ao contrário da mancha angular, apresenta uma redução pequena do F_v/F_m mesmo em severidades elevadas (5 e 10% para 30 e 70% de severidade, respectivamente). Contudo, 100% de área com lesões de mancha angular reduz em 29% o F_v/F_m , confirmando a suposição de que a ação do agente causal da mancha angular é mais destrutiva que a ação do agente causal da ferrugem. Da mesma forma, os tecidos infectados com vírus não mostraram grandes reduções neste parâmetro.

As mudanças do valor de F_v/F_m resultam da redução ou aumento da fluorescência mínima (F_o) e da fluorescência máxima (F_m) em diferentes proporções. Neste caso, a mancha angular reduziu tanto F_o , como F_m e a ferrugem, na maior severidade, aumentou F_o e reduziu F_m .

4.3.3.3. Considerações finais

A fotoinibição, definida como a redução dependente da luz da eficiência da fotossíntese (OSMOND, 1994), ocorre quando plantas sadias vêem-se diante de excesso de quantum, ou fótons, absorvidos quando submetidas a intensidades de luz acima

daquelas normalmente experimentadas por elas, o que não é raro. Plantas estressadas, por outro lado, enfrentam o mesmo problema a intensidades de luz consideravelmente menores, o que é bastante freqüente (DEMMIG-ADAMS & ADAMS, 1992; BAKER, 1993; OSMOND, 1994). Assim, alterações na fase escura da fotossíntese - sejam elas causadas por menor disponibilidade de CO₂, ou por uma menor eficiência da Rubisco, ou ainda por ação de toxinas/enzimas produzidas por patógenos - nada têm a ver, pelo menos diretamente, com fotoinibição. Fotoinibição implica, essencialmente, em menor eficiência no transporte de fótons dentro dos cloroplastos. Uma visão holística do processo fotoinibição implica na compreensão de como o aparelho fotossintético trata o excesso de fótons absorvidos numa dada situação (OSMOND, 1994). Atualmente, a fotoinibição é considerada como um mecanismo protetor do aparelho fotossintético (KRAUSE, 1994), ao contrário do que aconteceu nas últimas décadas, quando os termos fotoinibição e fotodano ("photodamage") eram usados indistintamente (DEMMIG-ADAMS & ADAMS, 1992).

Praticamente nenhum tipo de estresse tem o poder de afetar diretamente o transporte de elétrons, incluindo a ação de patógenos. Trabalhos que aventaram esta hipótese (MONTALBINI & BUCHANAN, 1974; MAGYAROSY *et alii*, 1976; MAGYAROSY & MALKIN, 1978; SCHOLES & FARRAR, 1985) não têm mais respaldo científico (SCHOLES, 1992; SCHOLES *et alii*, 1994; SCHOLES *et alii*, 1995). Raciocínio semelhante aplica-se a outros estresses: tanto falta de água, como baixas (ou altas) temperaturas parecem processos insignificantes demais para interferir em processos físico-químicos elementares.

Pode-se dizer que fatores de estresse, cada um à sua maneira, diminuem a eficiência do ciclo de Calvin, e que, adicionalmente, expõem a planta estressada a um excesso de fótons, mesmo que os níveis de luz permaneçam normais. Fótons absorvidos em excesso levam à fotoinibição. Assim, estresses levam indiretamente à fotoinibição. Os autores estão todos de acordo com este conceito. É o que se depreende de CORNIC & BRIANTAIS (1991), CORNIC (1994) e LAWLOR (1995), especialistas em estresse

hídrico: o problema aqui resume-se na falta de CO₂ devido ao fechamento dos estômatos. É o que também se depreende de BAKER *et alii* (1994) e KRAUSE (1994), especialistas no efeito de baixas temperaturas sobre o crescimento de plantas: aqui o problema resume-se na atuação mais lenta das enzimas do ciclo de Calvin, como a Rubisco, por exemplo. É o que se depreende, ainda uma vez, de SCHOLLES (1992) e SCHOLLES *et alii*. (1994; 1995), especialistas em doenças de plantas: o mecanismo responsável agora é o acúmulo de carboidratos na célula, induzido pelo patógeno e por suas invertases, acúmulo que inibe a assimilação de CO₂.

Em todos esses casos, a menor eficiência do ciclo de Calvin e a contínua absorção de luz provocam o acúmulo de NADPH e ATP. A planta tem diversos mecanismos para tratar do excesso de absorção de fótons. Primeiro ela tenta simplesmente não absorvê-los, utilizando-se de movimentos orientados das folhas (heliotropismo). Folhas de feijoeiro submetidas a estresse hídrico, por exemplo, viram-se para baixo, absorvendo até sete vezes menos luz que folhas de plantas normais (CORNIC, 1994). Este mecanismo não tem relação direta com fotoinibição. Segundo, a planta tenta drenar parte da energia absorvida para outras reações, como a redução fotossintética de O₂, seja por meio da atividade de oxigenase da Rubisco (fotorrespiração) (ASADA, 1994; CORNIC, 1994), seja por meio da reação de Mehler no PSI (LAWLOR, 1995; SMIRNOFF, 1995). Este mecanismo, apesar de diminuir a eficiência fotossintética, não se constitui em fotoinibição e não é passível de ser adequadamente analisado por meio da fluorescência da clorofila. Este mecanismo explica a maior redução na assimilação de CO₂, não proporcional à redução no transporte de elétrons de plantas infectadas. Terceiro, a planta tenta dissipar o excesso de energia na forma de, principalmente, calor, por meio do ciclo da xantofila (DEMMIG-ADAMS & ADAMS, 1992; OWENS, 1994; HORTON & RUBAN, 1994). Este mecanismo é convenientemente monitorado através de técnicas de fluorescência da clorofila, que envolvem a determinação de parâmetros como Fv/Fm, qNP e qP. Aqui, inicialmente, ocorre uma “down-regulation” no transporte de elétrons (aumento do “quenching” não-fotoquímico - qNP - prontamente reversível

em condições normais) para, em seguida, caso a energia absorvida continue em excesso, ocorrer danos não-prontamente reversíveis e/ou irreversíveis (“photodamage”) na proteína D1 do PSII. OSMOND (1994) chama a primeira fase de fotoinibição dinâmica e a segunda, de fotoinibição crônica.

5. CONCLUSÕES

1. A interação entre a virose e as doenças fúngicas acarreta significativas reduções nos parâmetros monocíclicos da ferrugem e da mancha angular, excetuando-se os períodos de incubação e latência. Como consequência, o efeito da pré-infecção viral deve sempre ser considerado em estudos epidemiológicos, envolvendo modelagem e simulação de epidemias e manejo das doenças fúngicas.

2. A influência da temperatura sobre os parâmetros monocíclicos das doenças fúngicas não se altera com a pré-infecção viral. Para a ferrugem, o processo infeccioso e a colonização foram favorecidos pelas temperaturas de 17 e 18°C, respectivamente, enquanto que para a mancha angular, estes processos foram favorecidos pela temperatura de 24°C. Os menores períodos de latência, para a ferrugem, e de incubação, para a mancha angular, ocorreram a 21 e 24°C, respectivamente.

3. A eficiência da fotossíntese é reduzida tanto em plantas submetidas à infecção das doenças isoladas como em suas interações.

4. Em função da redução na intensidade das doenças fúngicas ocasionada pela pré-infecção viral, a diminuição da eficiência fotossintética das plantas com os dois patógenos (vírus + fungo) é devida, principalmente, à ação do vírus. Este fato deve ser considerado em estudos de estimativa de danos provocados pelas doenças fúngicas.

5. O efeito das doenças fúngicas na assimilação de CO₂ é maior que a área lesionada visível, tornando necessária a adoção do conceito de lesão virtual (BASTIAANS, 1991) em estudos de danos para estas doenças.

6. Os patógenos biotróficos (vírus e *Uromyces appendiculatus*) apresentam efeitos semelhantes sobre a eficiência fotossintética, com ação menos destrutiva sobre o aparato fotossintético que o patógeno hemibiotrófico (*Phaeoisariopsis griseola*).

7. O comportamento das variedades Rosinha G-2 e Carioca Comum quanto à resistência às doenças fúngicas não se alterou quando elas foram submetidas à infecção viral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, D.J. *Verticillium lecanii* on the bean rust fungus, *Uromyces appendiculatus*. **Transactions of the British Mycological Society, London, 79: 362-4, 1982.**
- ALMEIDA, A.M.R.; CHAVES, G.M.; ZAMBOLIM, L. Influência da época de ataque de *Uromyces phaseoli typica* Arth. sobre o rendimento de duas variedades de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em casa-de-vegetação. **Fitopatologia Brasileira, Brasília, 2: 17-21, 1977.**
- ALTEN, H. von. The effect of temperature, light and leaf age on the frequency of aplerous formation and infection with *Uromyces phaseoli* (Pers.) Wint. **Phytopathologische Zeitschrift, Berlin, 107: 327-35, 1983.**
- ALVAREZ-AYALA, G. & SCHWARTZ, H.F. Preliminary investigations of pathogenic variability expressed by *Isariopsis griseola*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative, New York, 22: 86-8, 1979.**
- AMORIM, L.; BERGER, R.D.; BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B.; WEBER, G.E.; BACCHI, L.M.A.; VALE, F.X.R.; SILVA, M.B. A simulation model to describe epidemics of rust of *Phaseolus* beans II. Validation. **Phytopathology, St. Paul, 85: 722-7, 1995.**

- ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola.** 4.ed., São Paulo, Organização Andrei, 1993. 448p.
- ANJOS, J.R.N. dos; COSTA, C.L.; KITAJIMA, E.W. Levantamento de viroses em cultura de feijão irrigado na região dos Cerrados. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **11**: 391, 1986.
- ANJOS, J.R.N. dos; COSTA, A.F. da; SPERANDIO, C.A; COSTA, C.L. Mosaico-em-desenho.. In: SARTORATO, A. & RAVA, C.A., ed. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle.** Brasília, EMBRAPA/CNPAF, 1994. p.285-300. (EMBRAPA/CNPAF. Documentos, 50)
- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Bethesda, **14** (1): 1-15, 1949.
- ASADA, K. Mechanisms for scavenging molecules generated in chloroplasts under light stress. In: BARKER, N.R. & BOWYER, J.R., ed. **Photoinhibition of photosynthesis; from molecular mechanisms to the field.** Bios, Oxford, 1994. p.129-42.
- AUST, H.J.; BERGAMIN FILHO, A.; MENTEN, J.O.M. Resistance of three bean cultivars to *Uromyces phaseoli* expressed through sporulation on the fungus. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, **110**: 30-6, 1984.
- AZEVEDO, L.A.S. & KUSHALAPPA, A.C. Parâmetros monocíclicos da ferrugem do feijoeiro causada por *Uromyces phaseoli* var. *typica* em variedades de feijão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **11**: 609-16, 1986a.

- AZEVEDO, L.A.S. & KUSHALAPPA, A.C. Quantificação da resistência a *Uromyces phaseoli* var. *typica* em cultivares de feijão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **11**: 599-608, 1986b.
- BACCHI, L.M.A. Quantificação de parâmetros monocíclicos relacionada a epidemias no sistema *Uromyces appendiculatus* - feijoeiro. Piracicaba, 1993. 99p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)
- BAKER, C.J.; STAVELY, J.R.; MOCK, N. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. **Plant Disease Reporter**, Washington, **69**: 770-2, 1985.
- BAKER, N.R. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, **81**: 563-70, 1991.
- BAKER, N.R. Light-use efficiency and photosynthesis in plants under environmental stress. In: SMITH, J.A.C. & GRIFFITHS, H., ed. **Water deficits; plant responses from cell to community**. Bios, Oxford, 1993. p.221-35.
- BAKER, N.R.; FARAGE, P.K.; STIRLING, C.M.; LONG, S.P. Photoinhibition of crop photosynthesis in the field at low temperatures. In: BAKER, N.R. & BOWYER, J.R., ed. **Photoinhibition of photosynthesis; from molecular mechanisms to the field**. Bios, Oxford, 1994. p.349-363.
- BANNO, K. Oferta e comercialização de feijão no Brasil. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS DO FEIJOEIRO, 5., Piracicaba, 1994. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, 1994. p.27-44.

- BARROS, B.C. & CASTRO, J.L. Avaliação de fungicidas para controle de doenças do feijoeiro. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS DO FEIJOEIRO, 5., Piracicaba, 1994. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, 1994. p.5.
- BASTIAANS, L. Ratio between virtual and visual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of rice due to leaf blast. **Phytopathology**, St. Paul, **81**: 611-5, 1991.
- BENIWAL, S.P.S. & GUDAUSKAS, R.T. Maize dwarf mosaic virus increases susceptibility of sorghum and corn to *Helminthosporium maydis* race T. **Phytopathology**, St. Paul, **64** (9): 1197-201, 1974.
- BERGER, R.D.; HAU, B.; WEBER, G.E.; BACCHI, L.M.A.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. A simulation model to describe epidemics of rust of *Phaseolus* beans I. Development of the model and sensitivity analysis. **Phytopathology**, St. Paul, **85**: 715-21, 1995.
- BERGHAUS, R.; REISENER, H.J.; ARENZ, H.; FRANCK, U.F. Changes in the Hill reaction and the chlorophyll fluorescence of chloroplasts isolated from wheat plants infected with stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*). **Journal of Phytopathology**, Berlin, **118**: 123-30, 1987.
- BETTIOL, W.; BRANDÃO, M.S.B.; SAITO, M.L. Controle da ferrugem do feijoeiro com extratos e células formuladas de *Bacillus subtilis*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, **18**: 153-9, 1992.

- BIANCHINI, A. & BERGAMIN FILHO, A. Reação induzida em feijoeiro pela interação do vírus do mosaico dourado e do mosaico-em-desenho. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS DO FEIJOEIRO, 5., Piracicaba, 1994. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, 1994. p.21.
- BIANCHINI, A.; KITAJIMA, E.W.; LIN, M.T. Ocorrência do vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **10**: 307, 1985.
- BIANCHINI, A.; MENEZES, J.R.; MARINGONI, A.C. Doenças e seu controle. In: INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **O feijão no Paraná**. Londrina, 1989, p.189-216. (IAPAR. Circular 63).
- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R. & ÖQUIST, G. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL, D.O.; SCURLOCK, J.M.O.; BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R.; LEEGOOD, R.C.; LONG, S.P., ed. **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. London, Chapman & Hall, 1993. p.193-206.
- BONILLA, H.A. Algunas enfermedades del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en el Valle del Cauca. **Acta Agronomica**, Palmira, **7**: 19-75, 1958.
- BOOKBINDER, M.G. & BLOOM, J.R. Interaction of *Uromyces phaseoli* and *Meloidogyne incognita* on bean. **Journal of Nematology**, College Park, **12**(3): 177-82, 1980.
- BROCK, R.D. Resistance to angular leaf spot among varieties of bean. **Journal of Australian Institute of Agricultural Science**, Marrickville, **17**: 25-30, 1951.

- BULISINI, E.A. **Feijão**: fatores de produção e qualidade. Campinas, Fundação Cargill, 1987. 326p.
- BUTLER, W.L. & KITAJIMA, M. Fluorescence quenching in photosystem II of chloroplasts. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, **376**: 116-25, 1975.
- CAMARGO, I.J.B.; KITAJIMA, E.W.; COSTA, A.S. Inclusões cristalinas de um vírus isodiamétrico que afeta o feijoeiro. **Ciência e Cultura**, São Paulo, **21**: 490, 1969.
- CAMARGO, I.J.B.; KITAJIMA, E.W.; COSTA, A.S. Microscopia eletrônica do vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro *in situ*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **1**: 207-14, 1976.
- CAMPBELL, C.L. & MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York, John Wiley, Sons Inc., 1990. 532p.
- CAMPOS, J.A. & ZAK, L.F. Estudio de algunas características de *Isariopsis griseola* Sacc., agente causal de la mancha angular del frijol. **Agrociencia**, Chapingo, **39**: 41-8, 1980.
- CARDONA-ALVAREZ, C. & WALKER, J.C. Angular leaf spot of bean. **Phytopathology**, St. Paul, **46**: 610-5, 1956.
- CARRIJO, I.V.; CHAVES, G.M.; PEREIRA, A.A. Reação de vinte e cinco variedades de *Phaseolus vulgaris* a trinta e nove raças fisiológicas de *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth., em condições de casa-de-vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **5**: 245-55, 1980.

- CARRIJO, I.V.; CHAVES, G.M.; SEDIYAMA, C.S. Análise da resistência de vinte e cinco cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. a *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 4: 265-79, 1979.
- CASTRO, J.L.; ITO, M.F.; DUDIENAS, C. Avaliação de genótipos de feijoeiro quanto à resistência à antracnose, mancha angular e ferrugem, em condições de campo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., Londrina, 1993. **Resumos**. Londrina, IAPAR, 1993. Res. 42.
- CASTRO, J.L.; ITO, M.F.; DUDIENAS, C. Avaliação de genótipos de feijoeiro quanto à resistência à doenças fúngicas da parte aérea em condições de campo. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS DO FEIJOEIRO, 5., Piracicaba, 1994. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, 1994. p.8.
- CODE, J.L.; IRWIN, J.A.G.; BARNES, A. Comparative etiological and epidemiological studies on rust diseases of *Phaseolus vulgaris* and *Macroptilium atropurpureum*. **Australian Journal Botany**, Melbourne, 33: 147-57, 1985.
- COELHO, R.S.B. & CHAVES, G.M. Comparação de dois métodos de amostragem na identificação de raças de *Uromyces phaseoli typica* Arth. **Experientiae**, Viçosa, 17(8): 149-86, 1975.
- COLHOUN, J. Effects of environmental factors on plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, 11: 343-64, 1973.
- CORNIC, G. Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis. In: BARKER, N.R. & BOWYER, J.R., ed. **Photoinhibition of photosynthesis; from molecular mechanisms to the field**. Bios, Oxford, 1994. p.297-313.

- CORNIC, G. & BRIANTAIS, J.M. Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentrations and during drought stress. *Planta*, Berlin, **183**: 178-84, 1991.
- COSTA, A.F. & MIRANDA, P. Índices de prejuízos em diferentes cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) causados pela ferrugem (*Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth.) em Pernambuco. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1., Goiânia, 1982. *Anais*. Goiânia, EMBRAPA, 1982. p.280-2.
- COSTA, A.S. Investigações sobre moléstias do feijoeiro no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FEIJÃO, 1., Campinas, 1971. *Anais*. Viçosa, UFV, 1972. v.2, p.305-86.
- COSTA, A.S.; SOUZA DIAS, J.A.C.; REZENDE, J.A.M.; GASPAR, J.O. Maior suscetibilidade ao oídio nas áreas com mosaico angular em folhas do feijoeiro Jalo. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 5., Piracicaba, 1982. Resumos. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, **8**: 8-9, 1982.
- COSTA, H. Efeito da infecção individual ou conjunta do vírus do mosaico comum do feijoeiro e de *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth. em *Phaseolus vulgaris* L. Viçosa, 1985. 42p. (Mestrado - Universidade Federal de Viçosa)
- CRANE, G.L. & CALPOUZOS, L. Synergism of *Cercospora beticola* and beet yellows virus in killing sugar beet leaves. *Phytopathology*, St. Paul, **59** (9): 1338-9, 1969.

- CUPERTINO, F.P.; COSTA, C.L.; KITAJIMA, E.W. Infecção natural da soja pelo vírus do mosaico-em-desenho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **16**: 246-50, 1991.
- CUPERTINO, F.P.; COSTA, C.L.; LIN, M.T.; KITAJIMA, E.W. Infecções simples e mistas dos vírus do mosaico do sul e do mosaico em desenho em feijão-vagem no Brasil Central. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **7**: 269-74, 1982.
- DALLA PRIA, M.; BIANCHINI, A.; SOUZA, E.A. Avaliação da resistência de dez cultivares de feijoeiro ao vírus do mosaico-em-desenho. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS DO FEIJOEIRO, 5., Piracicaba, 1994. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, 1994. p.22.
- DAMSTEEGT, V.D.; BONDE, M.R.; HEWINGS, A.D. Interactions between maize streak virus and downy mildew fungi in susceptible maize cultivars. **Plant Disease**, St. Paul, **77**: 390-2, 1993.
- DARIO, G.J.A.; LEITE, O.M.C.; BALTIERI, E.M. Avaliação do controle da mancha angular (*Isariopsis griseola*) ocorrente na cultura do feijão com a aplicação de fungicidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27., Itajaí, 1994. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **19** (supl.): 302, 1994a.
- DARIO, G.J.A.; LEITE, O.M.C.; DE VICENZO, M.C.V. Avaliação da eficiência do fungicida difenoconazole no controle da ferrugem (*Uromyces phaseoli*) na cultura do feijão.. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27., Itajaí, 1994. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **19** (supl.): 295, 1994b.

- DEMMIG-ADAMS, B. & ADAMS III, W.W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, **43**:599-626, 1992.
- DEMMING, B. & BJORKMAN, O. Comparison of excessive light on chlorophyll fluorescence (77k) and the photon yield of O₂ evolution of higher plants. **Planta**, **171**: 171-84, 1987.
- DIÁZ, P.C.; ARMAS, E.; BARRIOS, A. La mancha angular de la caraota producida por *Isariopsis griseola* Sacc. en la cuenca del lago de Valencia. **Agronomía Tropical**, Maracay, **14**: 261-7, 1965.
- DINIZ, E.F. Quantificação de componentes de resistência em variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) a raças de *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth. Viçosa, 1988. 76p. (Mestrado - Universidade Federal de Viçosa)
- DONCASTER, H.D.; ADCOCK, M.D.; LEEGOOD, R.C. Regulation of photosynthesis in leaves of C₄ plants following a transition from high to low light. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, **973**: 176-84, 1989.
- FANCELLI, A.L. Situação da cultura do feijão no Estado de São Paulo. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS E DOENÇAS DO FEIJOEIRO, 3., Piracicaba, 1988. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, 1988. p.17-21.
- FANCELLI, A.L. Fenologia e exigências climáticas do feijoeiro. In: _____. **Feijão irrigado**. Piracicaba, FEALQ, Departamento de Agricultura, 1990. p.7-24.

- FARIA, J.C. Inoculação seqüencial para avaliação da resistência do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) a quatro doenças. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **13**: 269-73, 1988.
- FARIA, J.C. & HAGEDORN, D.J. A multiple inoculation technique for selection of bean seedlings with resistance to three pathogens. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **11**: 535-42, 1986.
- FEIJÃO: oferta cresce com irrigação mas arcaísmo da estrutura de comércio ainda pesa. **Globo Rural**, Rio de Janeiro, **120**: 124, out. 1995.
- FERRAZ, S. La mancha foliar angular. In: SCHWARTZ, H.P. & GÁLVEZ, G.E., ed. **Problemas de producción del frijol; enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris***. Cali, CIAT, 1980. p.55-64.
- FOYER, C. Chlorophyll-a fluorescence as a probe for photosynthesis leaf metabolism and plant vitality. In: VARLET-GRANCHER, C.; BONHOMME, R.; SINOQUET, H., ed. **Crop structure and light microclimate: characterization and applications**. Paris, INRA, 1993. p.419-25.
- FULTON, J.P. & SCOTT, H.A. A serogrouping concept for legume comovirus. **Phytopathology**, St. Paul, **69**: 305-6, 1979.
- GALVÃO, M.S.N. & MENTEN, J.O.M. Metodologia de inoculação de *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Ung. em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) para avaliação de componentes monocíclicos da resistência. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, **62**(2): 171-83, 1987.

- GENTY, B.; BRIANTAIS, J.M.; BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, **990**: 87-92, 1989.
- GODOY, C.V. Danos causados pela mancha angular em feijoeiro, no município de Piracicaba. Piracicaba, 1995. 72p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)
- GOLATO, C. & MEOSI, E. Una grave infezione fogliare del fagiolo (*Phaseolus vulgaris* L., Papilionaceae) in Etiopia. *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale*, Florence, **66**: 135-8, 1972.
- GONZÁLES-ÁVILA, M.; GUERRA-MALVÁREZ, A.G.; SOTO, L. Componentes de la resistencia que limitan el desarrollo de la infección por roya en el frijol. *Ciencias de la Agricultura*, La Habana, **31**: 11-3, 1987.
- GOODMAN, R.N.; KIRÁLY, Z.; WOOD, K.R. **The biochemistry and physiology of plant disease**. Columbia, University of Missouri Press, 1986. 433p
- GROTH, J.V. & RAMA RAJE URS, N.V. Differences among bean cultivars in receptivity to *Uromyces phaseoli* var. *typica*. *Phytopathology*, St. Paul, **72**: 374-8, 1982.
- HAU, B. & KRANZ, J. Mathematics and statistics for analyses in epidemiology. In: KRANZ, J., ed. **Epidemics of plant diseases: mathematical analyses and modeling**. 2.ed. Berlin, Springer-Verlag, 1990. p.12-52.

- HOOKER, W.J. & FRONEK, F.R. The influence of virus Y infection on early blight susceptibility in potato. In: CONFERENCE ON POTATO VIRUS DISEASES, 4., p.76-81. 1960. **Proceedings**.
- HORTON, P. & RUBAN, A. The role of light-harvesting complex II in energy quenching. In: BARKER, N.R. & BOWYER, J.R., ed. **Photoinhibition of photosynthesis**; from molecular mechanisms to the field. Bios, Oxford, 1994. p.111-28.
- HUTCHESON, S.W. & BUCHANAN, B. Bioenergetic and metabolic disturbances in diseased plants. In: CALLOW, J.A., ed. **Biochemical plant pathology**. Chichester, John Wiley, 1983. p.327-45.
- IAMAUTI, M.T. Avaliação de danos causados por *Uromyces appendiculatus* no feijoeiro. Piracicaba, 1995. 81p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)
- IMHOFF, M.W.; LEONARD, K.J.; MAIN, C.E. Patterns of bean rust lesion size increase and spore production. **Phytopathology**, St. Paul, **72**: 441-6, 1982.
- IMHOFF, M.W.; MAIN, C.E.; LEONARD, K.J. Effect of temperature, dew period, and age of leaves, spores, and source pustules on germination of bean rust urediospores. **Phytopathology**, St. Paul, **71**: 577-83, 1981.
- INGLIS, D.A. & HAGEDORN, D.J. Temperature requirements by *Isariopsis griseola* for infection and disease development on red kidney beans. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, New York, **28**: 35, 1986.

- ISSA, E. & OLIVEIRA, D.A. Resistência de variedades de feijão, *Phaseolus vulgaris* L., do Estado de São Paulo, a algumas enfermidades. **O Biológico**, São Paulo, **51(7)**: 175-9, 1985.
- ISSA, E.; BASTOS CRUZ, B.P.; WATTANABE, K.; ARRUDA, H.V. Danos produzidos por doenças do feijoeiro *Phaseolus vulgaris* L. **O Biológico**, São Paulo, **46(7)**: 135-40, 1980.
- ITO, M.F.; BERGAMIN FILHO, A.; YUKI, V.A. Ações preventiva, curativa e erradicante do inseticida cartap sobre a ferrugem do feijoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27., Itajaí, 1994. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **19** (supl.): 318, 1994.
- KARDIN, M.K. & GROTH, J.V. Density dependent fitness interactions in the bean rust fungus. **Phytopathology**, St. Paul, **79**: 409-12, 1989.
- KIMATI, H. Doenças do feijoeiro *Phaseolus vulgaris* L. In: GALLI, F., coord. **Manual de fitopatologia; doenças das plantas cultivadas**. 2.ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 1980. cap. 19, p.297-318.
- KITAJIMA, E.W.; LIN, M.T.; COSTA, C.L.; BATISTA, M.F. Ocorrência do vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **5**: 408, 1980.
- KOOTEN, O. van & SNEL, J.F.H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, **25**: 147-50, 1990.

- KRANZ, J. & HAU, B. Systems analysis in epidemiology. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, **18**: 67-83, 1980.
- KRAUSE, G.H. Photoinhibition induced by low temperatures. In: BARKER, N.R. & BOWYER, J.R., ed. **Photoinhibition of photosynthesis**; from molecular mechanisms to the field. Bios, Oxford, 1994. p.331-48.
- KRAUSE, G.H. & WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, **42**: 313-49, 1991.
- LABATE, C.A.; ADCOCK, M.D.; LEEGOOD, R.C. Effects of temperature on the regulation of photosynthetic carbon assimilation in leaves of maize and barley. **Planta**, Berlin, **181**: 547-54, 1990.
- LATCH, G.C.M. & POTTER, L.R. Interaction between crown rust (*Puccinia coronata*) and two viruses of ryegrass. **Annals of Applied Biology**, London, **87**: 139-45, 1977.
- LAWLOR, D.W. The effects of water deficit on photosynthesis. In: SMIRNOFF, N., ed. **Environment and plant metabolism**; flexibility and acclimation. Bios, Oxford, 1995. p. 129-60.
- LEHNINGER, A.L. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo, Sarvier, 1991. 725p.
- LEITE, B. & PASCHOLATI, S.F. Hospedeiro: alterações fisiológicas induzidas por fitopatógenos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L., ed.

- Manual de fitopatologia: princípios e conceitos.** 3.ed., São Paulo, Agronômica Ceres, 1995, v.1, p.393-416.
- LICHTENTHALER, H.K. & RINDERLE, U. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. **CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry**, Palm Beach, **19** (supl. 1): S29-S85, 1988.
- LIVNE, A. Photosynthesis in healthy and rust affected plants. **Plant Physiology**, Bethesda, **39**: 614-21, 1964.
- LIN, M.T.; GAMEZ, R., KITAJIMA, E.W. Bean "mosaico-em-desenho" virus is a member of the bean rugose mosaic virus serogroup. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **6**: 293-8, 1981.
- LIVNE, A. & DALY, J.M. Translocation in healthy and rust-affected beans. **Phytopathology**, St. Paul, **56**: 170-5, 1966.
- LLANOS, C.M. Patogenicidad del *Isariopsis griseola* Sacc. en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). **Acta Agronomica**, Palmira, **7**: 165-70, 1957.
- LONG, S.P. & HÄLLGREN, J.E. Measurement of CO₂ assimilation by plants in the field and the laboratory. In: HALL, D.O.; SCURLOCK, J.M.O.; BOLHAR-NORDENKAMPF, H.R.; LEEGOOD, R.C.; LONG, S.P., ed. **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual.** London, Chapman & Hall, 1993. p.129-67.
- LUTTRELL, E.S. Parasitism of fungi on vascular plants. **Mycologia**, Amherst, **66**(1): 1-15, 1974.

- LUZ, W.C. Interações entre fitopatógenos. In: BETTIOL, W., org. **Controle biológico de doenças de plantas**. Brasília, EMBRAPA/CNPDA, 1991. p.219-22.
- MADDEN, L.V. & CAMPBELL, C.L. Nonlinear disease progress curves. In: KRANZ, J., ed. **Epidemics of plant diseases: mathematical analysis and modeling**. 2.ed., Berlin, Springer-Verlag, 1990. p.181-229.
- MAGYAROSY, A.C. & MALKIN, R. Effect of powdery mildew infection of sugar beet on the content of electron carriers in chloroplasts. **Physiological Plant Pathology**, London, **13**: 187-8, 1978.
- MAGYAROSY, A.C.; SCHÜRMAN, P.; BUCHANAN, B.B. Effects of powdery mildew infection on photosynthesis by leaves and chloroplasts of sugar beet. **Plant Physiology**, Bethesda, **57**: 486-9, 1976.
- MARTINS, T.R.; ALMEIDA, A.M.R.; ALMEIDA, L.A.; NEPOMUCENO, A.; CHAGAS, C.M.; TOLEDO, J.F.F. de. Sinergismo observado em plantas de soja infectadas pelos vírus do mosaico comum da soja e do mosaico-em-desenho do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **19**: 430-6, 1994.
- MATTHEWS, R.E.F. **Plant virology**. 3.ed., London, Academic Press, 1991. 835p.
- MENDES, B.M.J. Influência da temperatura e do tipo de folha na quantificação de parâmetros epidemiológicos monocíclicos da ferrugem do feijoeiro (*Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth.). Piracicaba, 1985. 83p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)

- MENDES, B.M.J. Influência de parâmetros de clima e do hospedeiro no desenvolvimento da ferrugem do feijoeiro (*Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth.). Piracicaba, 1987. 102p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)
- MENDES, B.M.J. & BERGAMIN FILHO, A. Adaptação da técnica da cultura de folha destacada para a quantificação dos parâmetros epidemiológicos monocíclicos da ferrugem do feijoeiro (*Uromyces phaseoli* var. *typica*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **11**: 103-14, 1986.
- MENDES, B.M.J. & BERGAMIN FILHO, A. Influence of temperature, wetness duration, and leaf type on the quantification of monocyclic parameters of bean rust. **Journal of Phytopathology**, Berlin, **126**: 183-9, 1989a.
- MENDES, B.M.J. & BERGAMIN FILHO, A. Influência da idade da folha na quantificação dos parâmetros monocíclicos da ferrugem do feijoeiro (*Uromyces phaseoli* var. *typica*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **14**: 26-8, 1989b.
- MENDES, B.M.J. & BERGAMIN FILHO, A. Período infeccioso e esporulação de *Uromyces phaseoli* var. *typica*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **15**: 54-7, 1990.
- MENEZES, J.R. Manejo integrado das doenças do feijoeiro irrigado. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS DO FEIJOEIRO, 5., Piracicaba, 1994. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, 1994. p.112-22.
- MENTEN, J.O.M. Avaliação de resistência horizontal e vertical e de tolerância do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Uromyces appendiculatus*. Piracicaba, 1980. 213p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)

- MENTEN, J.O.M. Utilização de resistência horizontal no melhoramento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista da Agricultura**, Piracicaba, **62**(3):259-71, 1987.
- MICHAELS, T.E. The bean plant. In: HALL, R., ed. **Compendium of bean diseases**. St. Paul, APS Press, 1991. p.1-4.
- MILES, L.E. Some diseases of economic plants in Porto Rico. **Phytopathology**, St. Paul, **7**: 345-51, 1917.
- MMBAGA, M.T. & STAVELY, J.R. Pathogenic variability in *Uromyces appendiculatus* from Tanzania and rust resistance in Tanzania bean cultivars. **Plant Disease**, St. Paul, **72**: 259-62, 1988.
- MMBAGA, M.T. & STEADMAN, J.R. Adult plant rust resistance associated with leaf pubescence in common bean. **Plant Disease**, St. Paul, **76**(12): 1230-6, 1992.
- MONTALBINI, P. & BUCHANAN, B.B. Effect of rust infection on photophosphorylation by isolated chloroplasts. **Plant Physiology**, Bethesda, **18**: 191-6, 1974.
- MORA, N.O.A.; VIEIRA, C.; ZAMBOLIM, L. Variedades diferenciadoras de feijão para identificação de raças fisiológicas de *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth. **Revista Ceres**, Viçosa, **39**: 391-404, 1992.
- MORA BRENES, B. Estimativa de perdas no rendimento de feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) causadas pela mancha-angular (*Isariopsis griseola* Sacc.). Viçosa, 1983. 60p. (Mestrado - Universidade Federal de Viçosa)

- MORA BRENES, B.; CHAVES, G.M.; ZAMBOLIM, L. Estimativa de perdas no rendimento de feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) causadas pela mancha-angular (*Isariopsis griseola* Sacc.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 16., Belém, 1983. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **8**: 599, 1983.
- MORENO, R.A. & MORA, L.E. Cropping pattern and soil management influence on plant diseases: II. Bean rust epidemiology. **Turrialba**, Turrialba, **34**(1): 41-5, 1984.
- ODUM, E.P. **Fundamentals of ecology**. Philadelphia, Saunders, 1971. 573p.
- OLAVE, C.A.L. Resistencia de algunas variedades y líneas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) al *Isariopsis griseola* Sacc. **Acta Agronomica**, Palmira, **8**: 197-219, 1958.
- OLIVEIRA, S.H.F.; SANNAZZARO, A.M.; CASTRO, J.L. Comportamento de cultivares de feijoeiro tratados e não tratados com fungicidas quanto à sanidade e produtividade. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS DO FEIJOEIRO, 5., Piracicaba, 1994. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, 1994a. p.7.
- OLIVEIRA, S.H.F.; WUTKE, E.B.; SANNAZZARO, A.M. Comportamento de cultivares de feijoeiro quanto à sanidade e produtividade. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS DO FEIJOEIRO, 5., Piracicaba, 1994. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, 1994b. p.75-82.

- OMAR, R.A.; MEHIAR, F.F.; ZAYED, E.A.; DIF, A.A. Physiological and biochemical studies on soybean, bean and lettuce plants infected with seed-born viruses. *Acta Phytopathol. and Entomol. Hung.*, **21**: 63, 1986.
- OMAR, S.A.M.; BAILISS, K.W.; CHAPMAN, G.P.; MANSFIELD, J.W. Effects of virus infection of faba bean on subsequent infection by *Uromyces viciae-fabae*. *Plant Pathology*, St. Paul, **35**: 535-43, 1986.
- OSMOND, C.B. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: BARKER, N.R. & BOWYER, J.R., ed. **Photoinhibition of photosynthesis**; from molecular mechanisms to the field. Bios, Oxford, 1994. p.1-24.
- OWENS, T.G. Excitation energy transfer between chlorophylls and carotenoids. A proposed molecular mechanism for non-photochemical quenching. In: BARKER, N.R. & BOWYER, J.R., ed. **Photoinhibition of photosynthesis**; from molecular mechanisms to the field. Bios, Oxford, 1994. p.95-109.
- PARADELLA FILHO, O. Algumas moléstias fúngicas do feijoeiro que ocorrem em São Paulo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DO FEIJÃO, 1., Campinas, 1971. *Anais*. Viçosa, Imprensa Universitária, 1972. v.2, p. 305-84.
- PARLEVLIET, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, **17**: 203-22, 1979.
- PASCHOLATI, S.F. & LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L., ed. **Manual de**

fitopatologia: princípios e conceitos. 3.ed., São Paulo, Agronômica Ceres, 1995.
v.1. p.417-53.

PETERSON, R.B. & AYLOR, D.E. Chlorophyll fluorescence induction in leaves of *Phaseolus vulgaris* infected with bean rust (*Uromyces appendiculatus*). **Plant Physiology**, Bethesda, **108**: 163-71, 1995.

PIZA, S.M.T. & MENTEN, J.O.M. Avaliação e seleção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) para resistência horizontal a *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Ung. através de parâmetros monocíclicos. **Revista da Agricultura**, Piracicaba, **62(3)**: 247-55, 1987.

POTTER, L.R. The effects of barley yellow dwarf virus and powdery mildew in oats and barley with single and dual infections. **Annals of Applied Biology**, London, **94**: 11-7, 1980.

POTTER, L.R. Interaction between barley dwarf virus and rust in wheat, barley and oats, and the effects on grain yield and quality. **Annals of Applied Biology**, London, **100**: 321-9, 1982.

PRING, R.J. A fine-structural study of the infection of leaves of *Phaseolus vulgaris* by uredospores of *Uromyces phaseoli*. **Physiological Plant Pathology**, London, **17**: 269-76, 1980.

RAGGI, V. Correlation of CO₂ compensation point (γ) with photosynthesis and respiration and CO₂ sensitive γ in rust-affected bean leaves. **Physiological Plant Pathology**, London, **16**:19-24, 1980.

- RAGGI, V. CO₂ assimilation, respiration and chlorophyll fluorescence in peach leaves infected by *Taphrina deformans*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, **93**: 540-4, 1995.
- RAJU, D.G.; SILL, W.H.; BROWDER, L.E. The combined effects of two viral diseases and leaf rust on wheat. **Phytopathology**, St. Paul, **59** (10): 1488-92, 1969.
- RAVA, C.A.; SARTORATO, A.; CARVALHO, J.R.P. de. Yield losses in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) caused by angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.). **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, New York, **28**: 5-6, 1985.
- REY, J.V.G. & LOZANO, J.C.T. Estudios fisiologicos de la roya del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) causada por el *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth. **Acta Agronomica**, Palmira, **11** (3/4): 147-83, 1961.
- RICHARDSON, D.E. & DOLING, D.A. Potato blight and leaf-roll virus. **Nature**, London, **180**: 866-7, 1957.
- RIOS, G.P. Ferrugem. In: SARTORATO, A. & RAVA, C.A., ed. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília, EMBRAPA/CNPAF, 1994. p.69-84. (EMBRAPA/CNPAF. Documentos, 50)
- RODRIGUES, C.H.; ZAMBOLIM, L.; MARTINS, M.C. del P. Eficiência de fungicidas no controle da mancha angular (*Isariopsis griseola*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **12**: 40-5, 1987.

- ROTEM, J. Climatic and weather influences on epidemics. In: HORSFALL, J.G. & COWLING, E.B., ed. **Plant disease; an advanced treatise**. New York, Academic Press, 1978. v.2; p.317-37.
- ROTEM, J. Techniques of controlled-condition experiments. In: KRANZ, J. & ROTEM, J., ed. **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Berlin, Springer-Verlag, 1988. p.19-31.
- SAETTLER, A.W. Angular leaf spot. In: HALL, R., ed. **Compendium of bean diseases**. St. Paul, APS Press, 1991. p.15-6.
- SALISBURY, F.B. & ROSS, C.W. **Plant physiology**. Belmont, Wadsworth, 1992. 682p.
- SANTOS FILHO, H.P.; FERRAZ, S.; SEDIYAMA, C.S. Isolamento e esporulação "in vitro" de *Isariopsis griseola* Sacc. **Experientiae**, Viçosa, **22**: 175-93, 1976a.
- SANTOS FILHO, H.P.; FERRAZ, S.; VIEIRA, C. Resistência à mancha angular (*Isariopsis griseola* Sacc.) no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, **23**: 226-30, 1976b.
- SARTORATO, A. Resistência vertical e horizontal do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Isariopsis griseola* Sacc.. Piracicaba, 1989. 131p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)
- SARTORATO, A. Principais doenças da parte aérea do feijoeiro comum e seus controles. In: FANCELLI, A.L. **Feijão irrigado**. Piracicaba, FEALQ, Departamento de Agricultura, 1990. p.71-85.

- SARTORATO, A. & RAVA, C.A. Influência da cultivar e do número de inoculações na severidade da mancha angular (*Isariopsis griseola*) e nas perdas na produção do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **17**: 247-51, 1992.
- SARTORATO, A. & RAVA, C.A. Mancha angular. In: SARTORATO, A. & RAVA, C.A.,ed. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: EMBRAPA/CNPAP, 1994. p.41-68. (EMBRAPA/CNPAP. Documentos, 50)
- SARTORATO, A.; RAVA, C.A.; MENTEN, J.O.M.; BERGAMIN FILHO, A. Resistência vertical do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) a *Isariopsis griseola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **16**(3): 43-6, 1991.
- SARRUGE, J.R. **Apontamentos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba, ESALQ/Depto. de Química, 1970. 56p.
- SAVARY, S. & ZADOKS, J.C. Analysis of crop loss in multiple pathosystem groundnut-rust-late leaf spot. I. Six experiments. **Crop Protection**, Guiudiford, **11**: 99-109, 1992.
- SCHEIN, R.D. Some effects of temperature during the colonization period of bean rust. **Phytopathology**, St. Paul, **51**: 674-80, 1961.
- SCHEIN, R.D. Age-correlated changes in susceptibility of bean leaves to *Uromyces phaseoli* and tobacco mosaic virus. **Phytopathology**, St. Paul, **55**: 454-7, 1965.

SCHOLES, J.D. Photosynthesis: cellular and tissue aspects in diseased leaves. In: AYRES, P.G., ed. **Pest and pathogens: plant responses to foliar attack**. Oxford, BIOS Scientific Publish, 1992. p.85-106.

SCHOLES, J.D. & FARRAR, J.F. Photosynthesis and chloroplast functioning within individual pustules of *Uromyces muscari* on bluebell leaves. **Physiological Plant Pathology**, London, **27**: 387-400, 1985.

SCHOLES, J.D. ; LEE, P.J.; HORTON, P. LEWIS, D.H. Invertase: understanding changes in the photosynthetic and carbohydrate metabolism of barley leaves infected with powdery mildew. **New Phytologist**, **126**: 213-22, 1994.

SCHOLES, J.D. & ROLFE, S.A. How do biotrophic pathogens affect the photosynthetic metabolism of their hosts? In: WALTERS, D.R.; SCHOLES, J.D.; BRYSON, R.J.; PAUL, N.D.; McROBERTS, N., ed. **Physiological responses of plants to pathogens**. The Association of Applied Biologists, Warwick, 1995. p.91-9.

SCHREIBER, U. Chlorophyll fluorescence yield changes as a tool in plant physiology. **Photosynthesis Research**, Netherlands, **4**: 361-73, 1983.

SCHREIBER, U.; SCHLIWA, U.; BILGER, W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. **Photosynthesis Research**, Hague, **10**: 51-62, 1986.

SHAW, M. The physiology and host-parasite relations of the rusts. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, **1**: 259-94, 1963.

- SILVA, M.B. Progresso da ferrugem do feijoeiro em Viçosa, Minas Gerais. Viçosa, 1992. 51p. (Mestrado - Universidade Federal de Viçosa)
- SILVA, O.F.; TEIXEIRA, S.M.; YOKOYAMA, L.P. Sócio-economia, produção e tecnologia de feijão no Brasil. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., Londrina, 1993. **Anais**. Londrina, IAPAR, 1993. p.150.
- SINDHAN, G.S. & BOSE, S.K. Perpetuation of *Phaeoisariopsis griseola* causing angular leaf spot of french bean. **Indian Phytopathology**, New Delhi, **32**: 252-4, 1979.
- SINDHAN, G.S. & BOSE, S.K. Epidemiology of angular leaf spot of french bean caused by *Phaeoisariopsis griseola*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, **33**: 64-8, 1980.
- SMEDEGAARD-PETERSEN, V. The role of respiration and energy generation in diseased and disease-resistant plants. In: WOOD, R.K.S. & JELLIS, J.G., ed. **Plant diseases: infection, damage and loss**. Oxford, Blackwell Scientific, 1984. p.73-85.
- SMIRNOFF, N. Antioxidant systems and plant response to the environment. In: SMIRNOFF, N., ed. **Environment and plant metabolism; flexibility and acclimation**. Bios, Oxford, 1995. p.217-43.
- SPERANDIO, C.A. Caracterização do vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Brasília, 1982. 57p. (Mestrado - Universidade de Brasília)

- SPERANDIO, C.A. & COSTA, C.L. Besouros crisomelideos vetores do vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1., 1982, Goiânia. **Anais**. Goiânia, EMBRAPA/CNPAF, 1982. p.231-3. (EMBRAPA/CNPAF. Documentos, 1)
- STAPLES, R.C. The development of infection structures by the rusts and other fungi. **Microbiological Sciences**, Oxford, 2(7): 193-8, 1985.
- STAVELY, J.R. Pathogenic specialization in *Uromyces phaseoli* in United States and rust resistance in beans. **Plant Disease**, St. Paul, 68: 95-9, 1984.
- STAVELY, J.R. Rust. In: HALL, R., ed. **Compendium of bean diseases**. St. Paul, APS Press, 1991. p.24-5.
- STAVELY, J.R. & PASTOR-CORRALES, M.A. Rust. In: SCHWARTZ, H.F. & PASTOR-CORRALES, M.A., ed. **Bean production problems in the tropics**. 2.ed. Cali, CIAT, 1989. p.159-94.
- SZIRÁKI, I.; MUSTÁRDY, L.A.; FALUDI-DÁNIEL, Á.; KIRÁLY, Z. Alterations in chloroplast ultrastructure and chlorophyll content in rust-infected Pinto Beans at different stages of disease development. **Phytopathology**, St. Paul, 74: 77-84, 1984.
- TARR, S.A.J. **Principles of plant pathology**. London, Macmillan, 1972. 632p.
- TORRE, A.R. de la; BAUER, L.I.; CÁRDENAS, E. Determinacion de algunos componentes de resistencia en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a la roya (*Uromyces phaseoli* (Reb.) Wint.). **Agrociencia**, Chapingo, 67: 173-85, 1987.

- VARGAS, E. La Roya. In: SCHWARTZ, H.F. & GÁLVEZ, G.E., ed. **Problemas de producción del frijol**; enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. Cali, CIAT, 1980. p.17-36.
- VIEIRA, C. Melhoramento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado de Minas Gerais, IV: estudos realizados no período de 1970 a 1973. **Revista Ceres**, Viçosa, **21**: 470-85, 1974.
- VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa, UFV, 1983. 231p.
- VIEIRA, M.A.R.; SILVA FILHO, G.; CAFÉ FILHO, A.C. Controle químico da mancha angular do feijoeiro, *Phaeoisariopsis griseola*, em Brasília, DF. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27., Itajaí, 1994. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **19** (supl.): 318, 1994.
- WALLER, J.M. & BRIDGE, J. Effects of pathogen interactions on tropical crop production. In: WOOD, R.K.S. & JELLIS, G.J., ed. **Plant Diseases: infection, damage and loss**. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1984. p.311-20.
- WILSON, E.M. Rust-TMV cross-protection and necrotic-ring reaction in bean. **Phytopathology**, St. Paul, **48**: 228-31, 1958.
- YARWOOD, C.E. Uredospore production by *Uromyces phaseoli*. **Phytopathology**, St. Paul, **51**: 22-7, 1961.
- YEH, C.C. Screening common beans for rust resistance and physiological races of bean rust fungus in Taiwan. **Journal of Agricultural Research of China**, Taipei, **32**(3): 259-69, 1983.

ZADOKS, J.C. EPIPE: A disease and pest management system for winter wheat developed in the Netherlands. **EPPO Bulletin**, Paris, **11**: 365-9, 1981.

ZADOKS, J.C. On the conceptual basis of crop loss assessment: the threshold theory. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, **23**: 455-73, 1985.

ZADOKS, J.C. & SCHEIN, R.D. Epidemiology and plant disease management, the known and the needed. In: PALTI, J. & KRANZ, J., ed. **Comparative epidemiology**. Wageningen, Pudoc, 1980. p.1-17.

ZAITER, H.Z.; COYNE, D.P.; STEADMAN, J.R. Coinoculation effects of the pathogens causing common bacterial blight, rust, and bean common mosaic in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, St. Joseph, **115**: 319-23, 1990.

ZAKI, A.I. & DURBIN, R.D. The effect of bean rust on the translocation of photosynthetic products from diseased leaves. **Phytopathology**, St. Paul, **55**: 528-9, 1965.

ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M.; MARTINS, M.C. del P. Aspectos das principais doenças do feijão no Estado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, **8(90)**: 20-9, 1982.

ZULU, J.N. & WHEELER, B.E.J. The importance of host factors of beans (*Phaseolus vulgaris*) on the control of rust (*Uromyces appendiculatus*). **Tropical Agriculture**, Trinidad, **59(3)**: 235-8, 1982.