

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO TIPO DE FOLHA NA
QUANTIFICAÇÃO DE PARÂMETROS EPIDEMIOLÓGICOS
MONOCÍCLICOS DA FERRUGEM DO FEJJOEIRO
(*Uromyces phaseoli* VAR. *typica* ARTH.)

BEATRIZ MADALENA JANUZZI MENDES

Orientador: Prof. Dr. ARMANDO BERGAMIN FILHO

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
Janeiro, 1985

Aos meus pais

Célio e Cidinha

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Expresso meus agradecimentos às instituições e pessoas que direta ou indiretamente, colaboraram com a realização deste trabalho, em especial as relacionadas a seguir:

- Ao Prof. Dr. Armando Bergamin Filho, do Departamento de Fitopatologia da E.S.A."Luiz de Queiroz", USP.
- Ao Engº Agrº Dr. José Octávio Machado Menten, da Seção de Radiogenética do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA/USP.
- Ao Prof. Dr. Hiroshi Kimati, do Departamento de Fitopatologia da E.S.A."Luiz de Queiroz", USP.
- Ao Prof. Dr. Décio Barbin, do Departamento de Matemática e Estatística da E.S.A."Luiz de Queiroz", USP.

Aos Funcionários Pedro da Silva e José Rubens da Silva.

- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).
- A todos os membros, professores, alunos e funcionários do Departamento de Fitopatologia da E.S.A."Luiz de Queiroz", USP.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	xi
SUMMARY	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. A Ferrugem do Feijoeiro	3
2.2. Avaliação de Resistência através de Parâmetros Monocíclicos	6
2.3. Fatores do Ambiente e do Hospedeiro que Afetam a Avaliação dos Parâmetros Monocíclicos	12
2.4. A Cultura de Folha Destacada	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. Linhagens de Feijoeiro Utilizadas	21
3.2. Obtenção e Manutenção do Isolado Monopustular de <i>U. phaseoli</i> var. <i>typica</i>	22
3.3. Quantificação dos Parâmetros Monocíclicos sob Diferentes Temperaturas em Folhas Primárias e Trifoliadas de Feijoeiro	23
3.3.1. Método de inoculação de <i>U. phaseoli</i> var. <i>typica</i>	23
3.3.2. Avaliação dos parâmetros monocíclicos	24
3.3.3. Temperaturas e tipos de folha de fei- joeiro testadas	25
3.4. Cultura de Folha Destacada	26
3.4.1. Obtenção e acondicionamento das folhas destacadas de feijoeiro	26

3.4.2. Inoculação e condições de incubação das folhas destacadas de feijoeiro	27
4. RESULTADOS	29
4.1. Quantificação do Período de Incubação, Período Latente, Frequência de Infecção, Produção de Esporos e Período Infeccioso, em Folhas Primárias e Trifoliadas Jovens, em Folhas Intactas, à 21°C	29
4.2. Quantificação do Período de Incubação, Período Latente, Frequência de Infecção, Produção de Esporos e Período Infeccioso, em Folhas Primárias e Trifoliadas Jovens, em Folhas Intactas, à 17°C	36
4.3. Quantificação do Período de Incubação, Período Latente, Frequência de Infecção, Produção de Esporos e Período Infeccioso, em Folhas Primárias e Trifoliadas Jovens, em Folhas Destacadas, à 21°C	43
5. DISCUSSÃO	53
5.1. Quantificação dos Parâmetros Monocíclicos em Folhas Primárias e Trifoliadas Jovens, não Destacadas, em Diferentes Temperaturas	53
5.1.1. Período de Incubação	53
5.1.2. Período Latente	55
5.1.3. Frequência de Infecção	57
5.1.4. Período Infeccioso e Produção de Esporos	58
5.2. Quantificação dos Parâmetros Monocíclicos em Folhas Primárias e Trifoliadas Jovens, sob Técnica de Folha Destacada	62
5.3. Utilização dos Dados Obtidos na Construção de um Modelo de Simulação de Epidemias de Ferrugem do Feijoeiro	65
6. CONCLUSÕES	68
BIBLIOGRAFIA	69

LISTA DE TABELAS

Tabela nº		Página
1	Período de incubação, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 21°C	30
2	Período latente, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 21°C	30
3	Frequência de infecção, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 21°C	31
4	Período infeccioso, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 21°C	31
5	Período de Incubação, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 17°C	37
6	Período latente, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 17°C	37
7	Frequência de Infecção, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 17°C	38
8	Período Infeccioso, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 17°C	38

Tabela nº

Página

9	Período de incubação, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, na face inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas destacadas, a 21°C	44
10	Período latente, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, na face inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas destacadas, a 21°C	45
11	Frequência de infecção, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, na face inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas destacadas, a 21°C	45
12	Período de incubação, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, nas faces superior e inferior de folhas trifoliadas jovens, em folhas destacadas, a 21°C	46
13	Período latente, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, nas faces superior e inferior de folhas trifoliadas jovens, em folhas destacadas, a 21°C	46
14	Frequência de infecção, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, nas faces superior e inferior de folhas trifoliadas jovens, em folhas destacadas, a 21°C	47

Tabela nº	Página
15 Período infeccioso, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, nas faces superior e inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas destacadas, à 21 ^o C	47
16 Frequência de infecção, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, nas faces superior e inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas destacadas, à 21 ^o C	48

LISTA DE FIGURAS

Figura nº		Página
1	Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas primárias jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 21 ^o C	32
2	Curva cumulativa de produção de esporos em folhas primárias jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 21 ^o C	33
3	Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas trifoliadas jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 21 ^o C	34
4	Curva cumulativa da produção de esporos em folhas trifoliadas jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 21 ^o C	35
5	Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas primárias jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 17 ^o C	39
6	Curva cumulativa da produção de esporos em folhas primárias jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 17 ^o C	40

Figura nº	Página
7	Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas trifoliadas jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 17°C 41
8	Curva cumulativa da produção de esporos em folhas trifoliadas jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 17°C 42
9	Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas primárias jovens destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 21°C 49
10	Curva cumulativa de produção de esporos em folhas primárias jovens destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 21°C 50
11	Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas trifoliadas jovens destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 21°C 51
12	Curva cumulativa de produção de esporos em folhas trifoliadas jovens destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 21°C 52
13	Esquema de um modelo de simulação de epidemias (adaptado de TENG e ZADOKS, 1980) 67

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO TIPO DE FOLHA NA QUANTIFICAÇÃO
DE PARÂMETROS EPIDEMIOLÓGICOS MONOCÍCLICOS DA FERRUGEM NO
FEIJOEIRO (*Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth.)

Beatriz Madalena Januzzi Mendes

Orientador: Prof.Dr. Armando Bergamin Filho

RESUMO

Com o objetivo de se obter dados para a construção de um modelo de simulação de epidemias de ferrugem do feijoeiro, foi realizada a avaliação dos parâmetros monocíclicos de resistência (período de incubação, período latente, frequência de infecção, período infeccioso e produção de esporos) nas linhagens de feijoeiro Rosinha e Carioca. As avaliações foram realizadas em condições controladas de ambiente, às temperaturas de 17 e 21^oC, nos dois tipos de folhas característicos de feijoeiro (primárias e trifoliadas) com quatro dias de idade. Também procurou-se ajustar a técnica da cultura de folha destacada para esse sistema, a fim de encontrar uma metodologia rápida e eficiente para quantificação de resistência em trabalhos de melhoramento.

Constatou-se que existe influência da temperatura, tipo de folha e linhagem nos valores de alguns parâmetros monocíclicos, como por exemplo, período latente e frequência de infecção à 21 e 17^oC. O padrão de esporulação da ferrugem do feijoeiro é do tipo

intermitente, sendo a produção de esporos por pústula maior na face inferior das folhas, exceto na avaliação feita em folhas trifoliadas da linhagem Rosinha, à 17°C. Foi possível verificar ainda, a viabilidade do uso da técnica de folha destacada para quantificação de resistência, neste sistema patógeno-hospedeiro.

INFLUENCE OF TEMPERATURA AND LEAF TYPE ON THE QUANTIFICATION OF
MONOCYCLICAL EPIDEMIOLOGICAL PARAMETERS OF BEAN
(*Uromyces phaseoli* var. *typica*. Arth.) RUST

Beatriz Madalena Januzzi Mendes

Adviser: Dr. Armando Bergamin Filho

SUMMARY

With the objective of obtaining data for constructing a simulation model of bean rust epidemics, the monocyclical parameters of resistance (incubation period, latent period, frequency of infection, infectious period, and spore production) were evaluated for Rosinha and Carioca bean lines. The evaluations were conducted under controlled environmental conditions at 17 and 21⁰C for both characteristic bean leaf types (primary and trifoliolate), at four days old. An attempt was also made to adjust the detached leaf culture technique to this system, in order to find a rapid and efficient methodology for quantifying resistance inbreeding studies.

It was found that temperature, leaf type, and strain exert an influence on the values of some monocyclical parameters, such as latent period and frequency of infection at 21 and 17⁰C. The sporulation pattern of bean rust is of the intermittent type, with spore production per pustule being higher in the lower face of the leaves, except in the evaluation made on trifoliolate leaves of the

Rosinha strain at 17⁰C. It was also found that the utilization of the detached leaf technique is feasible for resistance quantification in this pathogen-host system.

1. INTRODUÇÃO

O uso de simuladores de epidemias em fitopatologia está se tornando cada vez mais comum nos dias de hoje, pelo fato de se constituírem em poderosas ferramentas para a descrição e entendimento de fenômenos ecológicos complexos (KRANZ, 1979; ZADOKS, 1979).

Os modelos de simulação de epidemias podem ser utilizados não só na previsão do progresso da doença (SHRUM, 1975) mas, também, como orientadores de pesquisa, indicando qual a fase da cadeia de infecção que precisa ser mais estudada (ZADOKS, 1979; AUST *et al*, 1983); no melhoramento genético, simulando uma série de epidemias com genótipos diferentes (ZADOKS, 1979) e no controle de doenças, indicando o momento e número de pulverizações necessárias e os efeitos epidemiológicos do uso de fungicidas (ZADOKS, 1979; MACKENZIE, 1981).

Para a ferrugem do feijoeiro, já existem trabalhos (IMHOFF *et al*, 1981; 1982) que visam a obtenção de dados que permitam a adaptação do simulador de epidemias de SHRUM (1975) para o sistema *Phaseolus vulgaris* - *Uromyces phaseoli* var. *typica*. No Brasil, estudos

nesse sentido ainda não se encontram em desenvolvimento.

Os modelos de simulação seguem, normalmente, o conceito da cadeia de infecção de GÄUMANN (1951), tendo sido desenvolvidos simuladores para diversos sistemas como: EPIDEM/*Alternaria solani* - tomateiro (WAGGONER e HORSFALL, 1969); EPIMAY/*Helminthosporium maydis* - milho (WAGGONER *et al*, 1972); EPIVEN/*Venturia inaequalis* - macieira (KRANZ *et al*, 1973) e EPIGRAM/*Erysiphe graminis* f.sp.*hordei* - cevada (AUST *et al*, 1983). Em todos esses modelos é fundamental o conhecimento de algumas variáveis de estado (KRANZ e HAU, 1980) como, por exemplo, período latente, período infeccioso, frequência de infecção e as interações desses elementos com os fatores do ambiente e a planta hospedeira.

Neste trabalho, procurou-se quantificar os parâmetros mais relevantes para a construção deste tipo de modelo, como período de incubação, período latente, frequência de infecção, período infeccioso e produção de esporos, considerando-se o efeito da temperatura e do tipo de folha. Ao mesmo tempo, procurou-se ajustar uma técnica rápida e eficiente que permitisse a quantificação desses parâmetros epidemiológicos, facilitando o trabalho de avaliação de resistência de diversos genótipos em estudos de melhoramento. Assim, foram realizados estudos com folhas destacadas de feijoeiro, inoculadas com *Uromyces phaseoli* var. *typica*, a fim de correlacionar os dados obtidos em plantas em vasos com aqueles obtidos sob a técnica da cultura de folha destacada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A Ferrugem do Feijoeiro

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de feijão do gênero *Phaseolus*, que se constitui na principal fonte protéica da população latino-americana. Analisando a produtividade de feijão no país; observa-se que, até 1971, esta manteve-se entre 600-700 kg/ha. Por volta de 1972/73, houve uma queda brusca de mais de 100 kg/ha na produtividade, que se manteve até os dias atuais entre 400-500 kg/ha, sendo este um rendimento 60% menor que o obtido nos Estados Unidos, Japão e Canadá (SCHWARTZ e GALVEZ, 1980; EMBRAPA, 1981).

A cultura do feijoeiro tem sido considerada de altos riscos e incertezas por diversos fatores, entre eles o grande número de doenças a que o feijoeiro está sujeito (SCHWARTZ e GALVEZ, 1980; EMBRAPA, 1981). A ferrugem do feijoeiro destaca-se nas Américas como uma das mais importantes doenças que ocorrem na cultura, sendo as perdas em rendimento estimadas em 38-50% no Brasil (NASSER, 1976); 40-80% nos Estados Unidos (ZAUMEYER e THOMAS, 1957) e 18% na Colômbia (SCHWARTZ e GALVEZ, 1980).

Essa doença foi relatada pela primeira vez na Alemanha, em 1795 (ZAUMEYER e THOMAS, 1957) e encontra-se distribuída por todas as regiões produtoras de feijão (ECHANDI, 1976; SCHWARTZ e GALVEZ, 1980), podendo infectar muitas espécies de *Phaseolus* como *P. acutifolius* var. *latifolius*, *P. adenanthus*, *P. anisotrichus*, *P. coccineus*, *P. dysophyllus*, *P. lunatus*, *P. obvallatus*, *P. polystachyus*, *P. retusus*, *P. sinuatus*, *P. vulgaris* e *Vigna sinensis* (ZAUMEYER e THOMAS, 1957).

A ferrugem do feijoeiro é causada por *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth. (ZAUMEYER e THOMAS, 1957), da classe *Basidiomycetes*, Ordem *Uredinales*, Família *Pucciniaceae* (ALEXOPOULOS, 1979). É um fungo biotrófico, autóico, isto é, completa o seu ciclo biológico em um único hospedeiro, apresentando todos os tipos de esporos (macrocíclico): picniosporos, eciosporos, uredosporos, teliosporos e basidiosporos (GROTH e MOGEN, 1978; SCOTT e CHAKRAVORTY, 1982).

A ferrugem ocorre nas folhas e vagens, sendo raramente encontrada nos pecíolos e ramos. Os sintomas se iniciam na face inferior da folha, com manchas puntiformes, esbranquiçadas, que em condições favoráveis aparecem cinco dias após a inoculação. Essas pústulas gradualmente vão aumentando de tamanho, rompendo a epiderme quando as frutificações do fungo amadurecem (8-9 dias após a inoculação), expondo os uredosporos (ZAUMEYER e THOMAS, 1957; KIMATI, 1980; VIEIRA, 1983). Os esporos produzidos comumente por *U. phaseoli* var. *typica* são os uredosporos, também chamados esporos de verão (SCHWARTZ e GALVEZ, 1980). Os eciosporos raramente são encontrados na natureza,

mas GROTH e MOGEN (1978) demonstraram uma metodologia para obtenção de todos os tipos de esporos de ferrugem do feijoeiro, em condições de laboratório.

A temperatura favorável ao desenvolvimento da ferrugem está em torno de 17-27°C, associada a períodos de umidade relativa maior que 95%. Temperaturas maiores que 27,5°C evitam a germinação dos uredosporos e temperaturas inferiores a 15°C podem retardar o desenvolvimento da doença (SCHWARTZ e GALVEZ, 1980; IMHOFF *et al.*, 1981). A produção e liberação dos uredosporos são influenciadas pelas condições ambientes como umidade, fotoperíodo, temperatura e orvalho (YARWOOD, 1961; COHEN e ROTEM, 1970; SCHWARTZ e GALVEZ, 1980; IMHOFF *et al.*, 1981; 1982).

Os uredosporos são eficientemente disseminados à curta distância por implementos agrícolas, insetos e animais, sendo o vento o principal agente de disseminação a longa distância (ZAUMEYER e THOMAS, 1957). Em nossas condições, onde existem duas épocas de plantio, os uredosporos transportados pelo vento constituem-se na principal fonte de inóculo inicial, propiciando a sobrevivência contínua do patógeno em hospedeiros suscetíveis (KIMATI, 1980; SCHWARTZ e GALVEZ, 1980).

U. phaseoli var. *typica* pode apresentar diversas gerações durante o ciclo do hospedeiro, de tal forma que uma planta infectada no início de seu ciclo servirá como fonte de inóculo para posteriores infecções do patógeno no mesmo ciclo da cultura, caracterizando-se, assim, sob o enfoque epidemiológico, como uma doença de

juros compostos ou de ciclo secundário (VANDERPLANK, 1963; BERGAMIN FILHO, 1978).

As recomendações para o controle da ferrugem do feijoeiro incluem desde práticas culturais como: rotação de cultura e eliminação de restos de cultura, que visam diminuir o inóculo inicial (x_0) (VANDERPLANK, 1963; SCHWARTZ e GALVEZ, 1980), até o uso de fungicidas e variedades resistentes, que diminuiriam a taxa de aumento da doença (r) (VANDERPLANK, 1963; KIMATI, 1980; SCHWARTZ e GALVEZ, 1980). Entre os produtos químicos, recomenda-se para o controle da ferrugem tanto fungicidas protetores, como enxofre, maneb e mancozeb, como os fungicidas sistêmicos, oxicarboxin ou mistura de oxicarboxin e carboxin (KIMATI, 1980).

O uso de variedades resistentes, o meio mais seguro e eficiente para o controle da ferrugem, é dificultado pela grande variabilidade patogênica do fungo (KIMATI, 1980; SCHWARTZ e GALVEZ, 1980). Assim, o desenvolvimento de variedades com resistência horizontal, isto é, resistentes a todas as raças do patógeno (VANDERPLANK, 1963) é de grande valor para que se alcance um controle mais estável e efetivo dessa doença.

2.2. Avaliação de Resistência através de Parâmetros Monocíclicos

Existem duas abordagens que possibilitam a avaliação de resistência às doenças, testes policíclicos e testes monocíclicos (ZADOKS, 1972). Os primeiros, adequados especificamente às doenças

de juros compostos, são realizados sempre em condições naturais de epidemia, no campo, e visam a determinação dos valores x_0 (quantidade de inóculo inicial) e r (taxa aparente de infecção), através de avaliações periódicas da quantidade de doença. Os testes monocíclicos, que podem ser empregados tanto para doenças de juros simples quanto para as de juros compostos, são realizados em condições de ambiente controlado e não visam medir diretamente os valores de x_0 e r mas, sim, alguns componentes desses parâmetros, por exemplo, frequência de infecção, período latente, período de incubação, produção de esporos, período infeccioso e tamanho ou tipo de lesão (PARLEVLIET, 1975; 1976; 1979).

Destes parâmetros monocíclicos, os que representam reais componentes epidemiológicos, isto é, influenciam a taxa aparente de infecção (r) são: período infeccioso (i), período latente (p), produção de esporos (N) e efetividade de inóculo (E) (ZADOKS e SCHEIN, 1979; 1980; MENDES *et al*, 1984; PAIVA *et al*, 1984). Assim, qualquer outro parâmetro que seja utilizado na quantificação de resistência a patógenos, deve estar relacionado com pelo menos um desses quatro parâmetros epidemiológicos.

A frequência de infecção, definida como a proporção de esporos que resultam em lesões esporulantes é medida pelo número de lesões produzidas quando se inocula uma concentração conhecida de esporos (PARLEVLIET, 1979). Na literatura, a frequência de infecção também é chamada de receptividade (GROTH e URS, 1982); infectibilidade (SHANER, 1973); eficiência de infecção (PARLEVLIET e KUIPER, 1977;

SCHEIN, 1965) ou simplesmente número de pústulas (JOHNSON e WILCOXSON, 1979). Exemplos do uso do parâmetro frequência de infecção na avaliação da resistência podem ser encontrados nos sistemas *Phytophthora infestans* - batata (VAN DER ZAAG, 1959; UMAERUS e LIHNELL, 1976); *Helminthosporium maydis* - milho (HILL e NELSON, 1982); *Puccinia hordei* - cevada (PARLEVLIET e KUIPER, 1977; NEERVORT e PARLEVLIET, 1978; PARLEVLIET *et al.*, 1980; CLIFFORD e RODERICK, 1981); *Puccinia graminis tritici* - trigo (HAYDEN, 1956; STAKMAN e CHRISTENSEN, 1960; HOOKER, 1967; OHM e SHANER, 1976; ROWELL, 1981; 1982); *Erysiphe graminis tritici* - trigo (SHANER, 1973; ROUSE *et al.*, 1981); *Pyricularia oryzae* - arroz (VILLAREAL, 1980; VILLAREAL *et al.*, 1981; AHN e OU, 1982); *Hemileia vastatrix* - cafeeiro (SCALI *et al.*, 1974; ESKES, 1978a; 1978b; CADENA-GOMEZ e BURITICÁ-CÉSPEDES, 1981); *Puccinia arachidis* - amendoim (SUBRAHMANYAM *et al.*, 1983b); *Erysiphe graminis* - cevada (ASHER e THOMAS, 1983) e *Uromyces phaseoli* var. *typica* - feijoeiro (YARWOOD, 1961; MENTEN, 1980; GROTH e URS, 1982).

O período latente foi definido por VANDERPLANK (1963) como o intervalo de tempo entre a inoculação e a produção de esporos. Outros termos foram propostos para expressar esse conceito, como tempo de geração (HIRST e SCHEIN, 1965) e tempo de maturação da pústula (EYAL e PETERSON, 1967). Mais recentemente, PARLEVLIET (1975) propõe uma definição operacional para esse conceito, que possibilita uma padronização na quantificação desse parâmetro, considerando período latente o espaço de tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das pústulas esporulantes. Inúmeros autores têm utilizado o período

de incubação, definido como o intervalo de tempo entre a inoculação e o aparecimento dos primeiros sintomas visíveis da doença, para avaliação de resistência a fitopatógenos (PARLEVLIIET, 1979). No entanto, esse parâmetro não é considerado um componente de resistência, já que não afeta diretamente a taxa reprodutiva do patógeno, possuindo porém uma alta correlação com o período latente (PARLEVLIIET, 1979; ZADOKS e SCHEIN, 1979; PAIVA *et al*, 1984). Exemplos do uso dos parâmetros período latente e/ou período de incubação na avaliação da resistência podem ser encontrados nos sistemas *Phytophthora infestans* - batata (VAN DER ZAAG, 1959); *Puccinia hordei* - cevada (PARLEVLIIET, 1978; NEERVOORT e PARLEVLIIET, 1978; TENG e CLOSE, 1978); *Septoria nodorum* - trigo (SHEARER e ZADOKS, 1972); *Puccinia arachidis* - amendoim (SUBRAHMANYAM *et al*, 1983b); *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* - trigo (MEHTA e IGARASHI, 1979; TORMELIN *et al*, 1983); *Venturia inaequalis* - macieira (TORMELIN e JONES, 1983); *Hemileia vastatrix* - cafeeiro (MORAES *et al*, 1976; ESKES *et al*, 1979); *Phakopsora pachyrhizi* - soja (MELCHING *et al*, 1979); *Erysiphe graminis* - cevada (ASHER e THOMAS, 1983) e *Uromyces phaseoli* var. *typica* - feijoeiro (MENTEN, 1980; MENTEN e BERGAMIN FILHO, 1981b; IMHOFF *et al*, 1982).

O período infeccioso é definido como o tempo durante o qual a lesão permanece esporulando (VANDERPLANK, 1963; MEHTA e ZADOKS, 1970; PARLEVLIIET, 1979). Esse parâmetro não tem sido estudado em profundidade, devido à grande dificuldade de sua avaliação, e sua importância epidemiológica é discutida, tendo-se mostrado de menor importância

após estudos com simuladores de epidemia (ZADOKS, 1971; TENG *et al*, 1977). Exemplos do estudo do período infeccioso são encontrados nos sistemas *Puccinia graminis* - aveia (SZTEJNBERG e WHAL, 1976); *Puccinia hordei* - cevada (NEERVORT e PARLEVLIT, 1978; TENG e CLOSE, 1978); *Helminthosporium sativum* - trigo (MEHTA, 1981); *Puccinia recondita* - trigo (TORMELIN *et al*, 1983); *Puccinia arachidis* - amendoim (SUBRAHMANYAM *et al*, 1983a); *Phakopsora pachyrhizi* - soja (MELCHING *et al*, 1979); *Peronospora viciae* - ervilha (DICKINSON e SINGH, 1982); *Uromyces phaseoli* var. *typica* - feijoeiro (YARWOOD, 1961; IMHOFF *et al*, 1982; AUST *et al*, 1984).

A produção de esporos é expressa como a quantidade de esporos produzida por lesão, por unidade de área foliar ou por unidade de superfície esporulante (JOHNSON e TAYLOR, 1976; PARLEVLIT, 1979). A quantificação desse parâmetro é bastante trabalhosa, sendo difícil a obtenção de dados precisos (PARLEVLIT, 1979). Dados de produção de esporos podem ser encontrados nos trabalhos: *Puccinia arachidis* - amendoim (SUBRAHMANYAM *et al*, 1983a); *Phakopsora pachyrhizi* - soja (MELCHING *et al*, 1979); *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* - trigo (TORMELIN *et al*, 1983); *Puccinia hordei* - cevada (NEERVORT e PARLEVLIT, 1978; TENG, 1978; TENG e CLOSE, 1978); *Eryshí phe graminis* - cevada (ASHER e THOMAS, 1984); *Peronospora viciae* - ervilha (DICKINSON e SINGH, 1982) e *Uromyces phaseoli* var. *typica* - feijoeiro (YARWOOD, 1961; IMHOFF *et al*, 1982; AUST *et al*, 1984; FEGIES *et al*, 1984).

A efetividade do inóculo é definida como a proporção dos esporos produzidos que podem dar origem a novas lesões esporulantes (ZADOKS e SCHEIN, 1980). Estudos que demonstram a variação na efetividade com o tempo ainda são poucos, mas trabalhos realizados nos sistemas *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* - cevada (AUST, 1981) e *Uromyces phaseoli* var. *typica* - feijoeiro (IMHOFF *et al*, 1981), demonstram que esporos provenientes de lesões jovens possuem uma taxa de germinação mais elevada do que aqueles provenientes de lesões com 3 a 4 semanas de idade.

O tamanho ou tipo de lesão refere-se à área do hospedeiro que mostra sintomas da doença sendo definido pelo seu diâmetro, comprimento, superfície ou com auxílio de uma escala apropriada (PARLEVIET, 1979). Na verdade, esse parâmetro não possui uma real importância epidemiológica, pois não altera, diretamente, a taxa r de infecção (PARLEVIET, 1979; PAIVA *et al*, 1984), mas em inúmeros sistemas patógeno-hospedeiro têm sido constatadas diferenças entre variedades através do uso desse parâmetro, como em *Puccinia graminis tritici* - trigo (STAKMAN e CHRISTENSEN, 1960); *Phytophthora infestans* - batata (UMAERUS e LIHNELL, 1976); *Hemileia vastatrix* - cafeeiro (SCALI *et al*, 1974); *Puccinia hordei* - cevada (CLIFFORD, 1974); *Helminthosporium sativum* - trigo (MEHTA, 1981); *Puccinia arachidis* - amendoim (SUBRAHMANYAM *et al*, 1983b) e *Uromyces appendiculatus* - feijoeiro (MENTEN, 1980; MENTEN e BERGAMIN FILHO, 1981).

A análise dos componentes de resistência através dos testes monocíclicos tem sido preferida, por muitos autores, à

determinação em condições de campo dos parâmetros epidemiológicos x_0 e r (testes policíclicos). No entanto, os testes monocíclicos sã poderã substituir os testes policíclicos apõs um estudo detalhado de como se comporta o sistema patõgeno-hospedeiro em ambos os tipos de teste (BERGAMIN FILHO, 1983).

2.3. Fatores do Ambiente e do Hospedeiro que Afetam a Avaliação dos Parâmetros Monocíclicos

Uma epidemia ẽ definida como um sistema dinãmico que se desenvolve de acordo com as condições impostas pelas caracterĩsticas do ambiente, hospedeiro e patõgeno, sob a influẽncia do homem (TENG e ZADOKS, 1980). O estudo desses fatores, que vã afetar a taxa de desenvolvimento do patõgeno, ẽ de grande importãncia tanto para o entendimento da evoluçãõ da doençã no campo como para a construçãõ de modelos de simulaçãõ de epidemias (TENG *et al*, 1977; IMHOFF *et al*, 1982). Entre os fatores que mostraram maior influẽncia na estrutura do ciclo de infecçãõ de patõgenos de plantas e consequentemente nos valores dos parâmetros monocíclicos, destacam-se a temperatura, umidade relativa e idade da planta.

Desses fatores a temperatura ẽ o mais estudado, tendo sido detectado sua influẽncia em todas as fases do ciclo de infecçãõ, desde a germinaçãõ atẽ a produçãõ de esporos. No sistema *Alternaria helianthi* - girassol (ALLEN *et al*, 1982) foi verificado que a porcentagem de germinaçãõ dos conĩdios aumenta atẽ a faixa de 25-28^oC,

diminuindo em temperaturas mais elevadas. Para *Uromyces phaseoli* var. *typica* (IMHOFF *et al.*, 1981) foi observado que a germinação dos uredosporos ocorre na faixa de 10-25°C, sendo o máximo de germinação obtido na faixa de 17,5-22,5°C; temperaturas de 4°C e 27,5°C impediram a germinação.

A influência da temperatura no período latente é estudada em muitos sistemas patógeno-hospedeiro, pois valores detalhados desse parâmetro são de grande valor na construção de modelos de simulação (ZADOKS e SCHEIN, 1979). Foi observado que aumentando-se a temperatura de 10 para 20°C ocorre uma diminuição no valor do período latente de aproximadamente dois dias para os patógenos *Puccinia hordei* (TENG e CLOSE, 1978); *Venturia inaequalis* (TORMELIN e JONES, 1983); *Alternaria helianthi* (ALLEN *et al.*, 1982); *Septoria nodorum* (SHEARER e ZADOKS, 1972; AUST e HAU, 1981) e *Puccinia recondita tritici* (TORMELIN *et al.*, 1983). Para o caso específico de *Uromyces phaseoli* os valores do período latente variam de 9 dias a 16°C, 7,5 dias a 21°C e 7 dias a 24°C (IMHOFF *et al.*, 1982).

O período infeccioso e a produção de esporos têm-se mostrado importantes na caracterização da evolução de epidemias (VANDERPLANK, 1963; ZADOKS, 1971), podendo ser afetados pela temperatura. É interessante notar que não existe um grande efeito da temperatura na duração do período infeccioso, mas sim na produção de esporos (IMHOFF *et al.*, 1982; TENG e CLOSE, 1978; TORMELIN *et al.*, 1983). Assim, verificou-se para *P. recondita tritici* (TORMELIN *et al.*, 1983);

P. hordei (TENG e CLOSE, 1978) e *Sphaerotheca fuliginea* (BASHI, 1980) que no intervalo de 10-25°C a taxa de esporulação aumenta diretamente com a temperatura e para *Erysiphe graminis hordei* (AUST, 1981) a quantidade de esporos produzidos aumenta até a temperatura de 14°C, decrescendo após. Para *U. phaseoli* (IMHOFF *et al*, 1982) foi observado a existência de uma temperatura ótima para esporulação ao redor de 21°C, ocorrendo um decréscimo nos valores tanto a 16°C como a 24°C.

A frequência de infecção e o tamanho da lesão também são influenciados pelo ambiente. No sistema *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* - cevada, a eficiência de infecção aumenta com a temperatura até 20°C diminuindo rapidamente em temperaturas mais altas (HAU *et al*, 1983) e para *Alternaria helianthi* - girassol (ALLEN *et al*, 1982) a frequência de infecção também aumenta com a temperatura atingindo seu máximo a 26°C. Quanto ao tamanho da lesão dados com *P. recondita* f. sp. *tritici* (TORMELIN *et al*, 1984), *A. helianthi* (ALLEN *et al*, 1982) e *U. phaseoli* (IMHOFF *et al*, 1982) indicam que o crescimento da lesão está diretamente relacionado com a temperatura, atingindo o máximo a 29,4°C, 26°C e 25°C, respectivamente. Dados contrastantes foram encontrados para *Erysiphe graminis hordei* - cevada (AUST, 1981) onde o tamanho da lesão diminui na faixa de temperatura de 10-26°C.

A cadeia de infecção também pode ser afetada pela umidade relativa. Assim, plantas de trigo, mantidas em ambiente saturado de umidade (100% UR) e inoculadas com *Septoria nodorum*, mostraram um período latente 5,58 dias mais curto do que aquelas que se encontravam sob um regime alternado de umidade relativa (12 horas com 100%

UR/12 horas com 85-90% UR) e aquelas mantidas continuamente a 85-90% UR não apresentaram esporulação (SHEARER e ZADOKS, 1972). Para *Venturia inaequalis* foi determinado que a umidade relativa mínima para esporulação é 60-70% UR e que o período latente sob condições de alta umidade relativa (95-100% UR) é de 9,5 dias, enquanto que plantas mantidas continuamente sob condições de baixa umidade (60-70% UR) não apresentaram sintomas (TORMELIN e JONES, 1983). Para *Sphaerotheca fuliginea* - pepino (BASHI, 1980) a quantidade de esporos produzidos é maior em plantas mantidas a 45% UR quando comparado com aquelas mantidas a 90% UR. No sistema *A. helianthi* - girassol (ALLEN *et al*, 1982) foi verificado que alta umidade relativa aumenta o número e o tamanho das lesões. No caso de *U. phaseoli* a umidade relativa parece ter pouco efeito na taxa de esporulação do patógeno, apesar de ter sido detectado um total de esporos maior em tratamentos de alta umidade (82% UR dia/92% UR noite) (IMHOFF *et al*, 1982).

Quanto à idade da folha e o estágio de desenvolvimento da planta no momento da infecção, diversos trabalhos têm mostrado variações na quantificação dos componentes de resistência. Estudos realizados para obtenção de dados para construção de um modelo de simulação de epidemias de oídio da cevada (AUST *et al*, 1983; HAU *et al*, 1983) mostraram que a eficiência de infecção diminui, drasticamente, da folha número 1 (folha primária) para a folha número 8 (folha bandeira); que folhas velhas (aquelas totalmente expandidas) apresentam também um menor número de lesões em relação às folhas jovens e o período latente aumenta de 7 para 13 dias em folhas mais velhas. Para

o sistema *P. recondita* - trigo (TORMELIN *et al*, 1983; TORMELIN *et al*, 1984), estudos realizados em 3 estádios de desenvolvimento (seedlings, espigamento e antese), mostram que o período latente é menor em plantas inoculadas no estádio de seedlings; que o período infeccioso e a produção de esporos são maiores quando a infecção ocorreu no estádio do espigamento e que o tamanho das pústulas é menor na folha bandeira do que em seedlings. Já no sistema *A. helianthi* - girassol (ALLEN *et al*, 1983) foi demonstrado que as folhas mais velhas são mais suscetíveis, apresentando um maior número de lesões e de maior tamanho do que folhas jovens, principalmente nos estádios vegetativo e formação do capítulo. Para *Hemileia vastatrix*, experimentos realizados com *Coffea canephora* cv. *kouillou* (ESKES e TOMA-BRAGHINI, 1982), mostram que as folhas adultas apresentam-se mais resistentes à ferrugem, com um período latente mais longo e uma frequência de infecção menor.

Para o caso específico da ferrugem do feijoeiro, foi determinado que a idade da folha não influencia na germinação dos uredosporos, mas a frequência de infecção diminui com a idade da folha, tanto em folhas primárias como em trifoliadas e que folhas trifoliadas apresentam um maior número de lesões que folhas primárias (GROTH e URS, 1982; IMHOFF *et al*, 1981).

2.4. A Cultura de Folha Destacada

A cultura de folha destacada é definida por YARWOOD (1946) como a manutenção de folhas vivas por um longo período de

tempo após serem destacadas da planta mãe. Esta técnica tem-se mostrado adequada para estudos de fisiologia vegetal, como absorção de água, transpiração, respiração e fotossíntese (YARWOOD, 1946); fitopatologia, como estudos da biologia do patógeno (BROWDER, 1964; MIGNUCCI, 1978), testes para avaliação da suscetibilidade do hospedeiro e virulência do patógeno (WARD, 1959; WILCOXSON *et al.*, 1974; MORAES e SALGADO, 1983; MORAES e SAVY FILHO, 1983) e das relações patógeno-hospedeiro com parasitas obrigados, especialmente as ferrugens (HOOKER e YARWOOD, 1966; HENESSY e SACKSTON, 1970; LUMBROSO *et al.*, 1977).

As vantagens de se utilizar essa técnica são: economia de espaço pois uma série de diferentes hospedeiros pode ser incubado em pequena área; economia de material do hospedeiro permitindo o teste de coleções de genótipos sem o sacrifício da planta original; economia de inóculo dos patógenos em estudo; facilidade e exatidão das observações permitindo o uso de microscópio sem prejudicar a cultura; menor perigo de contaminação; uniformidade da unidade experimental; facilidades de controle e manipulação dos fatores ambientes devido ao pequeno espaço que ocupam; crescimento vigoroso dos patógenos devido ao alto controle do ambiente (YARWOOD, 1946; HOOKER e YARWOOD, 1966; HENESSY e SACKSTON, 1970; MIGNUCCI, 1978).

Como fator limitante ao uso dessa técnica tem-se a morte relativamente rápida das folhas, quando não ocorre o enraizamento ou a formação de calos no pecíolo da folha destacada (YARWOOD, 1946).

Também foi observado que folhas de dicotiledôneas geralmente permanecem vivas por um período maior de tempo do que as monocotiledôneas (YARWOOD, 1946; HOOKER e YARWOOD, 1966) e a fim de sanar essa deficiência, diversos autores têm testado a adição, em testes com gramíneas, de solução de sacarose com ou sem benzimidazole ou cinetina, que prolongariam a vida dessas folhas (BROWDER, 1964; HOOKER e YARWOOD, 1966; WILCOXSON *et al.*, 1974).

Estudos do metabolismo das folhas destacadas mostram a ocorrência de uma queda drástica na síntese protéica e consequente acúmulo de aminoácidos nas folhas, logo após serem destacadas da planta mãe. A emissão de raízes adventícias a partir do pecíolo cortado faz com que a folha volte ao seu metabolismo normal, mantendo-a viva por um período de tempo maior (PERSON *et al.*, 1957; SAMBORSKI *et al.*, 1958).

Os métodos utilizados para o cultivo de folhas destacadas são extremamente simples e variam de um caso para outro, de acordo com o estudo que se deseja efetuar. O método mais comum é a manutenção das folhas destacadas em placas de Petri, com uma camada de algodão coberta com uma folha de papel de filtro umedecido (MIGNUCCI, 1978; MORAES, 1981). No caso de testes realizados com gramíneas são utilizados tubos de ensaio ou placas de Petri, contendo solução de sacarose em água a 5% (HOOKER e YARWOOD, 1966) ou solução de benzimidazole em água estéril (BROWDER, 1964; WILCOXSON *et al.*, 1974). Um outro método utilizado é o enraizamento das folhas em vermiculita, que se mostrou adequado para enraizar folhas de cafeeiro (NSUMBU e

BOUHARMONT, 1977).

A cultura de folha destacada tem-se mostrado viável para estudos da biologia do patógeno, como a obtenção do ciclo completo de ferrugens. Trabalhos nesse sentido foram realizados com os sistemas patógeno-hospedeiro *Puccinia helianthi* - girassol (HENESSY e SACKSTON, 1970), *P. sorghi* - milho (HOOKER e YARWOOD, 1966) e *P. hordei* - cevada (LUMBROSO *et al.*, 1977). No primeiro caso as folhas foram mantidas em placas de Petri com ágar-água (0,75%), à temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante o dia e $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante a noite. Foram obtidos todos os tipos de esporos sendo a metodologia também utilizada para a manutenção de isolados e raças de ferrugem do girassol. No sistema *P. sorghi* - milho, por se tratar de uma ferrugem heteróica, os estádios de pǐcnia e ěcia foram obtidos em folhas destacadas de *Oxalis corniculata* (hospedeiro intermediário) e os estádios de uredia, telia e basǐdia em folhas de milho. Foram utilizados pedaços de folha de milho flutuando numa solução de sacarose em água estéril a 5%, em placas de Petri, enquanto que as folhas de *Oxalis* foram mantidas, de maneira convencional, em placas de Petri com papel de filtro umedecido. No sistema *P. hordei* - cevada, também foram obtidos com sucesso todos os tipos de esporos, sendo os estádios de uredia e telia em folhas de cevada e os estádios de pǐcnia e ěcia em *Ornithogalum* spp, hospedeiro intermediário dessa espécie.

A técnica da cultura de folha destacada também tem-se mostrado suficientemente sensível para detectar diferenças significativas em testes de avaliação de resistência em diferentes genótipos.

Assim, estudos realizados no sistema *Puccinia graminis* f.sp. *tritici-trigo* (BROWDER, 1964; WILCOXSON *et al*, 1974), demonstraram uma alta correlação entre os dados obtidos em experimentos de campo com aqueles obtidos sob a técnica de folha destacada, detectando inclusive efeitos significativos quanto à face e idade da folha inoculada (WILCOXSON *et al*, 1974). Trabalhos realizados com folhas destacadas de leguminosas, *Microsphaera diffusa* - soja (MIGNUCCI, 1978) e *Ascochyta imperfecta* - alfafa (WARD, 1959), também mostraram a eficiência da técnica para avaliação de resistência de diferentes genótipos a fitopatógenos, com uma alta correlação entre os dados obtidos em casa de vegetação e campo.

Mais recentemente, a técnica da cultura de folha destacada tem sido utilizada em testes de avaliação de resistência de cultivares de amendoim a *Cercospora arachidicola* e *C. personata* (MORAES, 1981; MORAES e SALGADO, 1982; 1983) e à ferrugem *Puccinia arachidis* (MORAES e SAVY FILHO, 1983). Também com esta leguminosa pôde-se verificar a emissão de raízes adventícias no pecíolo cortado e os resultados obtidos, para os três patógenos dessa cultura, mostraram-se semelhantes àqueles em experimentos conduzidos em casa de vegetação ou em campo, comprovando assim a viabilidade e eficiência da técnica (MORAES, 1981).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Linhagens de Feijoeiro Utilizadas

Foram utilizadas duas linhagens de feijoeiro selecionadas e preliminarmente caracterizadas (TULMANN NETO *et al*, 1979; MENTEN, 1980) na Seção de Radiogenética do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP):

- a) Rosinha G-2/C-21: linhagem do cultivar Rosinha G-2, proveniente do tratamento de sementes com 24 kR de radiação gama (^{60}Co) e seleção, a partir de M_2 , para características agronômicas favoráveis; alta suscetibilidade a *U. phaseoli* var. *typica*.

- b) Carioca/C-224: linhagem do cultivar Carioca, proveniente do tratamento de sementes com 24 kR de radiação gama (^{60}Co) e seleção, a partir de M_2 , para características agronômicas favoráveis; suscetibilidade moderada a *U. phaseoli* var. *typica*.

3.2. Obtenção e Manutenção do Isolado Monopustular de *U. phaseoli* var. *typica*

Para a obtenção do isolado monopustular de *U. phaseoli*, foram coletados folíolos de feijoeiro contendo pústulas de ferrugem, num ensaio de campo, localizado no Posto Meteorológico da ESALQ/USP-Piracicaba. Pústulas bem individualizadas e aparentemente distintas entre si forneceram uredosporos para o estabelecimento de isolados monopustulares; estas pústulas foram raspadas com escalpelo esterilizado e os esporos distribuídos sobre a superfície de uma folha primária jovem da linhagem Rosinha, previamente aspergida com uma solução de Tween 80 a 0,02% em água destilada (MENTEN, 1980). As plantas foram mantidas em câmara úmida e escura por 48 horas, em condições de casa de vegetação. Foram feitas duas outras transferências dos uredosporos, de pústulas bem isoladas, para novas plantas, também no estágio de folha primária jovem; os uredosporos obtidos na 3ª inoculação foram coletados, constituindo o isolado monopustular.

A manutenção do isolado, para obtenção de uredosporos para as inoculações dos experimentos, foi feita através de inoculações semanais de plantas da linhagem Rosinha. As plantas foram inoculadas no estágio de folha primária jovem e mantidas em condições de casa de vegetação. Assim, todas as inoculações foram efetuadas com esporos frescos, provenientes de pústulas novas de folhas primárias jovens da linhagem Rosinha.

3.3. Quantificação dos Parâmetros Monocíclicos sob Diferentes Temperaturas em Folhas Primárias e Trifoliadas de Feijoeiro

3.3.1. Método de inoculação de *U. phaseoli* var. *typica*

As plantas a serem utilizadas foram obtidas pela semeadura das linhagens Rosinha e Carioca em vasos de alumínio, mantidas em condições de casa de vegetação até o momento da inoculação.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com duas plantas.

O inóculo foi obtido de plantas da linhagem Rosinha, inoculadas com o isolado monopustular de *U. phaseoli*, mantidas em casa de vegetação. Os uredosporos foram coletados agitando-se a folha do feijoeiro sobre uma folha de papel manteiga, coletando-se assim apenas os esporos maduros. Com esses esporos foi feita uma suspensão de uredosporos em solução de Tween 80 a 0,02% em água destilada, calibrada para a concentração de 2×10^4 uredosporos/ml, e a inoculação foi realizada com auxílio de um pulverizador do tipo DE VILBISS.

A inoculação foi feita nas duas faces da folha e os vasos foram mantidos em câmara úmida e escura por 48 horas, em câmara do tipo Phytotron, e após esse período as plantas foram mantidas sob o regime de luz alternada (12 horas de luz branca/12 horas de escuro), na mesma câmara de crescimento.

3.3.2. Avaliação dos parâmetros monocíclicos

a) Período de Incubação: após a inoculação, as plantas de feijoeiro foram periodicamente observadas. Constatando-se os primeiros sintomas, que no caso da ferrugem do feijoeiro constituem-se de pontos esbranquiçados e levemente salientes, foram realizadas contagens cumulativas, a cada 12 horas, do número de pústulas imaturas e/ou maduras, até que novas infecções não aparecessem, indicando a estabilização do processo. As contagens realizadas em cada parcela experimental possibilitaram a obtenção de um gráfico relacionando o número de sintomas localizados com o tempo, tendo sido considerado como período de incubação o tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% dos primeiros sintomas.

b) Período Latente: após a constatação das primeiras pústulas com uredosporos, foram realizadas contagens cumulativas, a cada 12 horas, do número de pústulas maduras. Considerou-se como pústulas maduras, isto é, aquelas que estavam produzindo uredosporos, quando se podia observar, visualmente, a mudança de coloração da pústula para pardo-avermelhada. De maneira semelhante à determinação do período de incubação, representou-se graficamente a evolução do número de pústulas em função do tempo e considerou-se período latente o tempo decorrido entre a inoculação e o aparecimento de 50% das pústulas maduras.

c) Frequência de Infecção: foi considerado o número médio de pústulas esporulantes por folha, após a estabilização do processo.

d) Período Infeccioso: foi considerado o número de dias que a lesão permaneceu esporulando. Foi determinado pela coleta diária de esporos de pústulas marcadas, até que as folhas se tornassem amarelas.

e) Produção de Esporos: após o aparecimento das primeiras pústulas esporulantes, iniciou-se a coleta de esporos, a fim de se determinar o número de uredosporos produzidos por dia por pústula. Foram marcadas ao acaso 40 pústulas por variedade, sendo 20 na face superior e 20 na face inferior da folha, coletando-se, assim, diariamente, uredosporos das mesmas pústulas e avaliando-se o efeito da face da folha na produção de esporos. A coleta foi realizada com auxílio de um coletor de esporos acoplado à bomba de vácuo, apresentado por TORMELIN *et al* (1983), que consta de um erlenmeyer com duas entradas de borracha flexível, uma ligada à bomba de vácuo e outra com a função de succionar os uredosporos da pústula; os esporos são recolhidos num tubo de ensaio contendo 1 ml de solução de Tween 80 a 0,02% em água destilada. A determinação do número de esporos foi realizada com auxílio de microscópio, contando-se o número de esporos contidos em cinco gotas de 3 μ l cada.

3.3.3. Temperaturas e tipos de folha de feijoeiro testadas

Os experimentos para avaliação dos parâmetros monocíclicos foram realizados em câmara de crescimento do tipo "Phytotron", regulada para fotoperíodo de 12 horas de luz branca e 12 horas de

escuro. As plantas eram obtidas em casa de vegetação e após a inoculação transferidas para a câmara de crescimento, onde permaneciam até o final das avaliações. As temperaturas utilizadas foram: 17 e 21°C.

Foram testados os dois tipos de folhas característicos do feijoeiro, folha primária e trifoliada, no estágio de desenvolvimento considerado como folhas jovens, que corresponde a quatro dias após o início do seu desenvolvimento.

3.4. Cultura de Folha Destacada

3.4.1. Obtenção e acondicionamento das folhas destacadas de feijoeiro

As folhas destacadas foram obtidas de plantas de feijoeiro cultivadas em casa de vegetação. As folhas necessárias para a instalação dos ensaios foram retiradas das plantas, destacando-se o pecíolo junto às hastes, sendo imediatamente levadas para o laboratório para o devido acondicionamento.

Para o acondicionamento das folhas, foi utilizada a técnica desenvolvida por RIBEIRO *et al* (1976) e MORAES (1981). As folhas foram colocadas em placas de Petri de 90 mm de diâmetro, contendo uma fina camada de algodão e uma folha de papel de filtro, umedecidas com 25 ml de água estéril. Antes da folha ser colocada na placa, seu pecíolo, imerso em água estéril, foi cortado com uma tesoura

desinfectada e envolvido com algodão umedecido. Sob cada folha foi colocada uma lâmina de vidro, a fim de evitar o contato direto da mesma com o papel de filtro úmido. Cada placa de Petri recebeu uma folha, e nos ensaios realizados com a folha trifoliada o acondicionamento foi feito com o folíolo central da 1ª folha trifoliada jovem, pelo fato de, nesse estágio de desenvolvimento, a folha já ter atingido um tamanho que não permite acondicioná-la numa placa de Petri de 90 mm de diâmetro.

As folhas foram colocadas nas placas em duas posições: com a face superior voltada para cima e com a face inferior voltada para cima, a fim de verificar o efeito da face da folha inoculada na quantificação dos parâmetros monocíclicos.

3.4.2. Inoculação e condições de incubação das folhas destacadas de feijoeiro

A inoculação das folhas destacadas foi feita seguindo a mesma metodologia descrita no item 3.3.1., pulverizando uma suspensão de uredosporos em solução de Tween 80 a 0,02% em água destilada, numa concentração de 2×10^4 uredosporos/ml. A inoculação foi realizada na face superior ou inferior da folha, conforme o tratamento em questão. Após a inoculação as placas foram fechadas, recebendo um plástico transparente sob a tampa, a fim de manter alta umidade relativa em seu interior.

A incubação das placas com as folhas destacadas inoculadas foi feita em câmara de crescimento do tipo "Phytotron", à temperatura de 21^oC. As placas foram mantidas em câmara úmida e escura durante as primeiras 48 horas de incubação, seguindo-se um regime de luz alternada (12 horas de luz branca/12 horas de escuro).

4. RESULTADOS

4.1. Quantificação do Período de Incubação, Período Latente, Frequência de Infecção, Produção de Esporos e Período Infeccioso, em Folhas Primárias e Trifoliadas Jovens, em Folhas Intactas, à 21°C

As Tabelas 1, 2, 3 e 4 mostram o tempo, em horas, referente ao período de incubação e ao período latente, o número médio de pústulas por folha ou folíolo (frequência de infecção) e o número de dias referentes ao período infeccioso, respectivamente, determinados em folhas primárias e trifoliadas jovens, nas linhagens de feijoeiro Rosinha e Carioca, em folhas intactas, à 21°C.

A curva da produção diária de esporos e a curva cumulativa da produção de esporos, considerando as faces superior e inferior de folhas primárias jovens, encontram-se nas Figuras 1 e 2, respectivamente. Para as folhas trifoliadas jovens, as curvas de produção diária de esporos e a cumulativa da produção de esporos, considerando as faces superior e inferior, encontram-se nas Figuras 3 e 4, respectivamente.

Tabela 1. Período de incubação*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 21°C (valores em horas)

Tipo de Folha \ Variedade	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	122,98	124,68	123,83a
Trifoliada	120,52	121,56	121,04a
Média	121,75A	123,12A	

CV = 2,74%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 2. Período latente*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 21°C (valores em horas)

Tipo de Folha \ Variedade	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	175,60aA	181,06aB	178,33
Trifoliada	173,52aA	174,70bA	174,11
Média	174,56	177,88	

CV = 1,24%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 3. Frequência de infecção*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 21°C

Tipo de Folha \ Variedade	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	139,45	23,70	81,57a
Trifoliada	172,18	126,68	149,43b

Média 155,81A 75,19B

CV = 35,59%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 4. Período infeccioso*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 21°C (valores em dias)

Tipo de Folha \ Variedade	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	19	19	19
Trifoliada	19	19	19

Média 19 19 19

* = Média de 5 repetições

Obs.: Não foi feita análise de variância por não haver diferença entre os tratamentos.

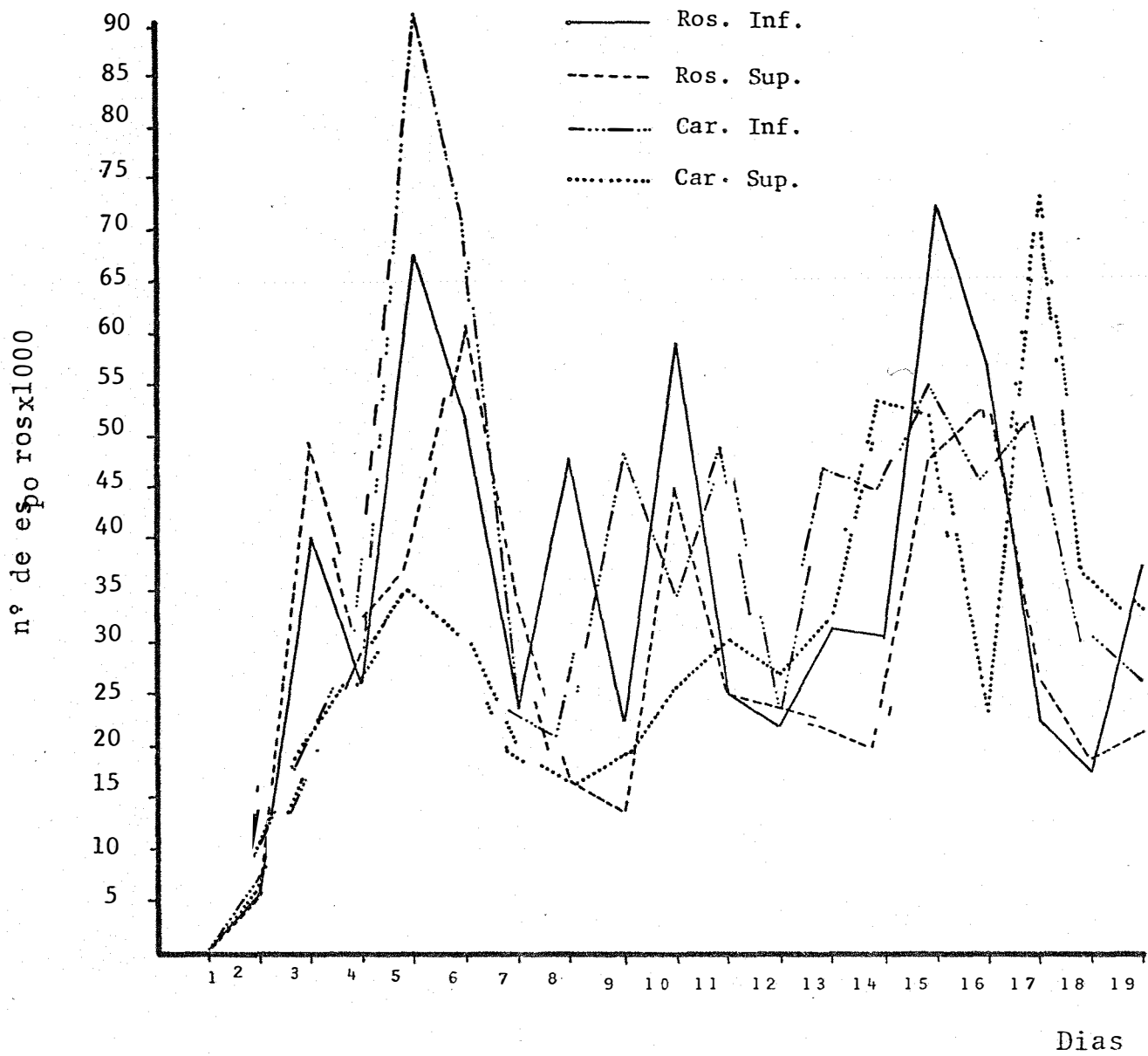


Figura 1. Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas primárias jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 21°C

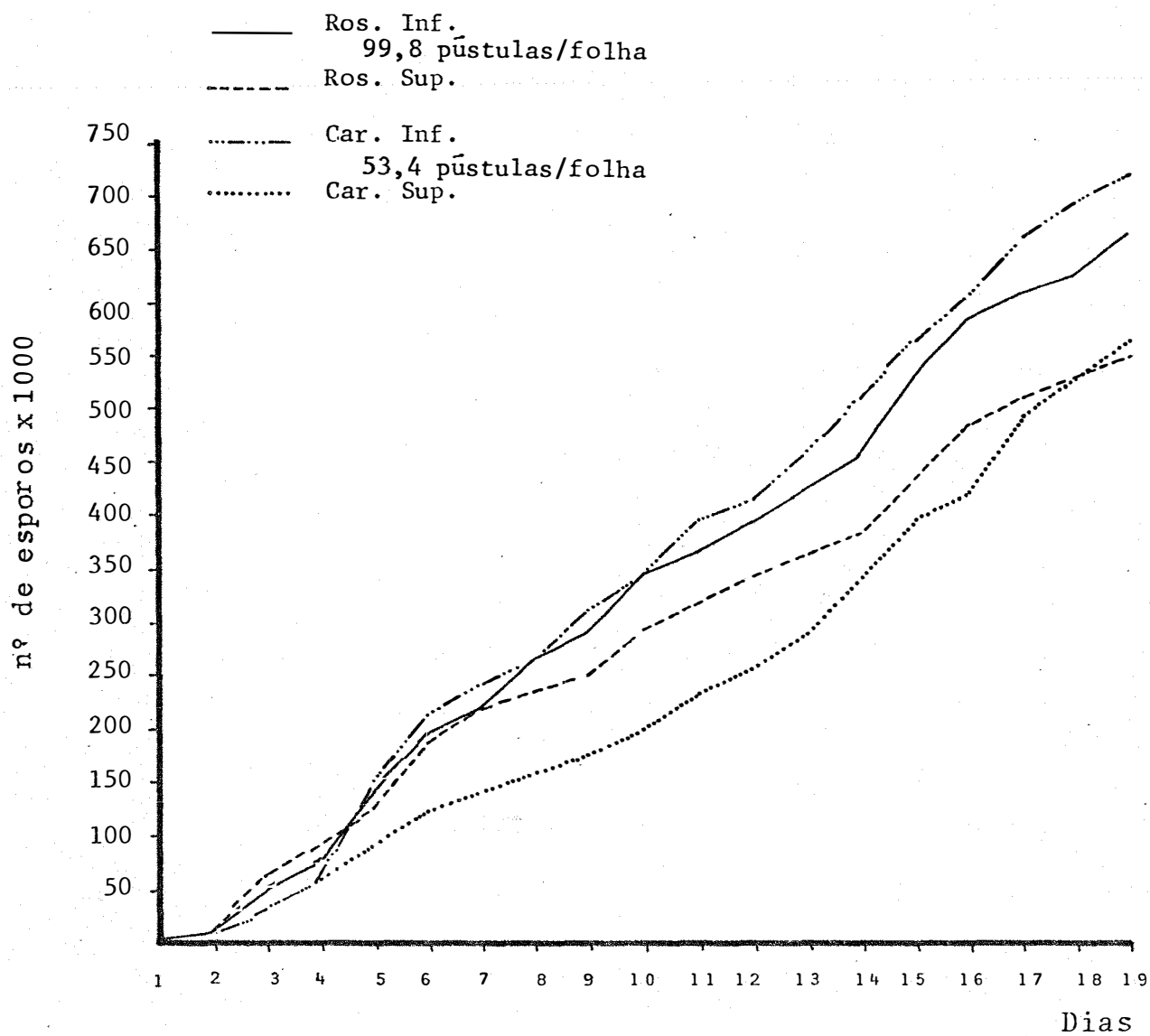


Figura 2. Curva cumulativa da produção de esporos em folhas primárias jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 21°C.

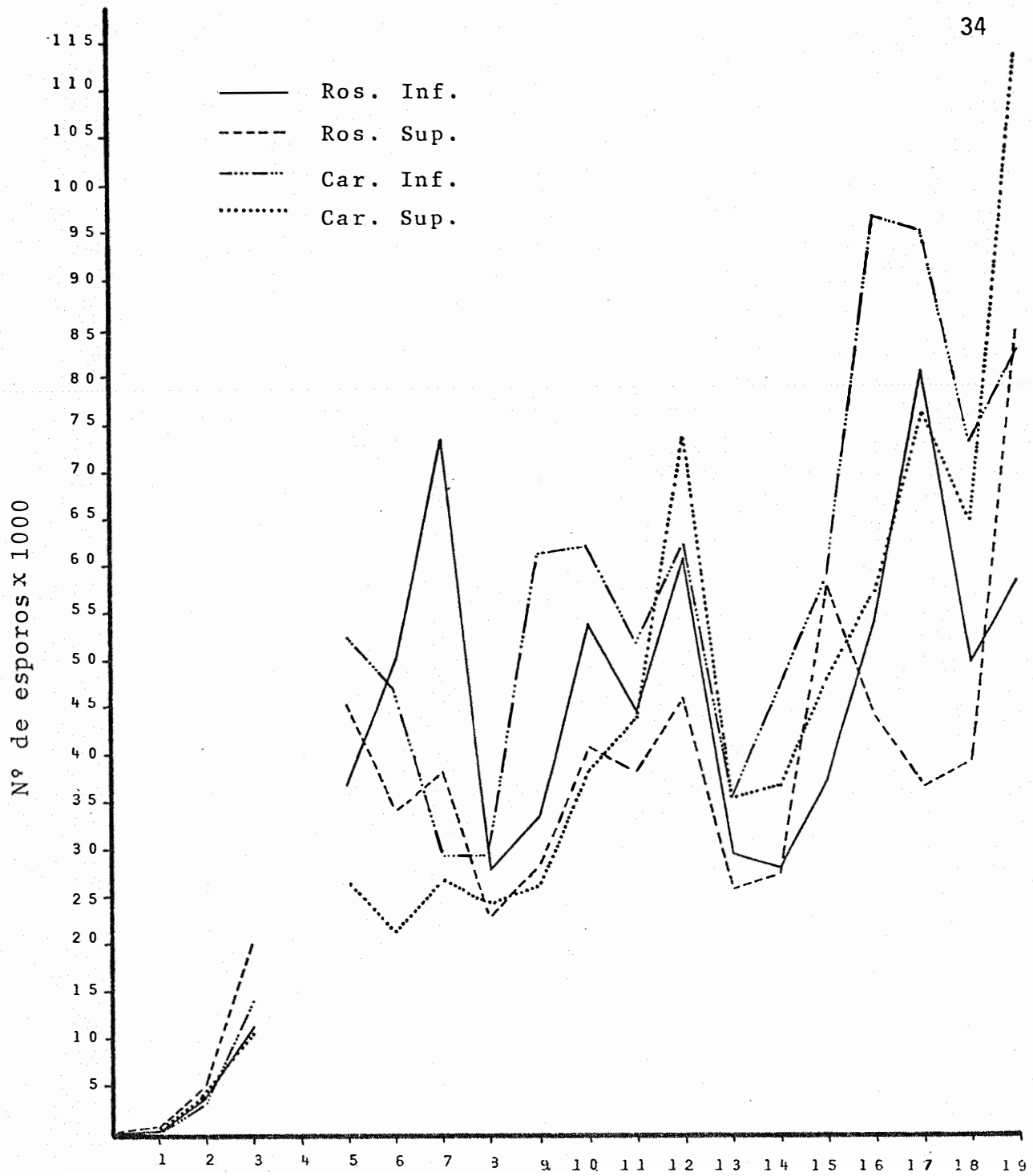


Figura 3. Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas trifoliadas jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 21°C.

Obs.: os valores da produção de esporos no quarto dia não foram considerados devido a problemas no coletor de esporos.

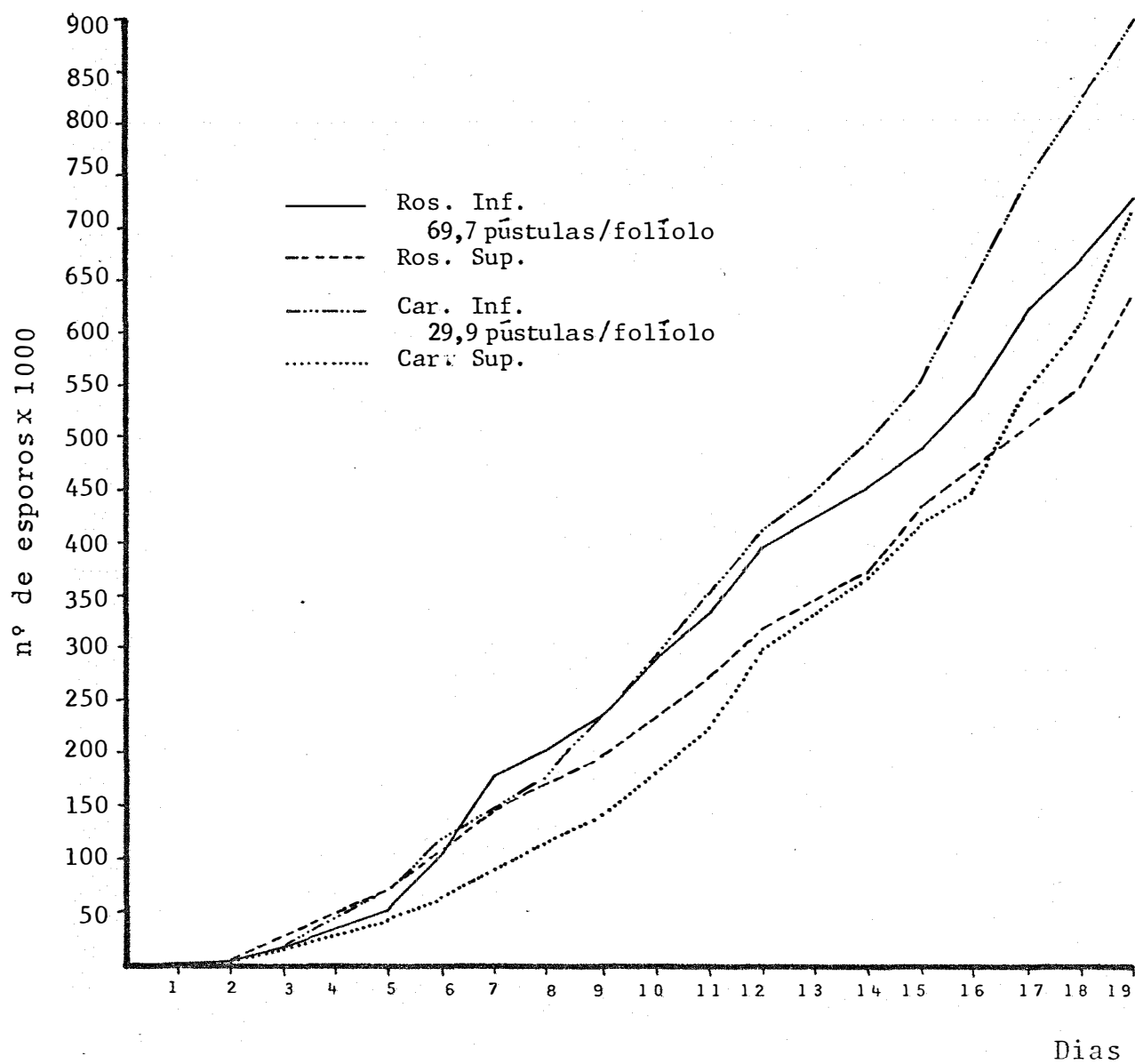


Figura 4. Curva cumulativa de produção de esporos em folhas trifoliadas jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 21°C

4.2. Quantificação do Período de Incubação, Período Latente, Frequência de Infecção, Produção de Esporos e Período Infeccioso, em Folhas Primárias e Trifoliadas Jovens, em Folhas Intactas, à 17°C

As Tabelas 5, 6, 7 e 8 mostram o tempo, em horas, referente ao período de incubação e ao período latente, o número médio de pústulas por folha ou folíolo (frequência de infecção) e o número de dias referentes ao período infeccioso, respectivamente, determinados em folhas primárias e trifoliadas jovens, nas linhagens de feijão Rosinha e Carioca, em folhas intactas, à 17°C.

A curva da produção diária de esporos e a curva cumulativa da produção de esporos, considerando as faces superior e inferior de folhas primárias jovens, encontram-se nas Figuras 5 e 6, respectivamente. Para as folhas trifoliadas jovens, as curvas de produção diária de esporos e a cumulativa da produção de esporos, considerando as faces superior e inferior, encontram-se nas Figuras 7 e 8, respectivamente.

Tabela 5. Período de Incubação*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 17°C (valores em horas)

Tipo de Folha \ Variedade	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	148,80	152,36	150,58a
Trifoliada	139,20	145,26	142,23b
Média	144,00A	148,81A	

CV = 5,98%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 6. Período latente*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 17°C (valores em horas)

Tipo de Folha \ Variedade	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	219,64	222,24	220,94a
Trifoliada	200,72	206,84	203,78b
Média	210,18A	214,54B	

CV = 1,80%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 7. Frequência de Infecção*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 17°C

Tipo de Folha \ Variedade	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	234,45aA	79,00aB	156,73
Trifoliada	323,80bA	281,44bA	302,62
Média	279,13	180,22	

CV = 18,16%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 8. Período Infeccioso*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, em folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas intactas, a 17°C (valores em dias)

Tipo de Folha \ Variedade	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	13	12	12,5
Trifoliada	12	12	12
Média	12,5	12	

* = Média de 5 repetições

Obs.: Não foi feita análise de variância por não haver diferença entre os tratamentos.

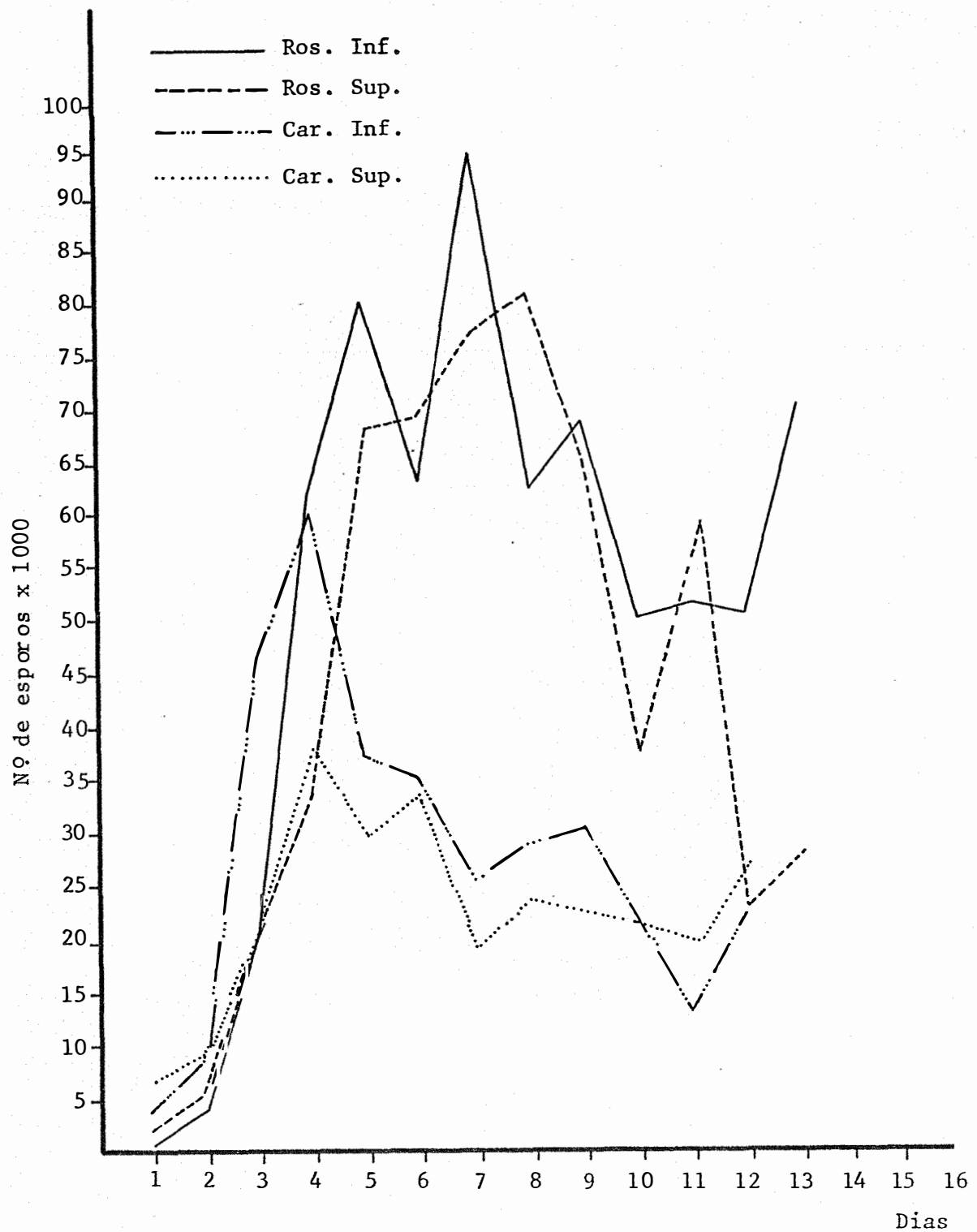


Figura 5. Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas primárias jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 17°C

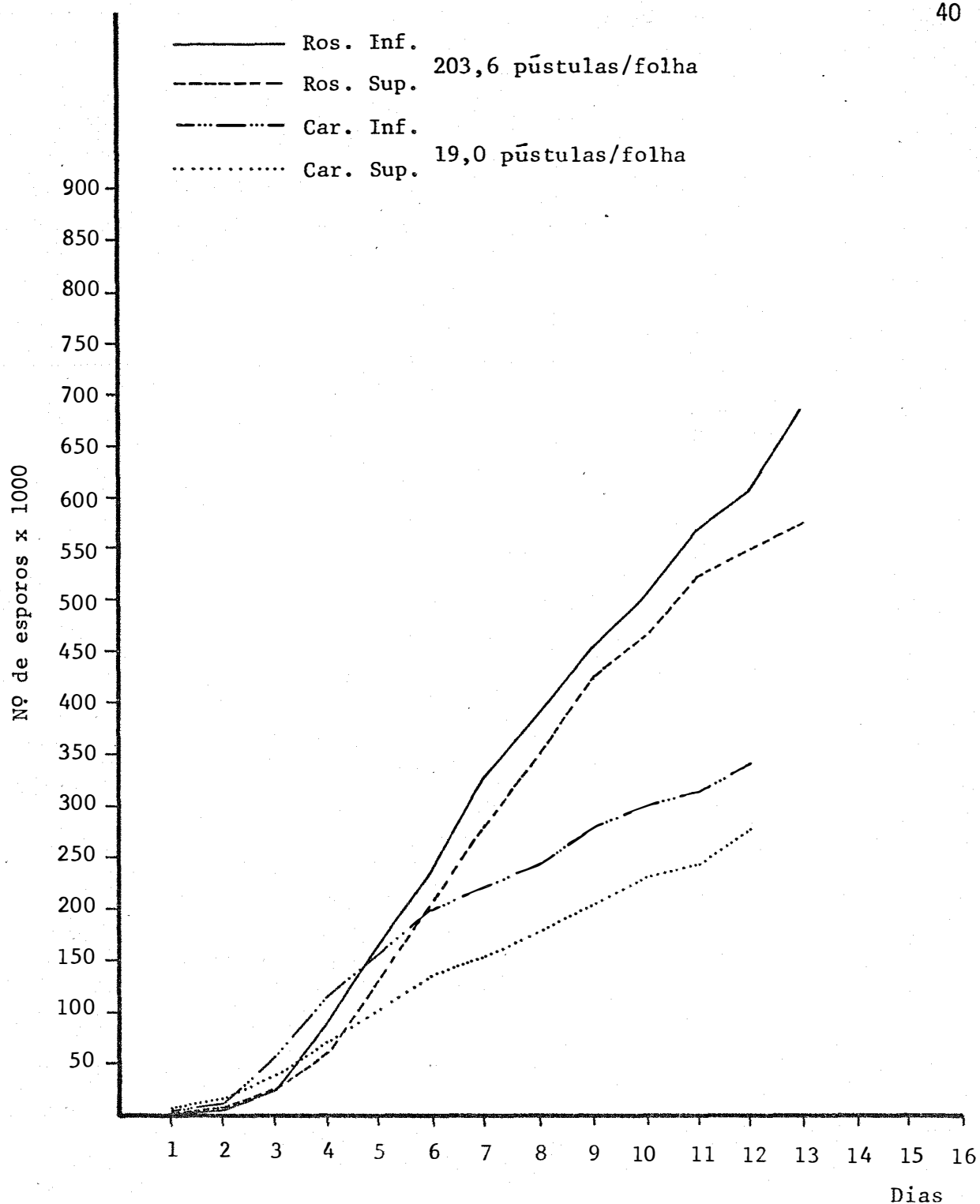


Figura 6. Curva cumulativa da produção de esporos em folhas primárias jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 17°C

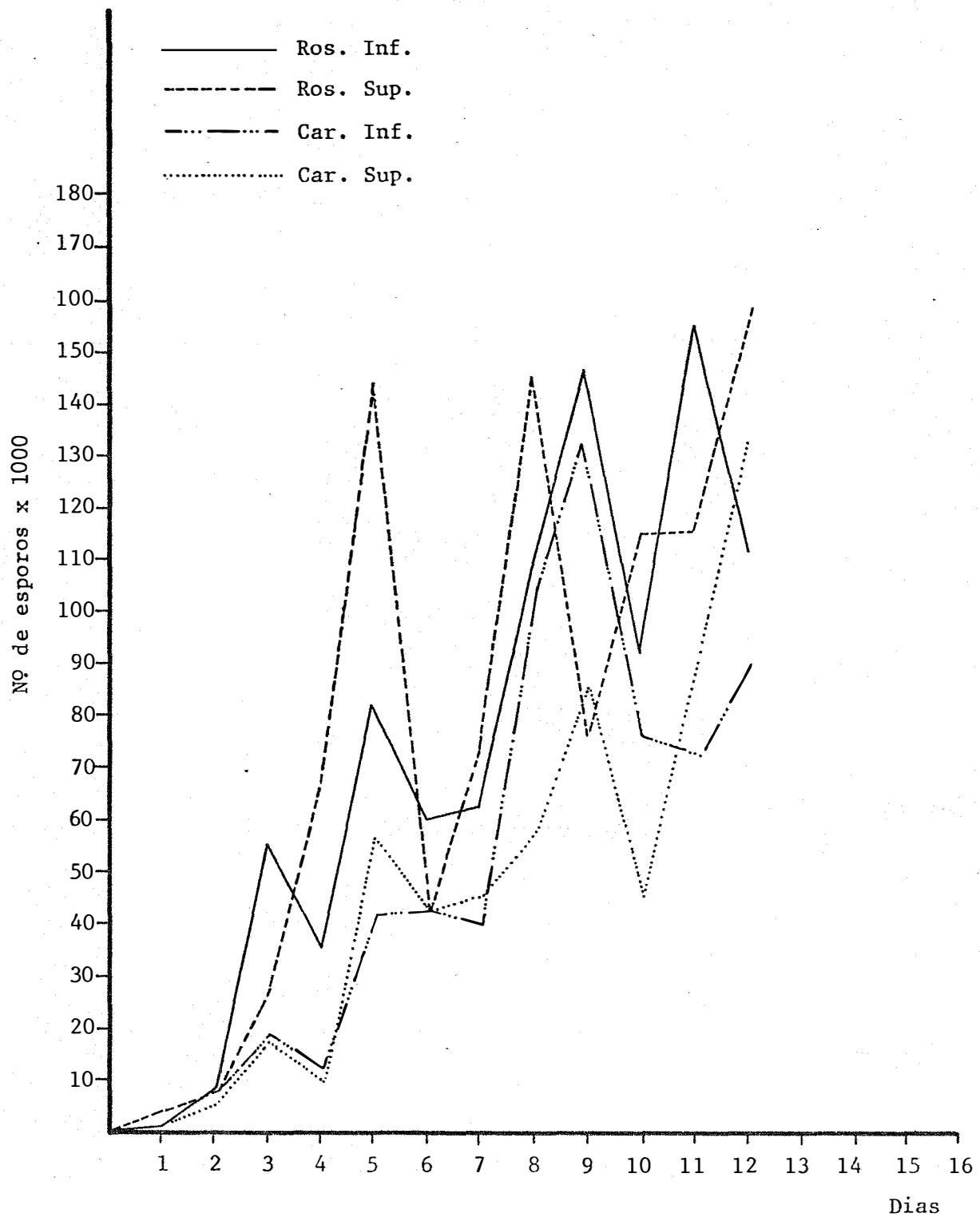


Figura 7. Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas trifoliadas jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 17°C

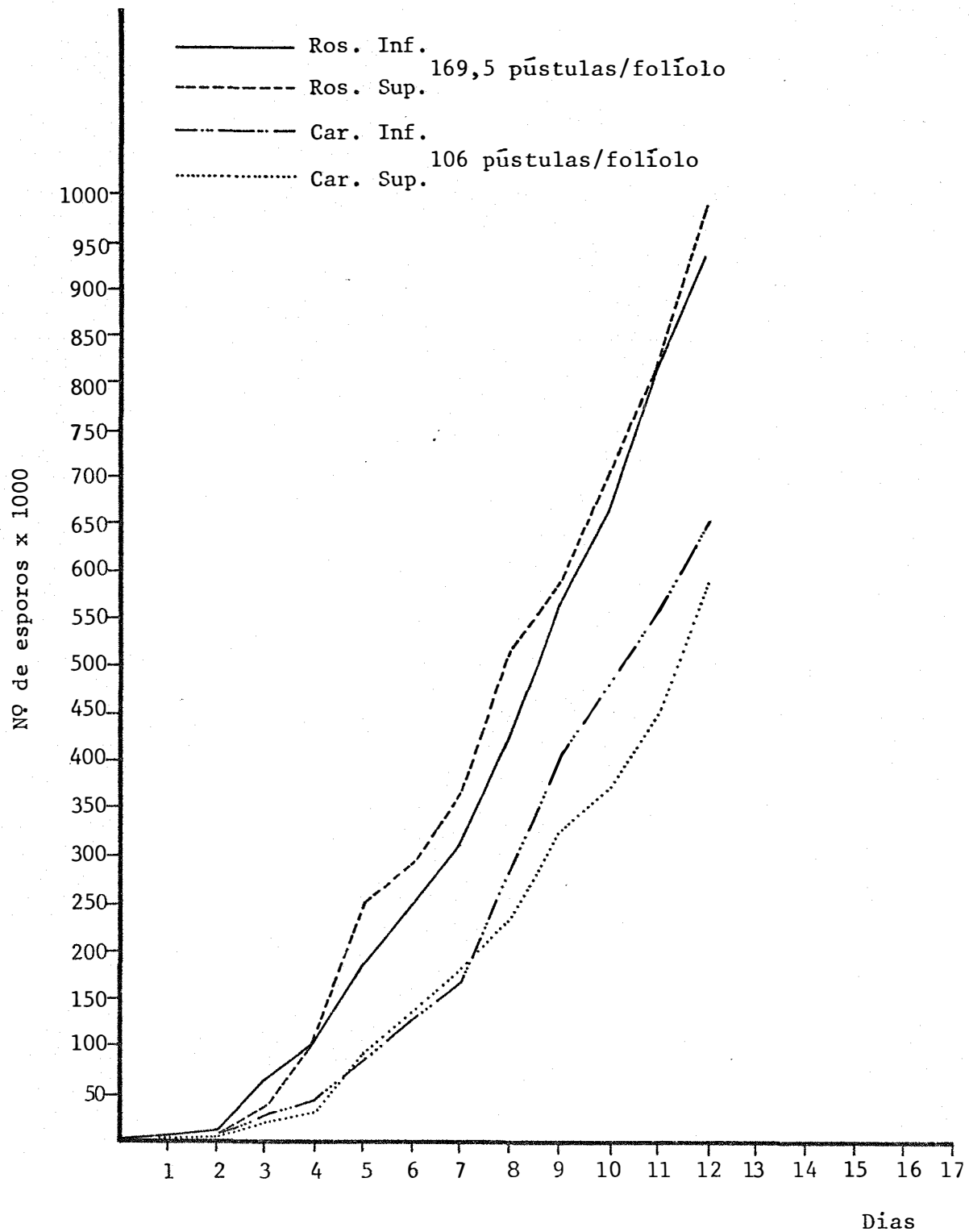


Figura 8. Curva cumulativa da produção de esporos em folhas trifoliadas jovens não destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 17°C

4.3. Quantificação do Período de Incubação, Período Latente, Frequência de Infecção, Produção de Esporos e Período Infeccioso, em Folhas Primárias e Trifoliadas Jovens, em Folhas Destacadas, à 21^oC

As Tabelas 9, 10 e 11 mostram o tempo em horas referente ao período de incubação e ao período latente, e o número médio de pústulas por folha ou folíolo (frequência de infecção), respectivamente, determinados na face inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, nas linhagens de feijoeiro Rosinha e Carioca, sob a técnica da folha destacada, à 21^oC.

As Tabelas 12, 13 e 14 mostram o tempo em horas referente ao período de incubação e ao período latente, e o número médio de pústulas por folíolo (frequência de infecção respectivamente, determinados nas faces superior e inferior de folhas trifoliadas jovens, das linhagens Carioca e Rosinha, em folhas destacadas, à 21^oC.

O número de dias referentes ao período infeccioso, considerando as faces superior e inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, das duas linhagens de feijoeiro em estudo, encontram-se na Tabela 15. A Tabela 16 mostra o número de pústulas por folha ou folíolo (frequência de infecção) considerando as faces superior e inferior, de folhas primárias e trifoliadas jovens nas linhagens Rosinha e Carioca.

A curva da produção diária de esporos e a curva cumulativa da produção de esporos, considerando as faces superior e inferior de folhas primárias jovens encontram-se nas Figuras 9 e 10, respectivamente. Para as folhas trifoliadas jovens, as curvas de produção diária de esporos e a cumulativa da produção de esporos, considerando as faces superior e inferior, encontram-se nas Figuras 11 e 12, respectivamente.

Tabela 9. Período de incubação*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, na face inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas destacadas, à 21°C (valores em horas)

Tipo de Folha	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	121,0	126,4	123,7a
Trifoliada	120,4	127,0	123,7a
Média	120,7A	126,7B	

CV = 3,68%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 10. Período latente*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, na face inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas destacadas, à 21°C (valores em horas)

Tipo de Folha \ Variedade	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	185,6	194,2	189,9a
Trifoliada	182,6	184,4	183,5a
Média	184,1A	189,9A	

CV = 4,19%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 11. Frequência de infecção*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, na face inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas destacadas, à 21°C

Tipo de Folha \ Variedade	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Primária	127,0	46,0	86,5a
Trifoliada	179,8	55,6	117,7a
Média	153,4A	50,8B	

CV = 20,07%

* = Média de 5 repetições

Obs.1: Dados transformados para $\log(x + 1)$

Obs.2: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 12. Período de incubação*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, nas faces superior e inferior de folhas trifoliadas jovens, em folhas destacadas, a 21°C (valores em horas)

Face da Folha	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Superior	125,2	130,0	127,6a
Inferior	120,4	127,0	123,7b
Média	122,8A	128,5B	

CV = 3,54%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 13. Período latente*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, nas faces superior e inferior de folhas trifoliadas jovens, em folhas destacadas, a 21°C (valores em horas)

Face da Folha	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Superior	184,2	186,6	185,4a
Inferior	182,6	184,4	183,5a
Média	183,4A	185,5A	

CV = 2,38%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 14. Frequência de infecção*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, nas faces superior e inferior de folhas trifoliadas jovens, em folhas destacadas, a 21°C

Face da Folha	Variedade		Média
	Rosinha	Carioca	
Superior	120,8	67,4	94,1a
Inferior	179,8	55,6	117,7a
Média	150,3A	61,5B	

CV = 48,61%

* = Média de 5 repetições

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 15. Período infeccioso*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, nas faces superior e inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas destacadas, a 21°C (valores em dias)

Tipo e Face da Folha	Variedade		
	Rosinha	Carioca	
Primária	Sup.	13,0	13,0
	Inf.	13,0	13,0
Trifoliada	Sup.	9,0	9,0
	Inf.	9,0	9,0

* Média de 5 repetições.

Tabela 16. Frequência de infecção*, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, nas faces superior e inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens, em folhas destacadas, à 21°C

Variedade		Rosinha		Carioca	
		Rosinha		Carioca	
Tipo e Face da Folha		Rosinha		Carioca	
Primária	Sup.	36,2	0,4		
	Inf.	127,0	46,0		
Trifoliada	Sup.	120,8	67,4		
	Inf.	179,8	55,6		

* Média de 5 repetições

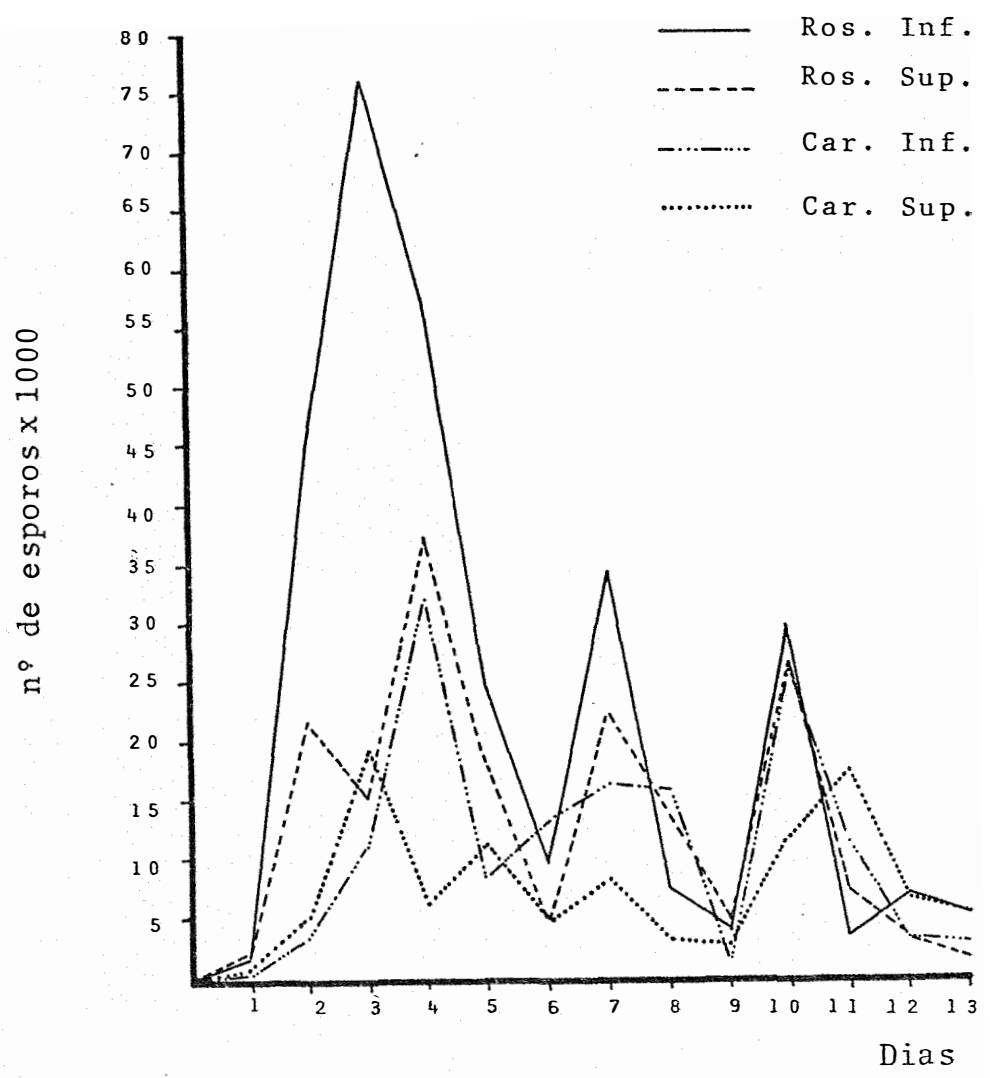


Figura 9. Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas primárias jovens destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 21°C

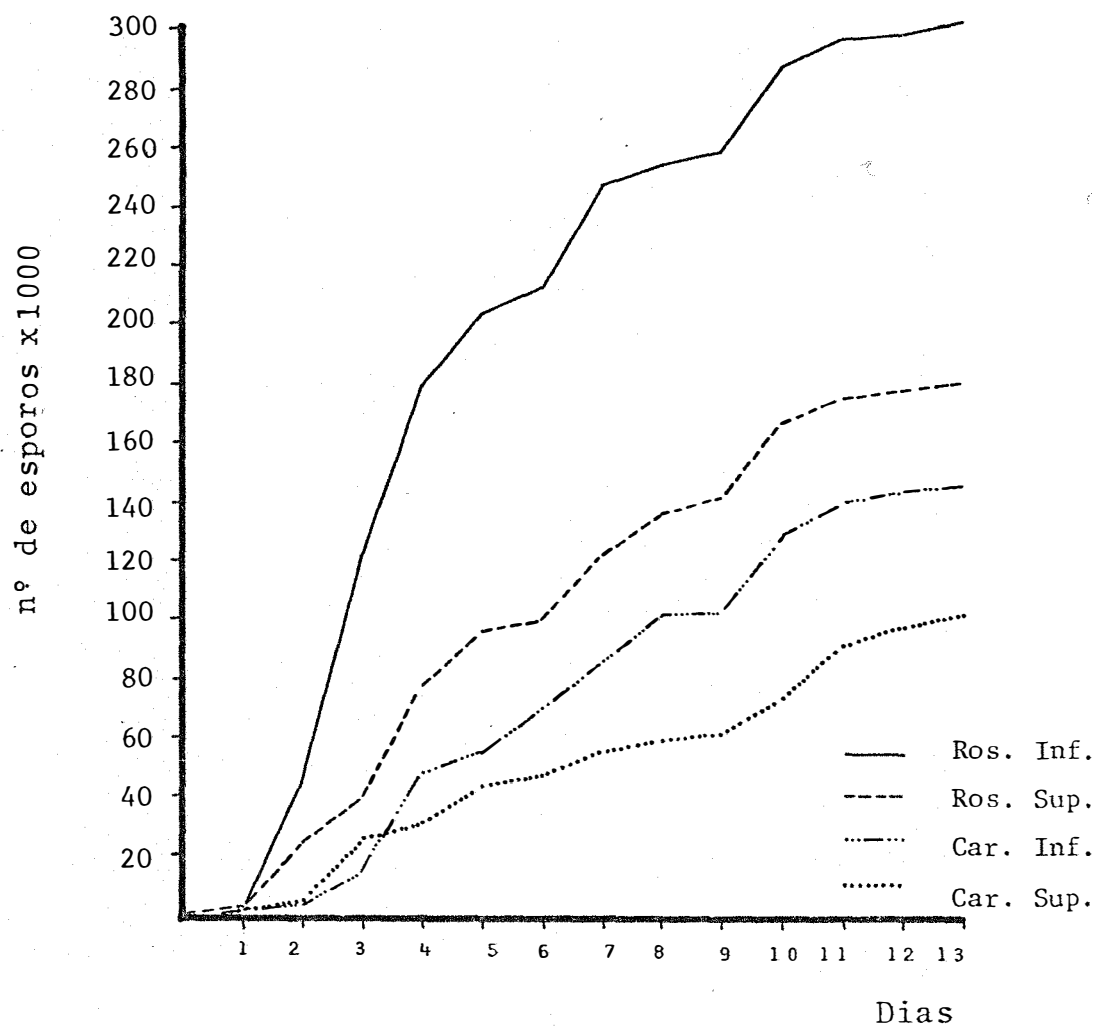


Figura 10. Curva cumulativa de produção de esporos em folhas primárias jovens destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, a 21°C

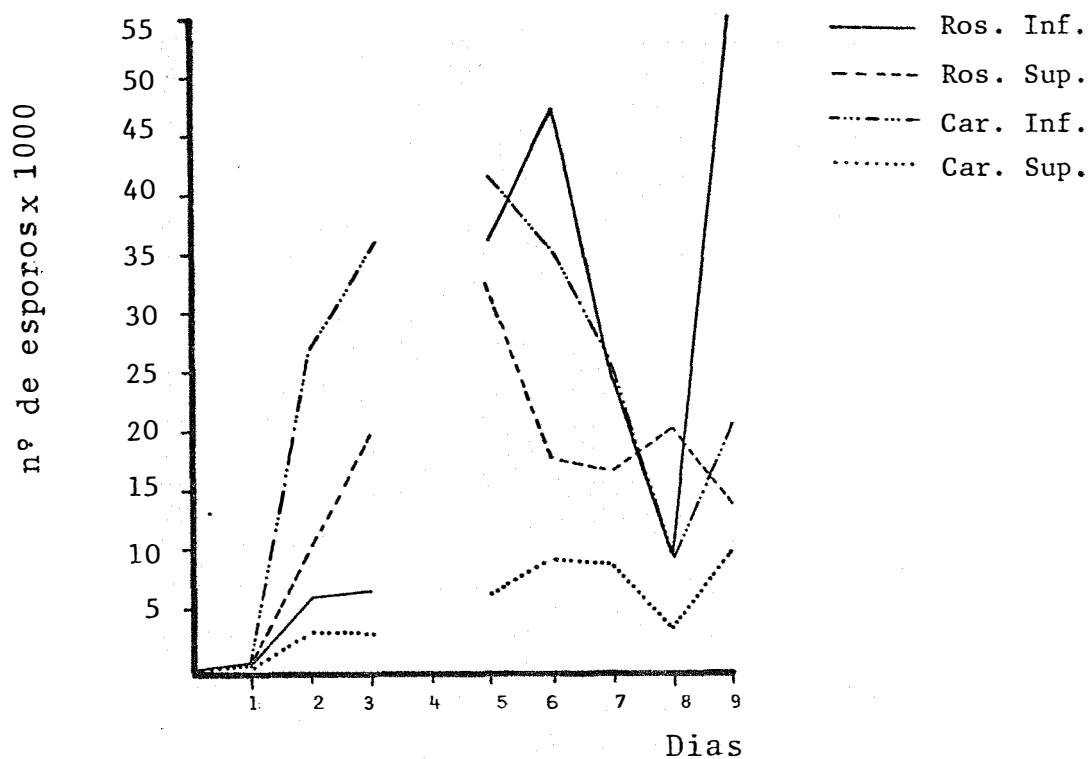


Figura 11. Curva de produção diária de esporos por pústula em folhas trifoliadas jovens destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 21°C

Obs.: os valores da produção de esporos no quarto dia não foram considerados devido a problemas no coletor de esporos.

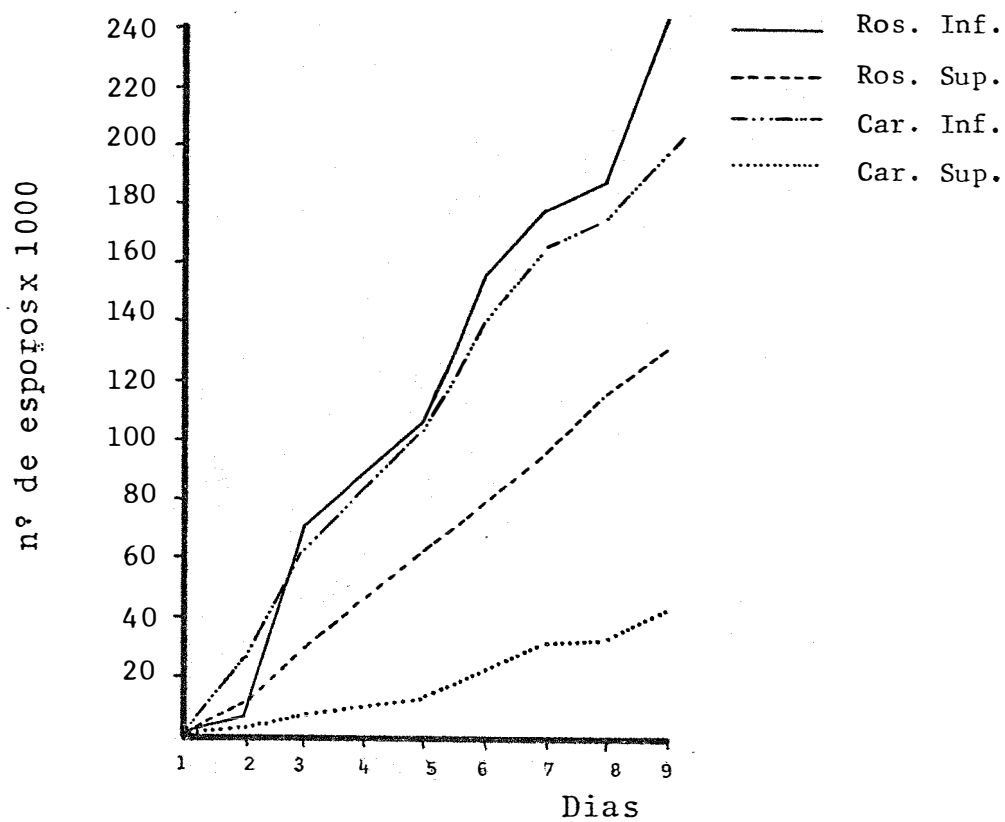


Figura 12. Curva cumulativa de produção de esporos em folhas trifoliadas jovens destacadas, considerando as linhagens Rosinha e Carioca, faces superior e inferior, à 21°C

5. DISCUSSÃO

5.1. Quantificação dos Parâmetros Monocíclicos em Folhas Primárias e Trifoliadas Jovens, não Destacadas, em Diferentes Temperaturas

5.1.1. Período de Incubação

O período de incubação é definido como o intervalo de tempo entre a inoculação e o aparecimento dos primeiros sintomas visíveis da doença (PARLEVLIET, 1979). Apesar de não ser considerado um componente da resistência, pois não afeta diretamente a taxa reprodutiva do patógeno (PARLEVLIET, 1979; ZADOKS e SCHEIN, 1979; PAIVA *et al*, 1984), esse parâmetro tem sido utilizado para avaliação de resistência a fitopatógenos, pois normalmente apresenta uma alta correlação com o período latente (MORAES *et al*, 1976; MENTEN, 1980; SUBRAMANYAM *et al*, 1983).

O estágio de desenvolvimento do hospedeiro no momento da infecção tem-se mostrado um fator importante na obtenção de dados

para a construção de modelos de simulação de epidemias (AUST *et al*, 1983). Para o sistema *Uromyces phaseoli* - feijoeiro não foram detectadas diferenças no valor do período de incubação entre os dois tipos de folhas estudados, primárias e trifoliadas jovens, à temperatura de 21°C (Tabela 1). Mas, quando a determinação desse parâmetro foi feita à 17°C (Tabela 5), verificou-se que as folhas primárias jovens são mais resistentes que as folhas trifoliadas jovens, isto é, apresentam um período de incubação mais longo, o que está de acordo com o encontrado por AUST *et al* (1983) que, estudando o sistema *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* - cevada, demonstraram que o valor do período de incubação é dependente da temperatura e do estágio de desenvolvimento da planta hospedeira. A dependência do período de incubação da temperatura, também foi demonstrada por MORAES *et al* (1976), no sistema *Hemileia vastatrix* - cafeeiro. Esses autores encontraram um período de incubação mais curto à temperaturas mais elevadas, o que também mostrou-se verdadeiro para o sistema patógeno hospedeiro em estudo (Tabelas 1 e 5).

As linhagens Rosinha e Carioca não apresentaram diferenças no valor do período de incubação em nenhuma das temperaturas testadas (Tabelas 1 e 5). MENTEN (1980), testando a reação de diferentes genótipos de feijoeiro à ferrugem, detectou diferenças significativas entre linhagens de feijoeiro baseando-se nesse parâmetro mas, também naquele trabalho, as duas linhagens aqui estudadas comportaram-se de maneira semelhante.

5.1.2. Período Latente

O período latente é definido como o espaço de tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das pústulas esporulantes (PARLEVIET, 1975). Trata-se de um parâmetro de importância epidemiológica (PARLEVIET, 1979; ZADOKS e SCHEIN, 1979; PAIVA *et al*, 1984) e tem sido estudado com detalhes em diversos sistemas patógeno-hospedeiro, pela sua grande importância na construção de modelos (ZADOKS, 1971).

Como já foi discutido no item 2.3, o período latente é afetado pela temperatura e pelo estágio de desenvolvimento do hospedeiro, podendo inclusive ocorrer uma interação entre esses dois fatores (TENG e CLOSE, 1978; AUST e HAU, 1981; IMHOFF *et al*, 1982; TORMELIN *et al*, 1983). Em muitos sistemas já estudados como, por exemplo, *Puccinia hordei* - cevada (TENG e CLOSE, 1978), *Septoria nodorum* - trigo (SHEARER e ZADOKS, 1972; AUST e HAU, 1981) e *Puccinia recondita tritici* - trigo (TORMELIN *et al*, 1983), um aumento na temperatura na faixa de 10-20°C provoca uma diminuição no período latente. Para *Uromyces phaseoli* var. *typica* também pôde-se observar essa reação, pois os valores do período latente, tanto para folhas primárias jovens como para trifoliadas jovens, mostrou-se menor à 21°C do que à 17°C (Tabela 2 e 6). Ainda nesse sistema, IMHOFF *et al* (1982) demonstraram o mesmo fenômeno trabalhando com folhas trifoliadas.

Quanto ao estágio de desenvolvimento do hospedeiro, TORMELIN *et al* (1983) relataram, para *Puccinia recondita tritici* -

trigo, a existência de uma interação entre esse fator e os valores do período latente. Essa interação também pôde ser verificada nesse trabalho, onde folhas primárias jovens, a 17^oC (Tabela 6), mostram-se mais resistentes (período latente mais longo) que trifoliadas jovens, independente da linhagem estudada. Já a 21^oC (Tabela 2), temperatura mais favorável para o desenvolvimento da ferrugem do feijoeiro (SCHWARTZ e GALVEZ, 1980), pôde-se verificar que existe uma interação entre as linhagens utilizadas e o tipo de folha. Assim, para a linhagem Carioca (mais resistente) a diferença no valor do período latente entre as folhas primárias e trifoliadas jovens pode ser notada com clareza, enquanto que na linhagem Rosinha isso não é possível.

Quanto às linhagens, foi possível detectar diferenças no nível de resistência, tendo-se a linhagem Rosinha como a mais suscetível quando a avaliação foi efetuada a 17^oC, independente do tipo de folha utilizado (Tabela 6). Mas, a 21^oC, as linhagens comportaram-se de maneira diferente apenas quando a avaliação foi feita em folhas primárias jovens, confirmando dados de MENTEN (1980) que também trabalhou na temperatura de 21^oC com esse tipo de folha de feijoeiro. Com folhas trifoliadas jovens não se pôde notar diferenças entre as linhagens. Esses fatos demonstram a real importância do estágio de desenvolvimento na expressão do nível de resistência de um determinado genótipo, em condições ótimas e subótimas para o desenvolvimento da epidemia.

5.1.3. Frequência de Infecção

A frequência de infecção, definida como a proporção de esporos que resultam em lesões esporulantes, constitui-se num dos principais componentes da resistência, influenciando diretamente a taxa de reprodução do patógeno (PARLEVIET, 1979).

Diferenças quanto à frequência de infecção entre genótipos são relatadas em diversas relações patógeno-hospedeiro (NEERVOORT e PARLEVIET, 1978; GROTH e URS, 1982; ASHER e THOMAS, 1983; SUBRAMANYAM *et al*, 1983). Esse componente também é influenciado pelas condições ambientais e estágio de desenvolvimento da planta hospedeira (GROTH e URS, 1982; HAU *et al*, 1983).

O efeito do estágio de desenvolvimento do hospedeiro na frequência de infecção já está comprovado, tendo sido verificado não somente um efeito da idade da planta, mas também da idade de folhas isoladas (GROTH e URS, 1982; HAU *et al*, 1983). Assim, dados que mostram uma queda no valor da frequência de infecção com a idade da folha já existem para os sistemas *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* - cevada (HAU *et al*, 1983) e *Uromyces phaseoli* var. *typica* - feijoeiro (GROTH e URS, 1982). Neste trabalho foi verificado que folhas primárias jovens são mais resistentes, isto é, apresentam um menor número de lesões que folhas trifoliadas jovens, independente da linhagem ou temperatura utilizada (Tabelas 3 e 7). Esse fato também foi detectado por GROTH e URS (1982).

Quanto ao nível de resistência das linhagens, nota-se que estas diferem entre si, tendo-se a linhagem Rosinha como a mais suscetível (maior número de lesões). Na avaliação feita a 21°C (Tabela 3) esse fato independe do tipo de folha utilizado, concordando com os dados obtidos em folhas primárias por MENTEN (1980). Mas, quando utilizou-se a temperatura de 17°C (Tabela 7), verificou-se uma interação entre variedade e tipo de folha. Assim, quando analisamos apenas as folhas primárias jovens, nota-se diferenças entre as linhagens, como já foi discutido, porém o mesmo não ocorre com as folhas trifoliadas jovens, confirmando assim a necessidade de estudos que considerem diferentes estádios de desenvolvimento da planta em diferentes ambientes.

5.1.4. Período Infeccioso e Produção de Esporos

O período infeccioso, espaço de tempo durante o qual uma lesão permanece esporulando (PARLEVIET, 1979), e a produção de esporos, número de esporos produzidos por lesão (JOHNSON e TAYLOR, 1976; PARLEVIET, 1979), são dois parâmetros de importância epidemiológica que têm sido pouco estudados pelas dificuldades encontradas na sua avaliação e obtenção de dados precisos.

De todos os componentes da resistência, o período infeccioso é o único que não possui um conceito bem definido (MENDES *et al.*, 1984). Isto é devido, entre outras razões, à interação do número de esporos produzidos por dia e do número de dias em que a lesão permanece esporulando. Estudos que relacionam esses dois fatores

mostram dois padrões de esporulação que podem separar os patógenos em duas classes: aqueles cuja curva de produção diária de esporos apresenta apenas um pico de esporulação logo no início do período infeccioso, como *Puccinia hordei* (TENG e CLOSE, 1978); *Erysiphe graminis* (ASHER e THOMAS, 1984); *Helminthosporium sativum* (MEHTA, 1981) e *Puccinia recondita triticina* (MEHTA e ZADOKS, 1970) e aqueles cuja curva de produção diária de esporos apresenta vários picos de esporulação durante o período infeccioso, isto é, uma esporulação intermitente, como *Phakopsora pachyrhizi* (MELCHING *et al*, 1979); *Puccinia arachidis* (SUBRAHMANYAM *et al*, 1983), *Peronospora viciae* (DICKINSON e SINGH, 1982) e *Puccinia psidii* (CASTRO *et al*, 1984). O primeiro estudo, considerando esporulação e período infeccioso de *Uromyces phaseoli* var. *typica*, realizado por YARWOOD (1961), com folhas primárias de feijoeiro, mostrou uma curva de produção diária de esporos com apenas um pico de esporulação, característica de patógenos do primeiro grupo discutido acima. Mais recentemente, trabalhos realizados por IMHOFF *et al* (1982); AUST *et al* (1984) e FEGIES *et al* (1984) detectaram um padrão de esporulação diferente daquele descrito por YARWOOD (1961) para ferrugem do feijoeiro, isto é, uma curva de produção de esporos com diversos picos de esporulação. Neste trabalho, as curvas de produção diária de esporos (Figuras 1, 3, 5 e 7), sempre se apresentaram com vários picos de esporulação, independente do tipo e face de folha, linhagem e temperatura utilizada. Esses dados contrastantes devem ser, provavelmente, devido às diferenças no método de avaliação.

A avaliação da produção de esporos pode ser realizada seguindo-se diferentes metodologias, conforme o sistema patógeno-hospedeiro em estudo. Porém, métodos que não permitem a diferenciação dos valores da produção de esporos entre a face superior e inferior das folhas devem ser evitados, pois já foi demonstrado existir uma interação entre a taxa de esporulação e a face da folha. Para o sistema *Helminthosporium sativum* - trigo, MEHTA (1981) verificou que a taxa de esporulação é maior na face superior das folhas, enquanto que MELCHING *et al* (1979) demonstraram para *Phakopsora pachyrhizi* - soja que a face inferior das folhas apresenta uma taxa de esporulação maior se comparada com a face superior. Para a ferrugem do feijoeiro obteve-se dados semelhantes à ferrugem da soja em todos os tratamentos realizados à 21°C (Figuras 1, 2, 3 e 4), concordando com AUST *et al*, (1984). Nos ensaios realizados à 17°C (Figuras 5, 6, 7 e 8), os valores totais da produção de esporos para a face superior e inferior estão bem próximos, mas apenas na avaliação em folhas trifoliadas da linhagem Rosinha a face superior das folhas apresentou uma maior taxa de esporulação.

O período infeccioso e, principalmente, a produção de esporos têm sido utilizados para avaliar resistência em diferentes genótipos (NEERVOORT e PARLEVLIEET, 1978; MEHTA, 1981; ASHER e THOMAS, 1984; DICKINSON e SINGH, 1982; SUBRAHMANYAM *et al*, 1983). Para esse tipo de trabalho, deve-se atentar ao fato de se considerar o número de lesões na folha na qual está sendo feita a avaliação, pois sabe-se

que quanto maior a densidade de lesões, menor a produção de esporos por lesão (YARWOOD, 1961; TENG e CLOSE, 1978; IMHOFF *et al.*, 1982; ROUSE *et al.*, 1984). A não consideração desse fator pode levar a inversões no ordenamento, quanto ao nível de resistência, dos genótipos testados. Como exemplo deste fenômeno temos a avaliação da produção de esporos em folhas primárias e trifoliadas jovens, das linhagens Rosinha e Carioca, a 21°C (Figuras 1, 2, 3 e 4). Sabe-se que a linhagem Carioca é mais resistente que a linhagem Rosinha, mas neste caso a produção diária de esporos por pústula e a produção total de esporos por pústula, contraditoriamente, foi maior na primeira. Esse fato é explicado pela comparação do número de pústulas por folha ou folíolo das duas linhagens, e calculando-se o número total de esporos produzidos por unidade foliar obtêm-se um valor bem mais alto para a linhagem Rosinha, como era de se esperar.

Quanto ao número de dias referente ao período infeccioso, pôde-se observar uma grande influência da temperatura, pois a 21°C a coleta de esporos foi possível durante 19 dias e a 17°C durante apenas 13 dias para as folhas primárias jovens e 12 dias para as folhas trifoliadas jovens da linhagem Rosinha e para os dois tipos de folha da linhagem Carioca (Tabelas 4 e 8). Essas diferenças, provavelmente, são devido ao número de dias em que as folhas do feijoeiro permanecem vivas em cada temperatura, pois as coletas eram realizadas até que as folhas se tornassem amarelas. Assim, sendo 21°C uma temperatura favorável para o desenvolvimento do feijoeiro, as folhas

permanecem vivas por um período de tempo maior, resultando num período infeccioso mais longo.

5.2. Quantificação dos Parâmetros Monocíclicos em Folhas Primárias e Trifoliadas Jovens, sob a Técnica de Folha Destacada

O uso de folhas destacadas, na avaliação de resistência de genótipos a fitopatógenos, está-se tornando cada vez mais frequente nas estações de melhoramento (MORAES, 1981; MORAES e SALGADO, 1982; 1983; MORAES e SAVY FILHO, 1983; SUBRAHMANYAM *et al*, 1983). Por se tratar de uma técnica simples, a utilização com sucesso de folhas destacadas depende, somente, da adaptação de diferentes metodologias para o sistema patógeno-hospedeiro em estudo. No entanto, a avaliação de resistência às doenças através de parâmetros monocíclicos de real importância epidemiológica, sob esta técnica, não tem sido utilizada com muita frequência, destacando-se apenas os estudos realizados por MORAES (1981) e SUBRAHMANYAM *et al* (1983).

Para o feijoeiro, pôde-se verificar que tanto as folhas primárias como as trifoliadas jovens, quando destacadas da planta mãe, enraizam rapidamente, sobrevivendo durante um período de tempo suficiente para as avaliações, de maneira semelhante a outras leguminosas como alfafa, soja e amendoim (WARD, 1959; MIGNUCCI, 1978; MORAES, 1981). Não foram encontradas dificuldades para o estabelecimento de doença em folhas destacadas tendo sido utilizada a mesma metodologia de inoculação de plantas em vasos.

Quanto ao efeito da face da folha inoculada, verificou-se que este fator é de grande importância, pois quando inoculou-se apenas a face superior das folhas destacadas, notou-se que o número de pústulas era sempre menor, quando comparado com aquele obtido com inoculações feitas na face inferior. Esse fato pode se tornar um problema quando trabalha-se com materiais ou tipos de folhas mais resistentes. Analisando-se a Tabela 16, observa-se um exemplo típico desse problema, com os dados obtidos para as folhas primárias jovens da linhagem Carioca, onde o número médio de pústulas obtidas na face superior das folhas é bem próximo de zero, enquanto que na face inferior esse valor é consideravelmente maior. O efeito da face da folha também foi verificado por MORAES (1981), onde as duas espécies de *Cercospora* estudadas em amendoim acarretaram um maior número de lesões quando a inoculação era feita na face superior das folhas destacadas.

Esse problema acarretou dificuldades na análise estatística, tendo sido realizada uma análise considerando as faces superior e inferior de folhas trifoliadas jovens das linhagens Rosinha e Carioca e outra análise considerando apenas a face inferior de folhas primárias e trifoliadas jovens das linhagens Rosinha e Carioca.

Pela análise das Tabelas 9, 10 e 11 verificou-se que os parâmetros período de incubação e frequência de infecção detectaram diferenças significativas entre as linhagens, independente do tipo de folha, enquanto que o período latente não apontou essas diferenças. Também não foram verificadas diferenças entre os tipos de

folhas em nenhum dos parâmetros estudados na face inferior. Na análise das Tabelas 12, 13 e 14 diferenças entre as linhagens também só foram verificadas através do período de incubação e da frequência de infecção. O efeito da face da folha inoculada, em folhas trifoliadas jovens, só foi verificado através do período de incubação, onde a face inferior apresentou um período de incubação mais curto (Tabela 12).

Quanto ao período infeccioso e à produção de esporos, nota-se pela análise da Tabela 15 e das Figuras 9, 10, 11 e 12, que o número de dias que a lesão permaneceu esporulando e o número de esporos produzidos por pústula são bem menores, quando comparados com aqueles obtidos, também a 21°C, com plantas em vasos. Essas diferenças são devido ao fato de as folhas destacadas não terem permanecido vivas por um período maior do que vinte dias, nestes ensaios. Mesmo assim, foi possível detectar diferenças entre as linhagens pela quantidade de esporos produzidos por pústula diariamente ou durante todo o período infeccioso, tanto em folhas primárias como nas trifoliadas jovens.

Pela análise dos dados, pôde-se constatar a existência de uma correlação entre os dados obtidos, na quantificação dos parâmetros monocíclicos, em plantas em vasos com aqueles obtidos sob a técnica de folha destacada, indicando que o seu uso, para avaliação de resistência neste sistema, é perfeitamente viável.

5.3. Utilização dos Dados Obtidos na Construção de um Modelo de Simulação de Epidemias de Ferrugem do Feijoeiro

A construção de modelos de simulação é uma excelente maneira de se aumentar o conhecimento sobre um sistema complexo, como uma epidemia (KRANZ e HAU, 1980; TENG e ZADOKS, 1980). A maioria dos modelos apresentados atualmente segue a cadeia de infecção proposta por GÄUMANN (1951). A Figura 13 mostra um processo monocíclico que, se integrado com o tempo, pode representar uma epidemia.

No modelo apresentado na Figura 13, pode-se visualizar uma série de variáveis de estado e taxas que determinam a passagem de um estado para o outro. Além dos fatores ligados ao patógeno, considera-se ainda a quantidade de tecido sadio, disponível à infecção, em relação ao tecido já doente. Todas essas variáveis são influenciadas por condições do ambiente como temperatura e umidade.

Os dados obtidos neste trabalho adaptam-se ao modelo apresentado na Figura 13. Assim, dados como o número de dias entre a inoculação e o aparecimento de lesões esporulantes e o número de dias nos quais a lesão permanece esporulando determinam o tempo que demora a passagem de "LATENTE" para "INFECCIOSO" e o número de dias nos quais a lesão permanece na variável de estado "INFECCIOSO" para, em seguida, passar a "TECIDO MORTO". Os dados experimentais de produção diária de esporos são utilizados no modelo para quantificar os esporos produzidos por dia de período infeccioso ("PRODUÇÃO DE ESPOROS"). A

simulação das fases "LIBERAÇÃO" até "PENETRAÇÃO" é uma das maiores dificuldades da construção de modelos, pois envolve fatores de aerobiologia, como taxa de dispersão e sobrevivência dos propágulos, de difícil quantificação. No modelo EPIGRAM, AUST *et al* (1983) simulam essas fases através do uso de plantas armadilhas no campo, que indicam a quantidade de esporos que chega ao campo e a sua efetividade. Neste trabalho, estudos desse tipo não foram realizados mas, correlacionando-se os dados de frequência de infecção com a produção de esporos pode-se ter uma idéia do valor da taxa de ocupação ("ROOC"), que engloba todas essas fases.

Neste trabalho são apresentados parte dos dados necessários para a construção de um modelo, que permitem numa primeira análise a identificação de fatores que possuem grande influência no comportamento desse sistema e que precisam ser mais estudados, como por exemplo, outras temperaturas além das duas estudadas, efeito da idade dos esporos na sua viabilidade e relação entre área foliar no estágio primário e trifoliado durante todo o ciclo da cultura.

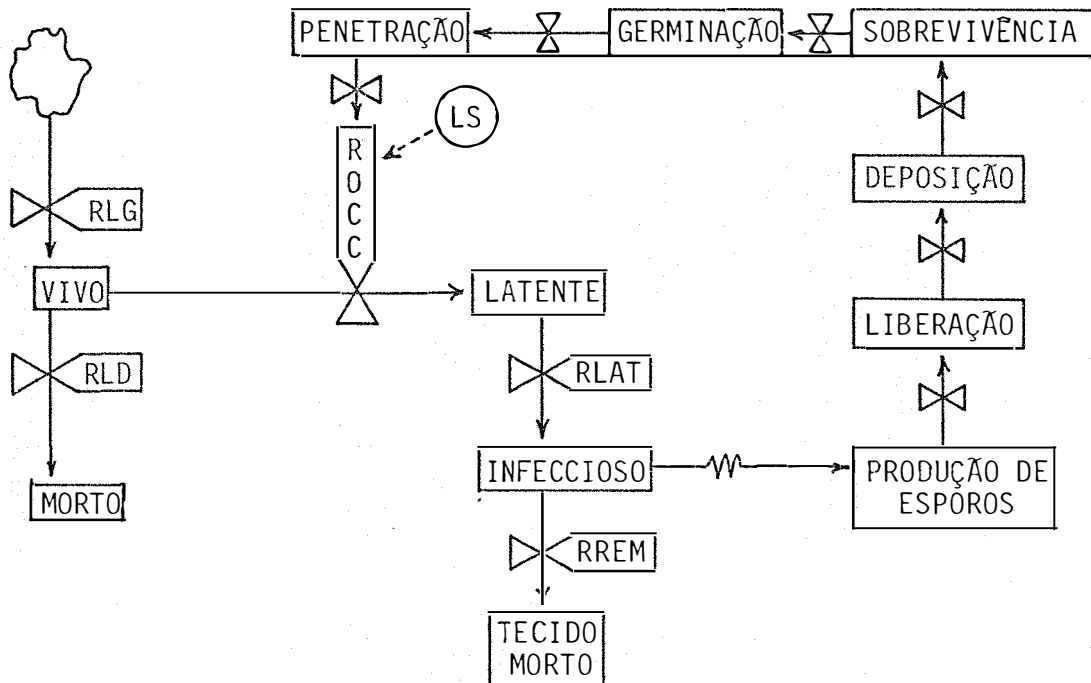


Figura 13. Esquema de um modelo de simulação de epidemias (adaptado de TENG e ZADOKS, 1980).

- Legenda:
- VIVO - tecido vivo do hospedeiro disponível à infecção
 - MORTO - tecido morto do hospedeiro por outras razões que não a doença
 - LATENTE - tecido do hospedeiro no estágio latente
 - INFECCIOSO - tecido do hospedeiro no estágio infeccioso
 - TECIDO MORTO - tecido do hospedeiro morto pela doença
 - PRODUÇÃO DE ESPOROS - quantidade de esporos produzidos por dia por lesão
 - LIBERAÇÃO - quantidade de esporos liberados no ambiente
 - DEPOSIÇÃO - quantidade de esporos que chegam à cultura
 - SOBREVIVÊNCIA - quantidade de esporos que permanecem viáveis
 - GERMINAÇÃO - quantidade de esporos que germinam na superfície foliar
 - PENETRAÇÃO - quantidade de esporos que penetram o tecido hospedeiro
 - ROCC - taxa de ocupação
 - RLAT - número de lesões que passa do estado latente para infeccioso
 - RREM - número de lesões que são removidas da epidemia, passam para tecido morto
 - RLG - taxa de crescimento do tecido do hospedeiro
 - RLD - taxa de morte do tecido do hospedeiro
 - LS - tamanho de lesão.

6. CONCLUSÕES

1. Na quantificação de parâmetros epidemiológicos monocíclicos visando à construção de modelos de epidemias no sistema *Uromyces phaseoli* var. *typica* - feijoeiro é importante considerar-se tanto diferentes temperaturas como diferentes tipos de folha.

2. Na quantificação de parâmetros epidemiológicos monocíclicos visando à avaliação resistência de genótipos à ferrugem do feijoeiro é importante considerar-se tanto diferentes temperaturas como diferentes tipos de folha.

3. Baseado na interação período infeccioso/produção de esporos deve-se considerar, na construção de modelos de simulação de epidemias, a determinação exata da estrutura de idade de lesões.

4. A técnica da cultura de folha destacada, considerando-se o parâmetro frequência de infecção em folhas trifoliadas, se adapta ao sistema *U. phaseoli* var. *typica* - feijoeiro, podendo facilitar o trabalho de quantificação de resistência de genótipos à esse patógeno em trabalhos de melhoramento.

BIBLIOGRAFIA

- AHN, S.W. e S.H. OU, 1982. Quantitative resistance of rice to blast disease. *Phytopathology*, St. Paul 72:279-282
- ALEXOPOULOS, C.J., 1979. *Introductory Mycology*, 3^a ed. New York, John Wiley e Sons, Inc. 632 p.
- ALLEN, S.J.; J.F.BROWN e J.K.KOCHMAN, 1982. Effects of temperatures, dew period, and light on the growth and development of *Alternaria helianthi*. *Phytopathology*, St. Paul, 73:893-896.
- ALLEN, S.J.; J.F.BROWN e J.K.KOCHMAN, 1983. Effects of leaf age, Host Growth Stage, leaf injury, and pollen on the infection of sunflower by *Alternaria helianthi*. *Phytopathology*, St. Paul, 73: 896-898.
- ASHER, M.J.C. e C.E.THOMAS, 1983. The expression of partial resistance to *Erysiphe graminis* in spring barley. *Plant Pathology*, London, 32:79-89.
- ASHER, M.J.C. e C.E.THOMAS, 1984. Components of partial resistance to *Erysiphe graminis* in spring barley. *Plant Pathology*, London, 33:123-130.

- AUST, H.J., 1981. Über den Verlauf von Mehltanepidemien innerhalb des Agro-Ökosystems Gerstenfeld. *Acta Phytomedica* 7, 76 pp.
- AUST, H.J.; A.BERGAMIN FILHO e J.O.M. MENTEN, 1984. Resistance of three bean cultivars to *Uromyces phaseoli* expressed through sporulation of the fungus. *Phytopathologische Zeitschrift*, Berlin, 10:30-36.
- AUST, H.J. e B.HAU, 1981. Einflub Kompensatorischer Wirkungen auf die Dauer der Latenzzeit von *Septoria nodorum*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, Stuttgart, 88:655-664.
- AUST, H.J.; B.HAU e J.KRANZ, 1983. Epigram a simulator of barley powdery mildew. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, Stuttgart, 90(3):244-250.
- BASHI, E., 1980. Quality of spores produced in cucumber powdery mildew compesats for their quantity. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, Stuttgart, 87:594-599.
- BERGAMIN FILHO, A., 1978. Anālise Matemātica de Epidemias. In: GALLI, F., Coord. *Manual de Fitopatologia - Princípios e Conceitos*. São Paulo, Ed. Agron.Ceres Ltda., vol. 1, p.242-256.
- BERGAMIN FILHO, A., 1983. Consequências Epidemiológicas da Resistência no Sistema *Coffea arabica* L. - *Hemileia vastatrix* Berk & BR. Piracicaba, ESALQ/USP, 111 p. (Tese de Livre-Docência).
- BROWDER, L.E., 1964. A modified detached-leaf culture technique for study of cereal rust. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, 48:906-908.

- CADENA-GÓMEZ, G. e P.BURITICÁ-CÉSPEDES. 1981. Determination cuantitativa de resistencia a *Hemileia vastatrix* em plantas de *Coffea canephora* variedad Conilon. *CeniCafé*, Chinchina 14:15-34.
- CASTRO, H.A.; A.BERGAMIN FILHO e T.L.KRÜGNER, 1984. Padrão de produção de uredosporos em mudas de *Eucalyptus* spp inoculadas artificialmente com *Puccinia psidii*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 10:155-170
- CLIFFORD, B.C., 1974. Relation between compatible and incompatible infection sites of *Puccinia hordei* on barley. *Transactions of the British Mycological Society*, London, 76:17-24.
- CLIFFORD, B.C. e H.W.RODERICK, 1981. Detection of cryptic resistance of barley to *Puccinia hordei*. *Transactions of the British Mycological Society*, London, 76:17-24.
- COHEN, Y. e J.ROTEM, 1970. The relationship of sporulation to photosynthesis in some obligatory and facultative parasites. *Phytopathology*, St. Paul, 60:1600-1604.
- DICKINSON, C.H. e H.SINGH, 1982. Colonization and sporulation of *Peronospora viciae* on cultivars of *Pisum sativum*. *Plant Pathology*, London, 31:333-341.
- ECHANDI, E., 1976. Principales enfermedades de hongo del fríjol (*Phaseolus vulgaris*) en los Tropicós Americanos y su distribución en diferentes zonas ecológicas. *Fitopatología Brasileira*, Brasília, 1:171-177.
- EMBRAPA, 1981. *Programa Nacional de Pesquisa de Feijão*. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 117 p.

- ESKES, A.B., 1978a. Segregação transgressiva para resistência a *Hemileia vastatrix* em populações F³ do cruzamento entre o cultivar Catuaí com a introdução 1164-4 de Agero, de *Coffera arabica*. In: 6º Congresso Brasileiro sobre Pesquisas Cafeeiras, Ribeirão Preto, pp. 53-55.
- ESKES, A.B., 1978b. Avaliação do uso de discos de folhas para medir o nível de resistência do cafeeiro a *Hemileia vastatrix*. In: 6º Congresso Brasileiro sobre Pesquisas Cafeeiras. Ribeirão Preto, pp. 114-115.
- ESKES, A.B.; I.J.A.RIBEIRO; A.CARVALHO e O.PARADELA FILHO, 1979. Raça de *Hemileia vastatrix* portadora dos genes de virulência v₁ v₂ v₅ diferenciada no Estado de São Paulo. In: 7º Congresso Brasileiro sobre Pesquisas Cafeeiras. Araxá, pp. 122-123.
- ESKES, A.B. e M.TOMA-BRAGHINI, 1982. The effect of leaf age on incomplete resistance of coffee to *Hemileia vastatrix*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, Wageningen, 88:219-230.
- EYAL, Z. e J.L.PETERSON, 1967. Uredospore production of five races of *Puccinia recondita* Dob. ex Desm. as affected by light and temperature. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, 45:537-540.
- FEGIES, N.C.; B.M.J.MENDES e A.BERGAMIN FILHO, 1984. Período Infecioso e produção de esporos de ferrugem (*Uromyces phaseoli* var. *typica*) em duas linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris*). In: XVII Congresso Brasileiro da Sociedade Brasileira de Fitopatologia. São Paulo, p. 332.
- GAUMANN, E., 1951. *Pflanzliche Infektionslehre*. 2ª Ed. Basel: Birkhäuser, Switzerland, 361 p.

- GROTH, J.V. e B.D.MOGEN, 1978. Completing the life cycle of *Uromyces phaseoli* var. *typica* on bean plants. *Phytopathology*, St. Paul, 68:1674-1677.
- GROTH, J.V. e N.V.R.R.URS, 1982. Differences among bean cultivars in receptivity to *Uromyces phaseoli* var. *typica*. *Phytopathology*, St. Paul, 72:374-378.
- HAU, B.; H.J.AUST e J.KRANZ, 1983. Problems in Modelling Powdery Mildew Epidemics. *European Plant Protection Bulletin*, 13:259-262.
- HAYDEN, E.D., 1956. Differences in infectibility among spring wheat varieties exposed to spore showers of race 15 B of *Puccinia graminis tritici*. *Phytopathology*, St. Paul, 46:14.
- HENESSY, C.M.R. e W.E.SACKSTON, 1970. Studies on sunflower rust. V. Culture of *Puccinia helianthi* throughout its complete life cycle on detached leaves of sunflower (*Helianthus annuus*). *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, 48:1811-1813.
- HILL, J.P. e R.R.NELSON, 1982. The heritability of three parasitic fitness attributes of *Helminthosporium maydis* race T. *Phytopathology*, St. Paul, 72:525-526.
- HIRST, J.M. e R.D.SGHEIN, 1965. Terminology of infection processes. *Phytopathology*, St. Paul, 55:1157.
- HOOKE, A.L., 1967. The genetics and expression of resistance in plants to rust of the genus *Puccinia*. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto 5:163-182.
- HOOKE, A.L. e C.E.YARWOOD, 1966. Culture of *Puccinia sorghi* on detached leaves of corn and *Oxalis corniculata*. *Phytopathology*, St. Paul, 56:536-539.

- IMHOFF, M.W.; C.E.MAIN e K.J.LEONARD, 1981. Effect of temperature, dew period, and age of leaves, spores, and source pustules on germination of bean rust urediospores. *Phytopathology*, St. Paul, 71:577-583.
- IMHOFF, M.W.; K.J.LEONARD e C.E.MAIN, 1982. Patterns of bean rust lesion size increase and spore production. *Phytopathology*, St. Paul, 72:441-446.
- JOHNSON, R., 1981a. Durable disease resistance. In: JENKYN, J. F. e R.T.PLUMB (Ed.), Strategies for the control of cereal disease. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp.55-63.
- JOHNSON, R., 1981b. Durable resistance: definition of genetic control, and attainment in plant breeding. *Phytopathology*, St. Paul, 71:567-568.
- JOHNSON, R. e A.J.TAYLOR, 1976. Spore yield of pathogens in investigation of the race-specificity of host resistance. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, 14:97-119.
- JOHNSON, D.A. e R.D.WILCOXSON, 1979. Inheritance of slow rusting of barley infect with *Puccinia hordei* and selection of latent period and number of uredia. *Phytopathology*, St. Paul, 69:145-151.
- KIMATI, H., 1980. Doenças do Feijoeiro. In: GALLI, F. (Coord.), Manual de Fitopatologia, vol. II. Editora Agronômica Ceres Ltda, São Paulo, pp.297-318.
- KRANZ, J., 1979. Simulation of epidemics caused by *Venturia inaequalis* (Cooke) Aderh. *European Plant Protection Bulletin*, 9: 235-242.
- KRANZ, J. e B.HAU, 1980. Systems analysis in epidemiology. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, 18:67-87.

- KRANZ, J.; M.MOGK e A.STUMPF, 1973. EPIVEN - ein Simulator für Apfelscharf. Z. Pflkrankh. Pflhath. Pflschutz, 80:181-187.
- LUMBROSO, E.; Y.ANIKSTER; J.G.MOSEMAN e I.WAHL, 1977. Completion of life cycles of *Puccinia hordei* and *Uromyces sillarum* on detached leaves of their hosts. *Phytopathology*, St. Paul, 67:941-944.
- MACKENZIE, D.R., 1981. Scheduling fungicide applications for potato late blight with Blitecast. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, 65:394-399.
- MEHTA, Y.R., 1981. Conidial production, sporulation period and extension of lesion of *Helminthosporium sativum* on flag leaves of wheat. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 16:77-79.
- MEHTA, Y.R. e J.C.ZADOKS, 1970. Uredospore production and sporulation period of *Puccinia recondita* f. sp. *tritricina* on primary leaves of wheat. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, Wageningen, 76: 267-276.
- MEHTA, Y.R. e S.IGARASHI, 1979. Partial resistance in wheat against *Puccinia recondita*: a new view on its detection and measuring. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 5:90-100.
- MELCHING, J.S.; K.R.BROMFIELD e C.H.KINGSOLVER, 1979. Infection, colonization, and uredospore production on wayne soybean by four cultures of *Phakopsora pachyrhizi*, the cause of soybean rust. *Phytopathology*, St. Paul, 69:1262-1265.
- MENDES, B.M.J.; N.C.FEGIES; S.B.PAIVA e A.BERGAMIN FILHO, 1984. Período Infecioso: um componente epidêmico mal definido. In: VI Congresso Paulista de Fitopatologia, Botucatu, p.56.

- MENTEN, J.O.M., 1980. Avaliação de resistência horizontal e vertical e de tolerância do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Ung. Piracicaba, ESALQ/USP, 213p. (Tese de Doutorado).
- MENTEN, J.O.M. e A.BERGAMIN FILHO, 1981a. Componentes monocíclicos da resistência do feijoeiro a *Uromyces appendiculatus* e suas relações com os parâmetros epidemiológicos x_0 e r . *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 7:4-5.
- MENTEN, J.O.M. e A.BERGAMIN FILHO, 1981b. Determinação da resistência de linhagens de feijoeiro a *Uromyces appendiculatus* através da análise epidemiológica do desenvolvimento da ferrugem. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 7:18.
- MIGNUCCI, J.S., 1978. Development of soybean leaf cultures for maintenance and study of *Microsphaera diffusa*. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, 62:271-273.
- MORAES, S.A., 1981. Técnica de folhas destacadas para testar reações de cultivares de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) aos fungos *Cercospora arachidicola* Hori e *Cercospora personata* (Berk. & Curt.) Ell. & Everh. Piracicaba, ESALQ/USP, 107 p. (Tese de Doutorado).
- MORAES, S.A. e A.SAVY FILHO, 1983. Reações de seis cultivares de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) a *Puccinia arachidis* Speg. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 9:140-153.
- MORAES, S.A. e C.L.SALGADO, 1982. Utilização da técnica de folhas destacadas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) para inoculações com *Cercospora arachidicola* (Hori) e *Cercospora personata* (Berk. & Curt.) Ell. & Ev. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 8:39-55.

- MORAES, S.A. e C.L.SALGADO, 1983. Reações de seis cultivares de amendoim (*Arachis hypogaea*) a *Cercospora arachidicola* e *C. personata* em folhas destacadas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 8: 291-303.
- MORAES, S.A.; M.H.SUGIMORI; I.J.A.RIBEIRO; A.A.ORTOLANI e M.J.PEDRO JÚNIOR, 1976. Período de incubação de *Hemileia vastatrix* em três regiões do Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 2:32-38.
- NASSER, L.C.B., 1976. Efeito da Ferrugem em Diferentes Estágios de Desenvolvimento do Feijoeiro e Dispersão dos Esporos de *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa-MG, 79 p. (Dissertação de Mestrado).
- NEERVOORT, W.J. e J.E.PARLEVLIEET, 1978. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. V. Analysis of the components of partial resistance in eight barley cultivars. *Euphytica*, Wageningen, 27:32-39.
- NSUMBU, N. e J.BOUHARMONT, 1977. Différenciation de racines et tiges feuillées à partir de feuilles de *Coffea canephora*. *Café, Cacao, Thé*, Paris, vol. XXI(1):3-8.
- OHM, H.W. e G.E.SHANER, 1976. Three components of slow leaf-rusting at different growth stages in wheat. *Phytopathology*, St. Paul, 66:1356-1360.
- PAIVA, S.B.; N.C.FEGIES; B.M.J.MENDES e A.BERGAMIN FILHO, 1984. Problemas na avaliação da resistência através de parâmetros monocíclicos. In: VI Congresso Paulista de Fitopatologia, Botucatu, p.30.

- PARLEVLIET, J.E., 1975. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. I. Effect of cultivar and development stage on latent period. *Euphytica*, Wageningen, 24:21-27.
- PARLEVLIET, J.E., 1976. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. III. The inheritance of the host plant effect on latent period in four cultivars. *Euphytica*, 25:241-248.
- PARLEVLIET, J.E., 1978. Further evidence of polygenic inheritance of partial resistance in barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. *Euphytica*, Wageningen, 27:369-379.
- PARLEVLIET, J.E., 1979. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology*, Pa_{lo} Alto, 17:203-222.
- PARLEVLIET, J.E. e H.J.KUIPER, 1977. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. IV. Effect of cultivar and development stage on infection frequency. *Euphytica*, Wageningen, 26:249-255.
- PARLEVLIET, J.E.; W.H.LINDHOUT; A.VAN OMMEREN e H.J.KUIPER, 1980. Level of partial resistance to leaf rust, *Puccinia hordei*, in west-european barley and how to select for it. *Euphytica*, Wageningen, 29:1-8.
- PERSON, C.; D.J.SAMBORSKI e F.R.FORSYTH, 1957. Effect of benzimidazole on detached wheat leaves. *Nature*, London, 180:1294-1295.
- RIBEIRO, I.J.A.; S.A.MORAES; O.PARADELA FILHO; M.H.SUGIMORI e J. SOAVE, 1976. Testes de patogenicidade de isolados de *Cercospora arachidicola* Hori, *Cercospora personata* (B. & C.) Ell. & Ev. e *Puccinia arachidis* Speg. em folhas destacadas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 9:20 (Resumo).

- ROUSE, D.I.; D.R.MACKENZIE e R.R.NELSON, 1984. Density dependent sporulation of *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*, St. Paul, 74:1176-1180.
- ROUSE, D.I.; D.R.MACKENZIE; R.R.NELSON e V.J.ELLIOTT, 1981. Distribution of wheat powdery mildew incidence in field plots and relationship to disease severity. *Phytopathology*, St. Paul, 71:1015-1020.
- ROWELL, J.B., 1981. The relationship between slow rusting and a specific resistance gene for wheat stem rust. *Phytopathology*, St. Paul, 71:1184-1186.
- ROWELL, J.B., 1982. Control of wheat stem rust by low receptivity to infection conditioned by a single dominant gene. *Phytopathology*, St. Paul, 72:297-299.
- SAMBORSKI, D.J.; F.R.FORSYTH e C.PERSON, 1958. Metabolic changes in detached wheat leaves floated on benzimidazole and the effect of these changes on rust reaction. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, 36:591-601.
- SCALI, M.H.; A.CARVALHO e L.Ç.MONACO, 1974. Resistência horizontal à ferrugem (*H. vastatrix*) em cultivares de *Coffea*. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 26:241.
- SCHEIN, R.D., 1965. Age-correlated changes in susceptibility of bean leaves to *Uromyces phaseoli* and tobacco mosaic virus. *Phytopathology*, St. Paul, 55:454-457.
- SCHWARTZ, H.F. e G.E.GALVEZ, Ed., 1980. *Problemas de Producción del Frijol: Enfermedades, Insectos, Limitaciones Edáficas y Climáticas de Phaseolus vulgaris*. Cali, Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical, 424 p.

- SCOTT, K.J. e A.K.CHAKRAVORTY, 1982. *The Rust Fungi*. Academic Press, New York, 287 pp.
- SHANER, G., 1973. Reduced infectability and inoculum production as factors of slow mildewing in knox wheat. *Phytopathology*, St. Paul, 63:1307-1311.
- SHEARER, B.L. e J.C.ZADOKS, 1972. The latent period of *Septoria nodorum* in wheat. 1. The effect of temperature and moisture treatments under controlled conditions. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, Wageningen, 78:231-241.
- SHRUM, R., 1975. Simulation of wheat stripe rust (*Puccinia striiformis* West.) using EPIDEMIC, a flexible plant disease simulator. Penn.State Univ.Coll.Agric., Agric.Exp.Str.Prog.Rep. 347.
- STAKMAN, E.C. e J.J.CHRISTENSEN, 1960. The problem of breeding resistant varieties. In: HORSFALL, J.G. e A.E.DIMOND (Ed.), *Plant Pathology: an advanced treatise*. Vol. III. Academic Press, New York, pp.567-624.
- SUBRAHMANYAM, P.; D.McDONALD e P.V.SUBBA RAO, 1983a. Influence of host genotype on uredospore production and germinability in *Puccinia arachidis*. *Phytopathology*, St. Paul, 73:726-729.
- SUBRAHMANYAM, P.; D.McDONALD; R.W.GIBBONS e P.V.SUBBA RAO, 1983b. Components of resistance to *Puccinia arachidis* in peanuts. *Phytopathology*, St. Paul, 73:253-256.
- SZTEJNBERG, A. e I.WAHL, 1976. Mechanisms and stability of slow stem rusting in *Avena sterilis*. *Phytopathology*, St. Paul, 66:74-80.

- TENG, P.S., 1978. System modelling in plant disease management. Barley leaf rust as a case study. PhD Thesis, University of Canterbury, Lincoln College, 395 pp.
- TENG, P.S. e J.C.ZADOKS, 1980. Computer simulation of plant disease epidemics. *In: McGraw-Hill Yearbook of Science and Technology*, New York, pp.23-31.
- TENG, P.S. e R.C.CLOSE, 1978. Effect of temperature and uredinium density on urediniospore production, latent period, and infections period of *Puccinia hordei* Oth. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, Wellington, 21:287-296.
- TENG, P.S.; M.J.BLACKIE e R.C.CLOSE, 1977. A simulation analysis of crop yield loss due to rust disease. *Agricultural Systems*, Reading, 2:189-198.
- TORMELIN, J.R. e A.L.JONES, 1983. Effect of temperature and relative humidity on the latent period of *Venturia inaequalis* in apple leaves. *Phytopathology*, St. Paul, 73:51-54.
- TORMELIN, J.R.; M.G.EVERSMEYER; C.L.KRAMER e L.E.BORWDER, 1983. Temperature and host effects on latent and infections periods and on urediniospore production of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*, St. Paul, 73:414-419.
- TORMELIN, J.R.; M.G.EVERSMEYER; C.L.KRAMER e L.E.BROWDER, 1984. Environmental and host effects on colony development of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*, St. Paul, 74:225-229.
- TULMANN NETO, A.; J.O.M.MENTEN e A.ANDO, 1979. Bean breeding program at CENA. VII. Selection of improved lines by the multiple crosses method. *Ann.Rep. Bean Improv. Coop.*, 22:8-9.

- UMAERUS, V. e D.LIHNEILL, 1976. A laboratory method for measuring the degree of attack by *Phytophthora infestans*. *Potato Research*, 19:91-107.
- VAN DER ZAAG, D.E., 1959. Some observations on breeding for resistance to *Phytophthora infestans*. *European Potato Journal*, 2:278-286.
- VANDERPLANK, J.E., 1963. *Plant diseases: epidemics and control*. Academic Press, New York, 349 pp.
- VIEIRA, C., 1983. *Doenças e Pragas do Feijoeiro*. Viçosa, UFV, Impr. Univ., 213 p.
- VILLAREAL, R.L., 1980. The slow leaf blast infection in rice (*Oryza sativa* L.). The Pennsylvania State University. University Park, 107 p. (Tese de Doutorado).
- VILLAREAL, R.L.; R.R.NELSON; D.R.MACKENZIE e W.R.COFFMAN, 1981. Some components of slow-blasting resistance in rice. *Phytopathology*, St. Paul, 71:608-611.
- WAGGONER, P.E. e J.G.HORSFALL, 1969. EPIDEM, a simulator of plant disease written for a computer. *Bull. Conn. Agric. Exp. Stn.*, New Haven nº 698, 80 pp.
- WAGGONER, P.E.; J.G.HORSFALL e R.J.LUKENS, 1972. APIMAY, a simulator of southern corn leaf blight. *Bull. Conn. Agric. Exp. Stn.*, New Haven nº 729, 84 pp.
- WARD, C.H., 1959. The detached-leaf technique for testing alfalfa clones for resistance to black stem. *Phytopathology*, St. Paul, 49:690-696.

- WILCOXSON, R.D.; A.H.ATIF e B.SKOUMAND, 1974. Slow rusting of wheat varieties in the field correlated with stem rust severity on detached leaves in the greenhouse. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, 58:1085-1087.
- YARWOOD, C.E., 1946. Detached leaf culture. *The Botanical Review*, Lancaste, 12:1-56.
- YARWOOD, C.E., 1961. Uredospore production by *Uromyces phaseoli*. *Phytopathology*, St. Paul, 51:22-27.
- ZADOKS, J.C., 1971. Systems analysis and dynamics of epidemics. *Phytopathology*, St. Paul, 61:600-610.
- ZADOKS, J.C., 1972. Modern concepts of disease resistance in cereals. In: LUPTON, F.G.H., G.JENKINS e R.JOHNSON, Ed. *The Way Ahead in Plant Breeding*. Proc. Sixth Congress of Eucarpia, Cambridge. p.89-98.
- ZADOKS, J.C., 1979. Simulation of epidemics. Problems and applications. *European Plant Protection Bulletin*, 9:227-234.
- ZADOKS, J.C. e R.D.SCHEIN, 1979. *Epidemiology and Plant Disease Management*. New York, Oxford, Oxford University Press. 389 p.
- ZADOKS, J.C. e R.D.SCHEIN, 1980. Epidemiology and plant disease management, the known and the needed. In: PALTÍ, J. & J. KRANZ, Ed. *Comparative Epidemiology - A tool for better disease management*. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 121 p.
- ZAUMEYER, W.J. e H.R.THOMAS, 1957. *A Monographic Study of Bean Diseases and Methods for their control*. Washington, D.C., U.S.D.A. 255 p. (Tech.Bull. nº 868).