

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

**GERMINAÇÃO DE UREDOSPOROS E PERÍODO
LATENTE DE *PHAKOPSORA PACHYRHIZI*
DETERMINADO POR TEMPO CRONOLÓGICO E
UNIDADES DE CALOR**

RITA DE CÁSSIA CARLINI

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

Passo Fundo, fevereiro de 2009

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

**GERMINAÇÃO DE UREDOSPOROS E PERÍODO
LATENTE DE *PHAKOPSORA PACHYRHIZI*
DETERMINADO POR TEMPO CRONOLÓGICO E
UNIDADES DE CALOR**

RITA DE CÁSSIA CARLINI

Orientador: Prof. Dr. Erlei Melo Reis

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

Passo Fundo, fevereiro, 2009

“Quando você quer alguma coisa, todo
o Universo conspira para que você
realize o seu desejo” Paulo Coelho

BIOGRAFIA DO AUTOR

Rita de Cássia Carlini nascida em 25/12/1983, natural de Santo Augusto – RS, filha de Clóvis Ronaldo Carlini e Lúcia Erlei Carlini. Formada em agosto de 2006 em Agronomia pela UNIJUI – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Ingressou no mestrado em Agronomia, área de concentração Fitopatologia, em fevereiro de 2007 pela UPF – Universidade de Passo Fundo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que se não fosse por ele não estaria aqui hoje e, o qual acredito e tenho fé por me iluminar sempre.

Aos meus pais Clóvis Ronaldo Carlini e Lúcia Erlei Carlini e minha irmã Thaís Nicole Carlini, pelo apoio, pela paciência, por estarem ao meu lado o tempo inteiro, por me compreenderem e principalmente pelo amor que sempre me dedicaram. Amo muito vocês.

A toda minha família, que me compreenderam pela falta que fiz nestes dois anos, mas que eu amo muito.

Ao meu orientador Dr. Erlei Melo Reis, pelo apoio, orientação, disponibilidade, incentivo. Agradeço muito ao Senhor, e será sempre o exemplo de pessoa e Mestre.

A minha grande amiga e colega do coração Márcia Muliterno, pela ajuda, compreensão, companheirismo, dedicação. Se não fosse pela sua ajuda talvez não estivesse chegado até aqui. Gosto muito de ti e te admiro demais pela sua força de vontade e determinação. Obrigada por tudo, principalmente pela tua amizade, a qual considero muito.

Ao meu amigo e colega Rodrigo de Almeida, pelo companheirismo e ajuda. Muito obrigada por ter sido esse grande amigo e companheiro que pude contar sempre que precisei.

As pessoas que me ajudaram, torceram por mim, estagiários e aos amigos do laboratório de Micologia Cínara de Andrade Cardoso, Elaine Deunner, Vânia Biachin, Gisele Arduim, Anderson de Oliveira, Ana Rúbia Graef, Aveline Avozani, Matheus Zanatta, Fernando Brustolin, Willian e Paulo.

Um agradecimento especial a Mirella Almeida que me ajudou no que eu precisei, como representante dos alunos, como amiga e com seus ensinamentos.

Agradeço também aos professores responsáveis pelo meu aprendizado Erlei Melo Reis, Carlos Aberto Forcelini, Florindo Castoldi, Jurema Shons e Norimar D'Ávila Denardin.

Agradeço também ao professor Dr. Osmar Rodrigues pelo auxílio. E, a toda a equipe de professores e funcionários da UPF que trabalham para o bom funcionamento do programa de pós-graduação.

MUITO OBRIGADA A TODOS!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE TABELAS.....	10
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISAO DE LITERATURA.....	17
2.1 A cultura da soja.....	17
2.2 A ferrugem da soja.....	17
2.2.1 Etiologia.....	17
2.2.2 Histórico.....	18
2.2.3 Relação da doença com o clima.....	18
2.3 Efeito da temperatura no desenvolvimento dos seres vivos.....	22
2.3.1 Conceitos básicos.....	22
2.5 Uso dos graus-dias-acumulados em fitopatologia.....	26
CAPITULO I	
TEMPERATURAS BASAL, ÓTIMA E MÁXIMA PARA A	
GERMINAÇÃO DE UREDOSPOROS E CRESCIMENTO DO	
PRÓ-MICÉLIO DE <i>Phakopsora pachyrhizi</i>.....	30
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	31
1 INTRODUÇÃO.....	32
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37

4 CONCLUSÃOS.....	42
CAPITULO II	
QUANTIFICAÇÃO DOS PERÍODOS LATENTE E INFECCIOSO DE <i>Phakopsora pachyrhizi</i>, EM SOJA POR GRAUS-DIAS ACUMULADOS.....	44
RESUMO.....	44
ABSTRACT.....	45
1 INTRODUÇÃO.....	46
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
3 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	49
4 CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
CAPITULO I		
1	Germinação (%) de uredosporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> em função da temperatura e do tempo de exposição em substrato extrato de folha de soja-ágar. Universidade de Passo Fundo, 2009.	41
2	Comprimento do pró-micélio (μm) de uredosporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> em função da temperatura e do tempo de exposição em substrato extrato de folha de soja-ágar. Universidade de Passo Fundo, 2009.	42
CAPITULO II		
1	Efeito de temperaturas (y) e tempos de exposição (x) sobre a densidade de urédias. cm^{-2} (z) de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> em cultivar Codetec 214 RR.UPF. Passo Fundo, 2009.	51
2	Efeito de temperaturas (y) e tempos de exposição (x) sobre a quantidade de esporos. cm^{-2} (z) de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> em cultivar Codetec 214 RR. UPF. Passo Fundo, 2009.	52

LISTA DE TABELA

Tabela		Página
CAPÍTULO I		
1	Efeito de substratos, mantidos por 12 horas em 25 °C, na germinação (%) de uredosporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> . Passo Fundo, RS, 2009	38
2	Efeito de substratos no comprimento do tubo germinativo (µm), mantidos por 12 horas em 25 °C, de uredosporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> . Passo Fundo, RS, 2009	38
CAPITULO II		
1	Efeito da temperatura (°C) na duração dos períodos latente e infeccioso de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> , em soja, quantificados em tempo cronológico (dias) e em graus- dia- acumulados (GDA) com base na fórmula de MONTEITH, (1977), UPF. Passo Fundo, RS, 2009	54

- 2** Efeito da temperatura (°C) na duração dos períodos latente e infeccioso de *Phakopsora pachyrhizi*, em soja, quantificados em tempo cronológico (dias) e em graus-dia-acumulados (GDA) com base na fórmula de Russele et al. **54**
(1984), UPF. Passo Fundo, RS, 2009 (1984)

**GERMINAÇÃO DE UREDOSPOROS E PERÍODO LATENTE
DE *PHAKOPSORA PACHYRHIZI* DETERMINADO POR
TEMPO CRONOLÓGICO E UNIDADES DE CALOR**

RITA DE CÁSSIA CARLINI¹ & ERLEI MELO REIS²

RESUMO: Em experimentos conduzidos em incubadoras quantificou-se o efeito de diferentes substratos ágar-água, 0,5; 1; 2 e 4 g de extrato de folha de soja-água na germinação de uredosporos *Phakopsora pachyrhizi*, 1,0 mL. O trabalho foi conduzido sob fotoperíodo de 12 h e temperatura de 25 °C com exposição de 12 horas. As concentrações de 2 e 4 g de extrato de soja promoveram a maior germinação dos esporos. A determinação dos limiares térmicos superior (LTS), inferior (LTI) a temperatura ótima (To) foi conduzido no substrato contendo 1 g de extrato de folha de soja-água. Foram testadas as seguintes temperaturas 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 °C com exposições de 3, 6, 12 e 24 horas em câmaras de crescimento com fotoperíodo e temperatura controlados. O LTI calculado pela regressão foi de 6 °C, o LTS foi 25 °C e a To 21 °C. Para a determinação dos graus-dias-acumulados (GDA) foram usados três folíolos de soja destacados colocados em caixas de acrílico contendo uma espuma e dois papéis filtros. Foram testadas as seguintes temperaturas 10, 15, 20, 25 e 30 °C, as avaliações foram feitas após 7, 14, 21, 28 e 35

¹Enga-Agra, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia – rita_carlini@hotmail.com

²Orientador, Eng-Agr., professor da FAMV/PPGAgro/UPF – erleireis@tpo.com.br

após a inoculação. Também quantificou-se produção de uredosporos para se determinar do potencial de esporulação. Os dados foram submetidos ao programa STATISTICA 8.0 e usadas as fórmulas de MONTEITH (1977) e Russele et al. (1984) para a determinação dos GDA. Com a fórmula de MONTEITH (1977) obteve-se 182, 293, 569 e 765 GDAs respectivamente. Usando a fórmula de Russele et al. (1984) os GDA foram 157, 332, 507 e 682 respectivamente. Concluiu-se que a temperatura é decisiva para a mudança de estágio fisiológico de organismos exotérmicos.

Palavras chave: *Glycine max*, *Phakopsora pachyrhizi*, temperatura, unidades de calor

ABSTRACT: Soybean [*Glycine max* L. (Merr.)] is the main oleaginous crop cultivated in Brazil. Asian soybean rust caused by the Basidiomycete fungus *Phakopsora pachyrhizi* is considered the main crop disease. In experiments carried out in incubators the basal, optimal and the maximum temperatures were determined in soybean leaf extract-agar in petry dishes. It was assessed spore germination and germ tube length. Accumulated degree-days were used to estimate the latent, infectious period, and sporulation potential using detached soybean leaflets under different temperatures. The best substrate for

¹Enga-Agra, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia – rita_carlini@hotmail.com

²Orientador, Eng-Agr., professor da FAMV/PPGAgro/UPF – erleireis@tpo.com.br

uredosporos germination was 4.0 g.L⁻¹ of soybean leaf extract. Lower thermal threshold, optimum temperature and upper thermal threshold were 6, 21 and 36°C respectively. By MONTEITH's (1977) formula, were calculated 182, 293, 569, and 765 accumulated degrees days for the temperatures 10, 15, 20 and 25 °C respectively. On the other hand, using Russele's et al. (1984) formula, accumulated degrees days were 157,5; 332,5; 507,5 and 682 for the same temperatures respectively.

Key words: *Glycine max*, *Phakopsora pachyrhizi*, temperature, heat units

1 Introdução

A soja [*Glycine max* L. (Merr.)] é a principal oleaginosa plantada no Brasil, com cerca de 21,2 milhões de hectares cultivados na safra 2008/2009, com uma perspectiva de produção de 58,8 milhões de toneladas (CONAB, 2009)

Várias doenças afetam a produtividade da soja podendo acarretar danos, como é o caso da ferrugem asiática da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi* Syd & Syd. Esta doença foi detectada pela primeira vez nas Américas por Morel (2001) no Paraguai e no Brasil na safra de 2000/2001. Desde então ela é a principal doença estudada pelos pesquisadores, pela sua agressividade. Até o presente momento ainda não foram desenvolvidos cultivares com nível suficiente de resistência.

Todas as fases do ciclo dos patógenos de plantas são afetadas pelo clima.

Os seres vivos respondem a estímulos que são considerados sinais do ambiente, como água luz e temperatura (Zadoks & Schein, 1979). Os animais endotérmicos têm a capacidade de manter sua temperatura corporal constante às custas de elevada taxa metabólica. Por outro lado, os organismos exotérmicos não têm um mecanismo interno que regula a temperatura do seu corpo, desta forma, seu corpo permanece com a temperatura ambiente, sendo esta que regula a maioria dos processos fisiológicos. No caso de insetos (Almeida & Gonçalves, 2007), plantas (Medeiros et al., 2000; Roberto et al., 2005) e fungos (MacHardy & Gadoury, 1985), a temperatura determina a duração do ciclo de vida e a mudança de estágio desses organismos (Shöffel & Volpe, 2002).

Algumas espécies vegetais cultivadas, para completarem cada estágio fisiológico em seu ciclo de vida, necessitam acumular certa quantidade de calor, normalmente expressa em graus-dia (GD), que representa a soma térmica acima da temperatura base mínima para o desenvolvimento. O conceito de GD assume que existe temperatura base, abaixo da qual o crescimento e o desenvolvimento da planta são interrompidos ou extremamente reduzidos e acima da qual o desenvolvimento é retomado. Além disso, pressupõe uma relação linear entre temperatura e desenvolvimento vegetal, desde que não existam limitações de outros fatores (Brunini et al., 1976). A soma dos GDs, ou graus dias acumulados (GDA) que a planta necessita para completar um estágio ou todo o ciclo tem sido utilizada para caracterizar o ciclo de vida das plantas, em vez do número de dias ou tempo cronológico.

Modelos de desenvolvimento, baseados em GDs, constituem uma ferramenta útil para programas de manejo de pragas, devido possibilitarem a previsão do desenvolvimento de insetos, indicando que a população da praga já obteve do ambiente, condições térmicas para ocorrer em nível crítico (Almeida & Gonçalves, 2007).

Entretanto, numa escala bem menor, tem sido estudado o modelo de GDs aplicado à patossistemas, como sarna da macieira (*Venturia inaequalis* (Cke.)), requeima (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary). e pinta preta (*Alternaria solani* (Ellis & G. Martin)) da batateira e canela-preta (*Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. & de Not.) em colza (Tomerlin & Jones, 1983; MacHardy & Gadoury, 1985; Franck et al., 1988; Stensvand et al., 1998; KAU KORANTA, 1996; Sun et al., 2001; Fahim et al., 2003).

Muitos sistemas de aviso de doenças são fundamentados no modelo climático. Por isso a busca por um método confiável para a previsão da produção de inóculo e da infecção é esperada pelos produtores. O processo infeccioso tem sido amplamente estudado quanto à interação temperatura e molhamento foliar (REIS, 2004).

O estudo completo dos efeitos dos fatores climáticos na esporulação, germinação de esporos, crescimento do tubo germinativo, períodos de incubação, latente e infeccioso, são de fundamental importância para o entendimento dos efeitos do clima sobre o ciclo de *P. pachyrhizi* e adicionar tais informações num sistema de aviso tornando-o mais preciso.

O presente trabalho teve por objetivo gerar informações básicas para estimar fases do processo infeccioso pelo conceito de

unidades de calor e usá-las num modelo de previsão da ferrugem da soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura da soja

A soja [*Glycine max* (L.) Merr.] originou-se no nordeste da China, em 2.853 a.C., e assumiu tal importância que o Imperador Sheng-Nung a elegeu como planta sagrada, juntamente com o arroz, o trigo, a cevada e o milho. A chegada desta oleaginosa nas Américas deu-se no início do século XIX como lastro no fundo dos navios e somente em 1979 houve plantio comercial da soja que inicialmente foi utilizada como forragem para a alimentação dos animais (Gassen & Borges, 2004).

Para a safra 2008/2009 estima-se que a área semeada seja de 21,2 milhões de hectares e, a produção alcance 58,8 milhões de toneladas, tendo uma redução de aproximadamente 2%, na produção, em relação à safra anterior (CONAB, 2009).

2.2 A Ferrugem da Soja

2.2.1 Etiologia

A ferrugem da soja causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd é um fungo pertencente à classe dos Basidiomycetes. Ordem Uredinales, família Phakopsoraceae, gênero *Phakopsora*, espécie *P. pachyrhizi* (Alexopoulos & Mins, 1979).

2.2.2 Histórico

A ferrugem da soja (*P. pachyrhizi*) foi descrita pela primeira vez no Japão, em 1902. Na América, o primeiro relato da ferrugem foi em Porto Rico, em 1976. O primeiro relato da ferrugem asiática na América do Sul foi em 2001, no Paraguai (MOREL, 2001), e no Brasil por Yorinori et al.(2002 e 2005). Em 2004 a ferrugem asiática foi relatada nos Estados Unidos (Schneider et al., 2005).

2.2.3 Relações da ferrugem com o clima

O fungo *P. pachyrhizi* infecta a planta em temperatura variando de 15 a 28 °C, sendo necessário um mínimo de 6 a 12 horas de molhamento na superfície das folhas (Melching et al., 1989). O molhamento foliar, seja por orvalho ou chuva, favorece a doença, sendo que a chuva esta relacionada com a intensidade final da epidemia (TSCHANZ, 1982).

Quanto à germinação dos uredosporos de *P. pachyrhizi* foi demonstrado que germinam na faixa térmica de 7 e 28 °C, com faixa ótima de 15 a 25 °C (Marchetti et al., 1976). A germinação e os processos iniciais de infecção foram observados a partir de uma hora de incubação e não foi detectado acréscimo na porcentagem de germinação em períodos maiores que 6 horas, tanto em ágar quanto em folhas de soja. Quando os uredosporos são analisados em meio ágar-água, não é observada a formação de apressório devido à consistência do meio de cultura (Melching et al.,1989). Koch & Hoppe (1988) observaram a formação de apressórios sobre membranas artificiais e em papel-filtro de várias porosidades.

A germinação “in vitro” dos uredosporos de *P. pachyrhizi* foi avaliada por Godoy & Flausing (2004). Incubados em meio ágar-água nas temperaturas de 10, 14, 18, 22, 26, 28 e 30 °C, avaliados após 16 horas de incubação. Os resultados foram expressos em função da temperatura, utilizando a função Beta generalizada $[Y=B_1(((T-B_2)^{B_3})((B_4-T)^{B_5}))]$ como modelo de ajuste. As temperaturas estimadas como limite mínimo e máximo para a germinação, segundo esta função, foram 9,9 e 30,3 °C, respectivamente. O máximo de germinação estimado ocorreu na faixa de 18 a 26 °C (superior a 80%).

Bonde et al (2007) estudaram o efeito da temperatura na germinação de uredósporos, crescimento do tubo germinativo e no início da infecção na soja. Quatro isolados, sendo eles do Brasil (B), Havaí(H), Taiwan (T) e Zimbábue (Z) foram testadas as temperaturas de 7 a 32 °C. Os uredósporos, nessas temperaturas, foram submetidos a 3 e 6 horas de incubação. Para a germinação do pró-micélio o isolado B com 3 e 6 horas de incubação obteve a temperatura mínima ($T_{mín}$) 10,5; 8,63, a temperatura máxima ($T_{máx}$) 29,63 e 29,46 e a temperatura ótima (T_o) foi 22,06 e 22,53 respectivamente. O isolado Z nas mesmas horas de incubação teve a T_{min} 9,43 e 9,73, a $T_{máx}$ 29,90 e 30,10 e a T_o 23,96 e 22,33 respectivamente. Para T, nas mesmas condições, a T_{min} foi 9,43 e 9,73, $T_{máx}$ 29,06 e 29,46 e a T_o 22,60 e 22,53. Para o crescimento do tubo germinativo nas mesmas condições, B teve 24,37 e 23,37, Z, 23,97 e 22,10 e T 23,66 e 24,17.

A partir de isolados de *P. pachyrhizi*, obtidos no Brasil, foi quantificado o efeito da temperatura e da duração do período de molhamento na germinação e formação de apressórios “in vivo”. Nesses experimentos, as placas foram acondicionadas nas

temperaturas de 8, 12, 15, 20, 25 e 30 °C, no escuro. O crescimento foi paralisado com a adição de lactoglicerol após 1, 2, 4, 8 e 12 horas de incubação. O fungo germinou em todas as temperaturas. O período mínimo para o início da germinação foi de uma hora de incubação e o processo estabilizou-se após 8 horas (Alves et al., 2004a, 2004b).

Estudo do efeito da temperatura e da duração do molhamento foliar no desenvolvimento da ferrugem asiática foi conduzido em câmara de crescimento, com o cultivar BRS 154, inoculado no estádio V₂. A inoculação foi feita com a concentração de 10⁵ uredósporos por mL. Após a inoculação as plantas foram transferidas para ambientes com temperaturas de 10; 15; 20; 22,5; 25; 27,5 e 30 °C. Em cada temperatura foram testados períodos de molhamento foliar de 0, 4, 6, 8, 12, 16 e 24 horas. Diariamente, as plantas foram acompanhadas para determinação do período latente (50% das urédias com esporulação) e 14 dias após a inoculação as folhas foram destacadas. O fungo tem capacidade de infectar todas as temperaturas testadas, exceto, a 30 °C. Ao realizar-se a avaliação aos 14 dias após a inoculação, as plantas que estavam a 10 °C não apresentaram sintomas, foi aparecer apenas 20 dias após a inoculação (Alves et al., 2005).

Caldwell et al.(2005) demonstraram que não houve desenvolvimento da ferrugem asiática nas temperaturas extremas de 15 e 30 °C com as plantas mantidas a 95% de umidade relativa do ar.

A intensidade da ferrugem asiática da soja em diferentes cultivares (Conquista, Savana e Suprema) foi determinada nas temperaturas de 15, 20, 25 e 30 °C e molhamento de 0, 6, 12, 18 e 24 horas. As plantas foram inoculados com uma concentração de 10⁴

uredósporos de *P. pachyrhizi*.mL⁻¹ de água. Molhamento foliar com duração maior do que 15 horas e temperatura próxima a 20 °C, nos cultivares avaliadas, resultaram em maior intensidade da doença (ALVES et al., 2007). Temperaturas próximas a 30 e 15 °C ocasionaram menor intensidade de doença.

Foram inoculados uredósporos, para estudar a influência da temperatura no período latente da ferrugem asiática da soja, na variedade BRS 154, no estágio V₂, e mantidas nas temperaturas de 10; 15; 20; 22,5; 25; 27,5 e 30 °C com período de 24 horas de molhamento foliar. Diariamente as plantas foram observadas para se determinar o período latente, o qual foi definido quando detectava-se 50% das urédias abertas e esporulando e, concluiu-se que não houve desenvolvimento da doença na temperatura de 30 °C (Alves et al., 2006).

O período de incubação é o tempo (em dias) decorrido desde a infecção até o surgimento dos sintomas; período latente é o tempo, entre início da infecção até o surgimento dos sinais; e período infeccioso é o tempo em que a lesão permanece esporulando (Ribeiro do Vale et al., 2004).

Experimentos no Japão foram demonstraram que o período latente foi de 13 dias, à temperatura de 28 °C (Kitani & Inoue,1960). Na Austrália (KOCHMAN, 1979), o período latente foi de 14 dias em temperatura variando de 7 a 17 °C, 9 dias no regime de 17 a 27 °C e 11 dias de 22 a 32 °C.

O padrão de esporulação de *P. pachyrhizi* caracteriza-se por apresentar curva de produção diária de esporos com vários picos de máxima esporulação distribuídos durante todo período infeccioso

(Melching et al., 1979). Novas urédias continuam a se formar até 28 dias após a inoculação. Uma urédia individual produz esporos durante 21 dias e aos 27 dias paralisa o processo (Reis et al, 2006).

Foram testados 26 genótipos para verificar o potencial de esporulação e, 89,66% dos genótipos testados tiveram média e alta esporulação (Koga et al, 2008).

2.3 Efeito da temperatura no desenvolvimento dos seres vivos

2.3.1 Conceitos Básico:

Temperatura (T °C): é um parâmetro físico descritivo de um sistema que vulgarmente se associa as noções de frio e calor, bem como transferências de energia térmica, mas que se pode definir, mais exatamente, sob o ponto de vista microscópico, como sendo a medida da energia cinética associada ao movimento (vibração) aleatório das partículas que compõem um dado sistema físico.

Tempo fisiológico: (Tf): é a duração de cada estágio de desenvolvimento dos seres vivos (Streck et al., 2003) no qual o tempo tem sido medido por unidades de calor em vez de tempo cronológico. Usa-se neste caso a temperatura.

Unidade de calor (Uc): na medida das unidades de calor usa-se a temperatura em lugar de dias sendo, portanto, a unidade em °C (OMETTO, 1981).

Grau dia (GD): O GD é definido como o acúmulo diário da energia que se situa acima da condição mínima e abaixo da máxima exigida pela planta ou outro organismo pecilotérmico. A condição mínima ou máxima é definida como limiar térmico inferior ou

temperatura basal e a energia acumulada nesse intervalo de condição (GD ou St) é a energia necessária para a planta ou inseto completar determinada fase fenológica ou mesmo o seu ciclo completo de desenvolvimento (OMETTO, 1981).

Graus-dias-acumulados (GDAs): é o somatório do acúmulo diário de energia durante um período de tempo (OMETTO, 1981).

Soma térmica (St): é o acúmulo diário da energia que se situa acima da condição mínima e abaixo da máxima exigida pela planta ou outro organismo pecilotérmico. É medido em graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$).

Tempo térmico (Tt): é o efeito da temperatura sobre o processo fisiológico de insetos, plantas e fungos, medido em unidades de calor.

Tempo cronológico (Tc): É o tempo em dias, semanas, mês e anos para medir a duração de estádios de desenvolvimento ou do ciclo de vida de uma espécie. Ex. ciclo da soja precoce é de 120 dias. A duração das fases e subfases do desenvolvimento de um ser vivo tem sido geralmente medido pelo Tc cujas unidades são apresentadas em dias, semanas, mês ou anos. Esta medida de tempo tendo sido usada, principalmente, para mensurar não somente estádios de desenvolvimento mas também a duração completa do ciclo de vida de plantas e insetos.

Temperaturas cardinais: referem-se a temperatura basal (T_b) abaixo da qual cessa o desenvolvimento do organismo. Temperatura ótima (T_o) é aquela na qual o desenvolvimento é o mais rápido. E temperatura máxima (T_{max}) acima da qual o organismo paralisa seu desenvolvimento, sem morrer (Yin et al., 1995; BONHOMME, 2000; STRECK, 2002).

Temperatura máxima do dia (Tmaxd): é o pico da temperatura que ocorre no dia.

Temperatura mínima do dia (Tmind): é a menor temperatura ocorrida no dia.

Temperatura média (Tm) diária: é a soma das temperaturas de hora em hora dividido por 24.

Limiar térmico inferior (Lti) ou temperatura basal (Tb): é a temperatura abaixo da qual cessa o desenvolvimento do organismo sem lhe ser letal.

Constante térmica (Ct): é o número expresso em graus-dias, necessário a uma dada temperatura para que o organismo complete seu ciclo de vida (Trudgill et al., 2005).

Data biofixa (Db): é o dia ou estágio fenológico da cultura no/na qual se inicia o cálculo do GDA.

A temperatura é um fator que influencia marcadamente o desenvolvimento dos seres vivos.

As taxas de desenvolvimento das espécies de sangue frio são dependentes das temperaturas, pois a temperatura afeta inúmeros processos fisiológicos, incluindo a taxa de difusão, desnaturação da membrana lipídica, e determina a mudança de estádios (Trudgill et al., 2005). As temperaturas intermediárias seguem o modelo linear, mas quando ocorrem temperaturas extremas, o modelo é não linear (Schoolfield et al., 1981).

Para a relação linear entre a temperatura e o desenvolvimento, Monteith (1977) propôs a seguinte equação $1/t = (T - T_b)b$, onde t é o tempo cronológico requerido para cada evento particular do desenvolvimento, T (°C) é a temperatura média que dura o período, T_b

é a temperatura basal e b é o tempo térmico requerido para ocorrer o evento (Garcia-Huidobro et al. 1982).

Russele et al. (1984) usaram a seguinte fórmula para determinar os GD: $M = [(T_{\text{máx}} + T_{\text{mín}})/2] - T_b$, onde M é os GDA no dia, $T_{\text{máx}}$ é a temperatura máxima que ocorreu no dia, a $T_{\text{mín}}$ é a temperatura mínima ocorrida no dia e o T_b é a temperatura mínima ou basal, ou b para que ocorra o desenvolvimento.

Para determinar a T_b para o desenvolvimento da colza (*Brassica napus* L.), foi utilizada a metodologia de GDA (Morrison et al., 1989). Numerosos modelos têm sido propostos para descrever o desenvolvimento fenológico da planta em função de variáveis ambientais (Daughtry et al., 1984). Morrison et al. (1989) utilizaram, para calcular os GDA a mesma fórmula de Russele et al. (1984), e chegaram à conclusão que a temperatura ambiental regula o desenvolvimento fenológico da colza.

Com relação à T_b para o desenvolvimento do trigo, calculou-se a T_b e o período térmico para diferentes etapas de desenvolvimento da planta, utilizando uma relação linear entre a taxa de desenvolvimento e a temperatura média. Os resultados indicaram que a germinação, emergência, perfilhamento e alongação das folhas (fase vegetativa) tem T_b de 2 °C, para a alongação do colmo e a fase reprodutiva (perfilhamento e maturação) tem uma T_b de 6 °C (Del Pozo et al., 1986).

2.5 Uso dos graus-dias-acumulados em fitopatologia

Existem poucos patossistemas nos quais tem sido empregado o princípio de GDAs. As Uc podem ser usadas para quantificar a necessidade de energia para uma espécie mudar de fase em seu ciclo de vida. Porém, o mais usado tem sido em sistemas de aviso da ocorrência de doenças.

Entre eles, cita-se o patossistema macieira (*Malus* sp. Borkh)-sarna, causada pelo fungo *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. Tomerlin & Jones (1983) estudaram o efeito da temperatura e umidade relativa no período latente de *V. inaequalis* em folhas de macieira. Nesse caso os GDA foram calculados conforme a fórmula de Russele et al. (1984), tomando como T_b 0 °C. Um modelo foi ajustado com base nos GDA, apresentando coeficiente de determinação de 60, 64 e 68% indicando que o GD e o acúmulo de umidade relativa do ar em dois intervalos de três dias têm melhor precisão, do que as mesmas variáveis avaliadas ao longo de seis dias.

Um modelo de previsão da sarna da macieira baseado nos GDA (MacHardy & Gadoury, 1985) foi desenvolvido para determinar a maturação dos ascósporos. De 1979 a 1984 o sistema identificou o dia em que 10% dos ascósporos estavam maduros, com quatro dias de antecedência, e com dois dias de antecedência o sistema apontou que 90% dos ascósporos estavam maduros. Para desenvolver o modelo de previsão, baseado nos GDA, MacHardy & Gadoury (1985) tomaram as T_{\min} e T_{\max} diárias num período de 26 anos. Foi usada uma equação quadrática para calcular os GDA, tomando com T_b 0,0 °C e determinado o tempo para que os ascósporos de *V. inaequalis* atinjam

a maturação. Foi obtida a equação de regressão aonde Y é os GDA e X é o tempo decorrido até certa data. Foi utilizada como Db um determinado estágio fenológico para determinar os GDA. Por exemplo, foram acumulados 274 GD em 30 dias. Dessa forma, o modelo apresenta, quando é alcançado o valor dos GDA, 60% dos ascósporos estão maduros. Com este modelo, baseado nos GDA, tem sido indicado com precisão de poucos dias, quando vai ocorrer a infecção.

Outros autores como Stensvand et al. (1998) determinaram a St nos anos de 1990, 1992 e 1997. Quando atingiu a fase de maior esporulação de *V. inaequalis* foi calculada uma soma térmica de 250 a 375 GDAs (tendo como Tb 0 °C).

Foi desenvolvido um modelo simples, baseado nos GDA (Franck et al., 1988) para indicar o momento do controle químico da pinta preta da batata causada por *Alternaria solani* (Ell. & G. Martin) Sor. Foi necessário um acúmulo de 361 GD para ocorrer a primeira lesão em San Luis Valley, Colorado, e no nordeste do estado do Colorado foi necessário um acúmulo de 625 GD. Para chegar a esses valores, Franck et al (1988) utilizaram a mesma fórmula que Russel et al. (1984) para determinar o GD. Nos anos de 1969 a 1980, os GDAs para o aparecimento da primeira lesão variaram de 347 a 388 em San Luis Valley e, no nordeste estado do Colorado, nos anos de 1979 a 1982 os GD variaram de 626 a 652. A conclusão a que chegaram é que existe relação entre o tempo para o aparecimento da primeira lesão e os GDAs.

Os danos e controle da requeima da batata (*Solanum tuberosum* L.) causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary.

fez com que Kaukoranta (1996) estudasse um modelo baseado na St do patógeno e da planta. O experimento foi conduzido durante três anos. A emergência da cultura foi prevista para ocorrer após o acúmulo de 631 GD, com T_b de 0 °C. Para ocorrer a requeima da batata foi considerada ocorrência de temperaturas acima de 8,0 °C depois da emergência da batata em dias com pelo menos 0,1 mm de precipitação pluvial e com o acúmulo de 156 GD. Neste sistema de aviso a doença ocorre com um acúmulo de 10 GD por dia. Para calcular os GDAs Kaukoranta (1996) usou a seguinte fórmula $ETS = \sum_i \text{MAX}\{0, (\text{MIN}\{T_i, T_{\text{máx}}\} - T_b)\}$, $i=1, \text{Day}_{\text{sym}}, p_i \geq 0,1$, onde Day_{sym} é o dia que aparece a primeira lesão, $p_i \geq 0,1$ são os dias que teve pelo menos precipitação de 0.1 mm, T_i é a taxa de multiplicação que é regulada pela temperatura média diária, T_b é o efeito da taxa da temperatura com a soma da temperatura base, $T_{\text{máx}}$ é o limite máximo de temperatura em que há germinação de esporos, ETS é a temperatura acumulada em dias chuvosos, ETS_{sym} é o limite superior requerido. O modelo de previsão negativo de Ullrich & Schröder (1965) desenvolvido na Alemanha, e validado nos países Nórdicos, (Hansen & Holm 1991, Hansen et al., 1995) foi utilizado para fixação dos parâmetros iniciais da T_b , $T_{\text{máx}}$ e ETS_{sym} .

Na análise das condições climáticas para a ocorrência da requeima da batata no Egito (Fahim et al., 2003), causada por *P. infestans*, os GDA foram tomados como base do cálculo para determinar o Tf para o desenvolvimento de *P. infestans*.

Em trabalho conduzido por Scherm & Bruggen (1994), os períodos infeccioso e latente de *Bremia lactucae* Regel., em alface (*Lactuca sativa* L.), foram determinados em dias (T_c) sem levar em

conta os GDAs. Grande volume de informações tem usado para quantificar o tempo cronológico e não os GDA.

A mancha de cercospora em cenoura (*Daucus carota* L.), causada pelo fungo *Cercospora carotea* (Pass) Solheim foi estudada durante os anos de 1984 a 1987 para desenvolver um critério para iniciar a aplicação de fungicida. A equação de regressão continha dias após o estágio de cotilédone, estágio de crescimento da planta e os GDA ($T_b = 7,0$). Cada uma das variáveis explica 83, 66 e 85% respectivamente, o desenvolvimento da mancha de cercospora. A doença chega ao limiar de 50% aos 48 dias, no estágio 8.6, quando foram acumulados 557 GD. O T_c requerido, quando for detectado o primeiro sintoma da doença até alcançar o limiar de 50%, foi de 21 dias. Para o cálculo dos GDAs foi utilizada mesma fórmula que Russel et al (1984) descreveu. Para o crescimento da cenoura a $T_b=7,0$ °C e para o crescimento da *C. carotae* foi utilizado a $T_b= 15,0$ °C (Kushalappa et al.1989).

CAPÍTULO I

TEMPERATURAS BASAL, ÓTIMA E MÁXIMA PARA A GERMINAÇÃO DE UREDOSPOROS E CRESCIMENTO DO TUBO GERMINATIVO DE *Phakopsora pachyrhizi*

RITA DE CÁSSIA CARLINI¹ & ERLEI MELO REIS²

RESUMO: Em experimentos conduzidos em laboratório procurou-se identificar um substrato no qual se obtenha a máxima germinação de uredosporos e o maior crescimento do tubo germinativo de *Phakopsora pachyrhizi*. Foram testados os seguintes substratos água-ágar, 0,5; 1; 2; e 4 g de extrato de folha de soja-ágar contendo cada um 1 mL com 5000 uredosporos em câmaras de crescimento com fotoperíodo controlado, temperatura de 25 °C, por 12 horas. Houve efeito dos substratos na germinação dos uredosporos, a menor germinação foi obtida no substrato que continha 0,5 g de extrato de folha de soja-ágar (83,2%). O substrato que teve maior germinação foi o que continha 4,0 g de extrato de folha de soja-ágar (96,5%), no entanto não diferiu do que continha 2,0 g de extrato de folha de soja-ágar. Houve um aumento relativo de 16%. Não houve efeito

¹Eng^a-Agr^a, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia – rita_carlini@hotmail.com

²Orientador, Eng-Agr., professor da FAMV/PPGAgro/UPF – erleireis@tpo.com.br

significativo dos substratos para o tamanho do tubo germinativo. Em outro experimento com temperaturas testadas de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 31, 32, 33, 34 e 35 °C, contendo 1 mL com 5000 esporos e com tempos de exposições de 3, 6, 12 e 24 horas em câmaras de crescimento com fotoperíodo e temperatura controlada, avaliou-se a germinação e mediu-se o comprimento do tubo germinativo. A temperatura basal calculada foi de 6 °C, a ótima de 21 °C e a máxima de 35 °C.

Palavras chave: soja, *Glycine max*, substrato, ferrugem asiática.

ABSTRACT: Experiments were carried out to identify a substrate able to promote the maximum uredospores germination and the largest promycelium growth of the causal agent of the asian rust soybean (*Phakopsora pachyrhizi*). Using the best substrate the temperatures, basal, optimal and and maxim for the germination and growth of the germ tube were conductes. It was demonstrated that the germination and the length of germ tube were detected for the concentration of 4 g.L⁻¹ of soybean leaf extract. Data were submitted to the SAS statistical program in tri-fatorial experimental design. When the data were submitted the regressions, the basal temperature was of 6 °C, the optimum of 21 °C and the maxim of 35 °C.

¹Eng^a-Agr^a, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia – rita_carlini@hotmail.com

²Orientador, Eng-Agr., professor da FAMV/PPGAgro/UPF – erleireis@tpo.com.br

Key words: soybean, *Glycine max*, substrate, asian soybean rust.

1 Introdução

A soja é a principal espécie vegetal cultivada no Brasil. tendo em vista que alguns agricultores produzem sua própria semente, os principais investimentos se relacionam com controle de insetos-praga, e principalmente doenças.

A partir de da safra de 2000/2001 surgiu no sul do Brasil uma nova doença, a ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sydow. (Yorinori et al., 2002 e 2005).

A mais usada estratégia de controle da ferrugem asiática é a aplicação de fungicidas nos órgãos aéreos quando a intensidade da doença atingir 5% de infecção, já que, por enquanto, não estão disponível para cultivo cultivares resistentes (TECNOLOGIAS 2008/09).

A pesquisa intensifica suas ações na busca de soluções para o manejo sustentável da ferrugem da soja. Neste sentido, sistemas de aviso, cada vez mais precisos, estão sendo desenvolvidos para detectar o surgimento da doença e assim indicar o momento correto para o início das pulverizações de fungicidas de modo a manter a sustentabilidade econômica e ambiental do agro-ecossistema.

Uma das maneiras de aprimorar alguns dos sistemas de aviso pode ser através da introdução do princípio dos graus de calor acumulados para o desenvolvimento do fungo como tem sido originalmente utilizado na modelagem de plantas e de insetos-praga. O primeiro passo nesta direção é identificar os valores dos limiares térmicos inferior e superior no desenvolvimento do patógeno.

Esse trabalho teve como objetivos: (a) identificar um substrato que proporcione a máxima germinação de uredosporos e promova o maior crescimento do tubo germinativo dos esporos de *P. pachyrhizi* em relação ao substrato padrão ágar-água; (b) identificar os valores dos limiares térmicos inferior e superior e a temperatura ótima para a germinação dos uredosporos e crescimento do tubo germinativo de *P. pachyrhizi*.

2 Material e Métodos

Produção e manutenção do inóculo

O inóculo da ferrugem foi obtido à partir de folhas infectadas coletadas no campo experimental da Universidade de Passo Fundo em 2001, foi mantido e multiplicado pela inoculação periódica de plantas de soja cultivadas em vasos (cultivar Codetec 214 RR), em câmara-de-crescimento a 22 °C e fotoperíodo de 14h. A inoculação das plantas foi feita com concentração de 20.000 esporos.mL⁻¹, seguida de um molhamento folhar por 48 horas, no escuro. Posteriormente as plantas foram mantidas em câmaras-de-crescimento a 22 °C e fotoperíodo de 14 x 10 h

Experimento 1: Efeito de substratos na germinação de esporos e crescimento do tubo germinativo de *P. pachyrhizi*

O experimento foi conduzido no laboratório de Micologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária de Passo Fundo. Foram utilizados cinco substratos: ágar-água (1000 mL de água, 14 g

de ágar), 0,5 g de extrato de folhas de soja-ágar (0,5 g de folha triturada no liquidificador, 1000 mL de água e 14 g de ágar), 1g de extrato de folhas de soja-ágar (1g de folha de soja triturada no liquidificador, 1000 mL de água e 14g de ágar), 2g de extrato de folhas de soja-ágar (2g de folha de soja triturada no liquidificador, 1000 mL de água e 14g de ágar) e 4g de extrato de folhas de soja-ágar (4g de folhas de soja triturada no liquidificador, 1000 mL de água e 14g de ágar). As folhas de soja da cultivar Codetec 214 RR, foram obtidas de plantas cultivadas em câmara de crescimento sem terem recebido nenhuma aplicação de produtos químicos e, coletadas após 25 dias de emergência.

Os uredosporos foram removidos por batida de folíolos com frutificação abundante e coletados numa placa de petri. Os uredosporos foram suspensos e diluídos em água destilada obtendo-se uma concentração de 2.000 esporos.mL⁻¹. A unidade experimental foi constituída de uma placa de petri plástica, com 6,0 cm de diâmetro, com quatro repetições no delineamento experimental de blocos ao acaso. Desta suspensão foi vertido 1,0 mL sobre os substratos agarizados por placa. As placas de petri, de plástico foram mantidas em incubadoras de crescimento com controle de temperatura e fotoperíodo, do tipo BOD (Biological oxygen demand), à temperatura de 25 °C, luz contínua fornecida por duas lâmpadas fluorescente (OSRAM, Universal 40 w, Luz do Dia Especial, Brasil K.798.B.6), distantes 35 cm da superfície das placas e por um período de 12 horas.

A germinação dos uredosporos e tamanho do tubo germinativo foram avaliados em microscópio óptico pela varredura da placa, examinando 100 uredosporos por repetição. Considerou-se como

germinado o uredosporo que apresentou o tubo germinativo mais longo do que seu maior diâmetro (SHARVELLE, 1969). O comprimento do tubo germinativo foi mensurado com um micrômetro adaptado a ocular do microscópio que foi aferido com lâmina micrométrica Zeiss West Germany 5 + 100/100 mm.

Os dados foram expressos como percentagem de germinação dos uredosporos e tamanho do tubo germinativo em μm sendo submetidos a análise de variância e ao teste de comparação de médias de Tukey ($p= 5\%$).

Experimento 2. Determinação das temperaturas basal, ótima e máxima para a germinação e crescimento do pró-micélio de uredósporos de *P. pachyrhizi*.

O experimento foi conduzido no laboratório de Micologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária de Passo Fundo. O substrato para o estudo em meio de cultura foi o extrato de folhas de soja-ágar (1 grama de extrato de folha de soja, 14g de ágar e 1000 mL de água). No preparo do meio, os folíolos de soja foram trituradas em liquidificador com 200 mL de água destilada e após coado foi vertido em um becker com capacidade 2000 mL, completando com 800 mL de água destilada e 14 de ágar. Após autoclavou-se por 20 minutos, em seguida foi vertido em placas de petri plásticas de 3,0 cm de diâmetro.

No dia seguinte foi preparada uma suspensão de esporos de *P. pachyrhizi* na concentração de 2.000 esporos.mL⁻¹. Para isso foram colocados folíolos de soja dentro de uma garrafa plástica com água

destilada e uma gota para cada 100 mL de Tween (80%), agitada para remoção dos esporos, pipetado quatro gotas da suspensão (gota com volume de 0,01 mL) em lâminas de microscopia e determinada a concentração de esporos por contagem ao microscópio. Procurou-se coletar os esporos produzidos em plantas de soja cultivadas em vasos em câmara climatizada aos 18 dias após a inoculação. Após ajustada, a concentração, foi vertido 1,0 mL em cada placa de petri contendo substratos, distribuída homogeneamente na superfície e as placas levadas às incubadoras.

O experimento foi conduzido no modelo fatorial. O fator (a) temperatura: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 31, 32, 33, 34, 35 e 36 °C, e (b) tempos exposição: 3, 6, 12 e 24 horas com quatro repetições para cada tempo e temperatura no delineamento experimental de blocos ao acaso. Na primeira fase trabalhou-se com as temperaturas de 10 e 30 °C, após, 9 e 31 °C, assim sucessivamente, até contemplar todas as temperaturas.

Quando completado cada tempo de exposição (3, 6, 12 e 24 horas) as placas foram retiradas das incubadoras. Em cada placa foi adicionado quatro gotas da solução de acetona (100%) com azul-de-algodão para paralisar a germinação e o crescimento dos tubos germinativos.

Foram avaliadas a germinação dos esporos e medido o comprimento do tubo germinativo. Foi considerado germinado, quando o comprimento do tubo germinativo excedeu o maior diâmetro do esporo (SHARVELLE, 1969). A mensuração foi feita ao microscópio equipado com um micrômetro adaptado a ocular aferida com lâmina micrométrica Zeiss West Germany $5 \pm 100/100$ mm.

Os dados foram analisados seguindo o modelo experimental fatorial num arranjo de tratamentos completamente casualizados sendo submetidos a análise da variância e ao teste de comparação de médias (Tukey a $p=5\%$), a partir, das equações expressas em cada gráfico foi feita a regressão.

3 Resultados e Discussão

Houve efeito dos substratos na germinação dos uredosporos. A menor germinação, 83,2%, foi obtida no substrato contendo 0,5 g de tecido liquefeito de folhas de soja (Tabela 1). Os substratos água-ágar, 0,5 g e 1,0 g de extrato de folha de soja-ágar não diferiram entre si. Os meios de cultura contendo 1 g de extrato de folha de soja-ágar e 2 g de extrato de folha de soja-ágar também foram semelhantes. O substrato no qual se obteve a maior germinação foi o que continha 4 g de extrato de folha de soja (96,5%), no entanto, não diferiu significativamente do meio com 2 g de extrato de folha-ágar (Tabela 1).

Tabela 1: Efeito de substratos, mantidos por 12 horas em 25 °C, na germinação (%) de uredosporos de *Phakopsora pachyrhizi*. Passo Fundo, RS, 2009

Extratos	Média	Aumento relativo (%)
Extrato de folha de soja-ágar 4,0 g	96,5 a	16
Extrato de folha de soja-ágar 2,0 g	93,7 ab	13
Extrato de folha de soja-ágar 1,0 g	88,0 bc	6
Água-ágar	84,5 c	2
Extrato de folha de soja-ágar 0,5 g	83,2 c	-
C.V.	4,2%	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p=5\%$).

Quanto ao efeito dos substratos no crescimento dos tubos germinativos, observa-se que o maior crescimento do tubo germinativo ocorreu no meio que continha um 1,0 g de extrato de folha de soja (32,7 μ m de comprimento), porém os tratamentos não apresentaram diferença significativa entre si.

Tabela 2: Efeito de substratos no comprimento do tubo germinativo (μ m), mantidos por 12 horas em 25 °C, de uredosporos de *Phakopsora pachyrhizi*. Passo Fundo, RS, 2009

Extrato	Média	
1,0 g extrato de folha de soja-ágar	32,7	n.s.
4,0 g extrato de folha de soja-ágar	24,8	
Água-ágar	24,3	
2,0 g extrato de folha de soja-ágar	19,1	
0,5 g extrato de folha de soja-ágar	17,9	
C.V.	35,99%	

n.s. = não significativo.

A temperatura basal para a germinação dos uredosporos de *P. pachyrhizi* em meio de cultura foi de 6 °C. A temperatura ótima foi estimada pelas equações sendo de 21 °C nas 3, 6 e 24 horas de exposição. Já para o tempo de 12 horas de incubação a temperatura ótima foi de 20 °C e, seu crescimento foi paralisado quando atingiu a temperatura de 36 °C (Figura 1). Marchetti et al. (1976) testaram temperaturas de 7 a 28 °C, com o objetivo de avaliar a germinação dos uredosporos e concluíram que *P. pachyrhizi* germinou em todas as temperaturas, tendo como ótima as temperaturas na faixa de 15 a 25 °C.

Para determinar os limiares térmicos experimentos são conduzidos em laboratórios com diferentes temperaturas. Um substrato comumente utilizado é o ágar-água (TORGENSON, 1967). Porém, neste substrato a taxa de germinação de uredosporos das ferrugens é reduzida, provavelmente por serem parasitas biotróficos e esse ser um substrato pobre em nutrientes. Baseado no relato de Suzuki et al. (1998), levantou-se a hipótese que exsudados foliares de soja pudessem estimular a germinação de uredosporos “in vitro”.

Em trabalho semelhante conduzido com *Puccinia triticina* Eriks., agente causal da folha do trigo, os melhores substratos foram aqueles que continham extrato ou infusão de folhas de trigo (Reis & Richter, 2007), resultados esses que corroboram com os obtidos neste trabalho de que componentes das folhas do hospedeiro suscetível estimulam a germinação de esporos de fungos.

Marchetti et al. (1976) constataram que *P. pachyrhizi* foi capaz de germinar, “in vivo”, entre as temperaturas de 7 e 28 °C, com faixa ótima de 15 a 25 °C. Alves et al. 2004a, 2004b testaram temperaturas

de 8 a 30 °C, “in vivo”, e concluíram que o fungo foi capaz de germinar em todas essas temperaturas. Godoy & Flausino (2004) testaram temperaturas de 10 a 30 °C e submeteram os dados a função Beta generalizada e conseguiram resultados da temperatura mínima de 9,2 °C, a máxima de 30,3 °C, e a temperatura ótima para a germinação dos uredosporos estava na faixa de 18 a 26 °C. Isolados de locais diferentes (Brasil, Zimbábue, Havaí e Taiwan) submetidos a temperaturas de 7 a 32 °C (Bonde et al., 2007), indicam que a temperatura mínima para germinar os uredosporos foi de 8 °C, a máxima de 30 °C e, tendo como temperatura ótima 22 °C.

Pode-se observar que o tempo de exposição não foi o determinante para a germinação dos uredosporos, porém, o que foi decisivo foi a temperatura a que foram expostos, fato este, que comprova que os seres pecilotérmicos são regulados pela temperatura e não pelo tempo (cronológico).

Alguns pesquisadores referindo-se a temperatura ótima, usam o termo “na faixa de”, porém, deve ser identificado apenas um valor indicador do ótimo para o desenvolvimento do fungo.

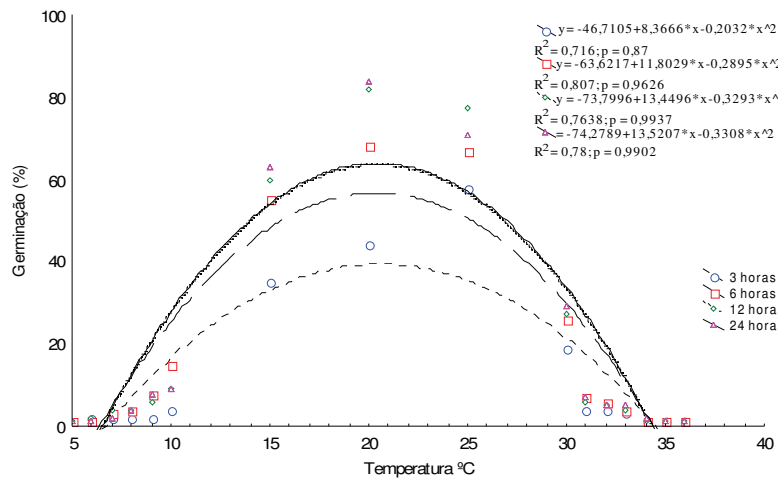


Figura 1 – Germinação (%) de uredosporos de *Phakopsora pachyrhizi* em função da temperatura e do tempo de exposição em substrato extrato de folha de soja-ágar. Universidade de Passo Fundo, 2009.

A partir da afirmativa que o tempo de exposição não influencia, e sim, quem determina a porcentagem de germinação dos uredosporos de *P. pachyrhizi* é a temperatura, foi confirmada também quando analisados os dados de tamanho do tubo germinativo.

O limiar térmico inferior, ou temperatura basal foi de 6,0 °C na qual ocorreu menor tamanho do tubo germinativo (µm). Abaixo dessa temperatura não ocorreu a germinação dos uredosporos. A temperatura ótima, obtida com a média das quatro equações foi de 21 °C, onde o tubo germinativo teve maior comprimento. A temperatura máxima foi 35 °C, acima dessa não ocorreu a germinação. (Figura 2).

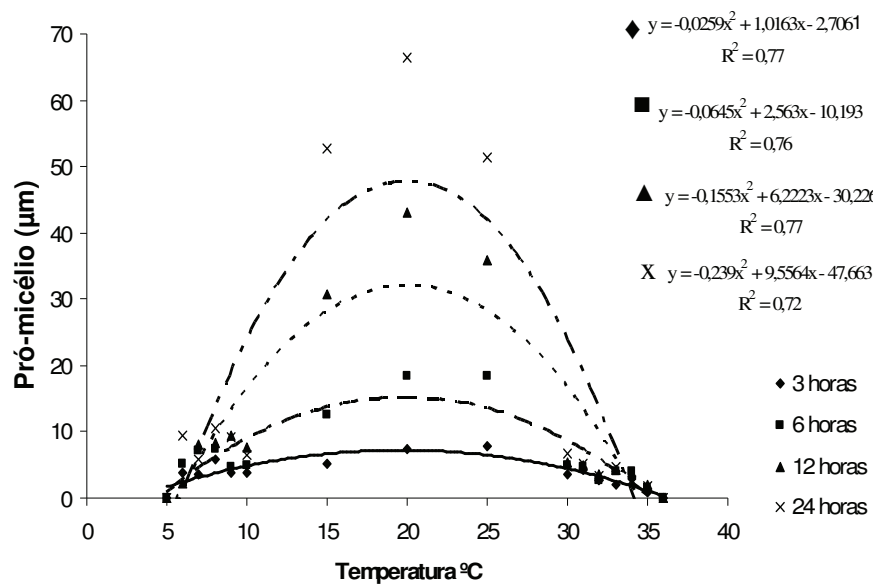


Figura 2 – Comprimento do pró-micélio (μm) de uredosporos de *Phakopsora pachyrhizi* em função da temperatura e do tempo de exposição em substrato extrato de folha de soja-ágar. Universidade de Passo Fundo, 2009.

4 Conclusão

A germinação dos uredosporos de *P. pachyrhizi* é afetada pela presença e concentração de extrato de folhas de soja no substrato água-ágar.

A temperatura basal, ou limiar térmico inferior, para germinação de *P. pachyrhizi* é de 6 °C.

A temperatura máxima para germinação de *P. pachyrhizi* é 35 °C.

Para a germinação de uredosporos de *P. pachyrhizi* foi de 20 a 21 °C.

CAPÍTULO II

QUANTIFICAÇÃO DO PERÍODOS LATENTE E INFECCIOSO DE *Phakopsora pachyrhizi*, EM SOJA POR TEMPO CRONOLÓGICO OU UNIDADES DE CALOR

RITA DE CÁSSIA CARLINI¹ & ERLEI MELO REIS²

RESUMO: Em experimento conduzido em câmara de crescimento determinou-se os graus-dias acumulados para a duração dos períodos latente e infeccioso e o potencial de esporulação de *Phakopsora pachyrhizi* agente causal da ferrugem asiática da soja. Para isto, folíolos de soja destacados (primeiro par unifoliado), do cultivar Codetec 214 RR, foram inoculados com $5.000.mL^{-1}$ uredosporos. A unidade experimental constou de três folíolos de soja dispostos equidistantemente numa caixa de acrílico do tipo gerbox, contendo uma espuma e dois papéis filtro, e incubados sob fotoperíodo de 12 horas, nas temperaturas de 10, 15, 20, 25 e 30 °C por 35 dias. As avaliações foram feitas aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a inoculação. Para calcular o potencial de esporulação foi cortado de cada gerbox três discos com 2,0 cm de diâmetro, colocado em 25 mL de água, agitado e contado no microscópio os

¹Enga-Agra, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia – rita_carlini@hotmail.com

²Orientador, Eng-Agr., professor da FAMV/PPGAgro/UPF – erleireis@tpo.com.br

uredosporos de 3 gotas de 0,01 mL. de Foram avaliados o número de pústula.cm⁻², o potencial de esporulação e calculados os graus-dias acumulados para os períodos latente e infeccioso. Os dados foram submetidos ao programa STATISTICA 8.0. Pela fórmula de MONTEITH (1977), foram encontrados os seguintes GDAs 182, 293, 569, e 765 de acordo com as temperaturas 10, 15, 20 e 25 °C respectivamente. Para a fórmula de Russele et al (1984), o somatório dos GDAs foram 157,5; 332,5; 507,5 e 682 respectivamente. Concluiu-se que a mudança do período latente para o infeccioso é determinado pela temperatura.

Palavras chave: *Glycine max*, temperatura, ferrugem asiática

ABSTRACT: In experiment carried out in incubator the accumulated degree-days for the duration of the infectious, latent, periods and sporulation potential of *Phakopsora pachyrhizi*, causal agent of the asian rust soybean, were determined. Detached soybean leaflets (first unifoliolate), of cultivar Codetec 214, were inoculated with 5.000.mL⁻¹ uredinospores. The experimental unit consisted of three soybean leaflets arranged evenly in a acrylic box, and incubated in the temperatures of 10, 15, 20, 25 and 30 °C for 35 days, the evaluations were made at the 7, 14, 21, 28 and 35 days after the inoculation. The effects were evaluated by counting the

¹Enga-Agra, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia – rita_carlini@hotmail.com

²Orientador, Eng-Agr., professor da FAMV/PPGAgro/UPF – erleireis@tpo.com.br

pustule number.cm⁻², the esporulation potential and calculated the accumulated degree-days for the latent and infectious periods. It was inferred that the change of the latent period for the infectious is determined by the temperature.

Key words: *Glycine max*, temperature, asian soybean rust.

1 Introdução

A soja [*Glycine Max* (L.) Merr] é a principal espécie vegetal cultivada no Brasil. Para a safra 2008/2009 estima-se que a área semeada seja de 21,2 milhões de hectares e, a produção estimada de 58,8 milhões de toneladas, tendo uma redução de aproximadamente 2%, na produção, em relação a safra anterior (CONAB, 2009).

Na safra 2000/2001 surgiu uma nova doença, conhecida como ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo Basidiomiceto *Phakopsora pachyrhizi* Sydow., capaz de causar danos de até 80% (Yorinori et al., 2002a, 2005; MOREL, 2001).

As principais estratégias de controle desta ferrugem são o uso de cultivares precoces e semeados no início da época recomendada e a quimioterapia (TECNOLIGIAS 2008/09). Até o presente momento ainda não estão disponíveis para os produtores cultivares com resistência suficiente para evitar perdas econômicas. Uma maneira de racionalizar o controle químico é através do uso de sistemas de aviso como ferramenta para indicar o momento correto para a primeira aplicação de fungicidas na cultura.

Um método preciso que tem potencial para ser usado em sistemas de aviso de doenças de plantas são os graus dias acumulados (GDA). Este método é fundamentado no fato de que os fungos,

organismos pecilotérmicos, têm as suas fases de desenvolvimento comandadas pelo acúmulo de calor. Já foram feitos vários estudos com plantas e insetos, porém, com fitopatógenos existe pouca informação publicada.

Este trabalho teve por objetivo determinar as unidades de calor para os períodos latente e infeccioso de *P. pachyrhizi* no hospedeiro soja visando introduzi-lo num sistema de aviso da ferrugem da soja.

2 Material e Métodos

O inóculo da ferrugem foi mantido e multiplicado pela inoculação de plantas de soja cultivadas em vasos, cultivar Codetec 214 RR em câmara de crescimento a 22 °C e fotoperíodo de 14 horas. A inoculação das plantas foi realizada com concentração superior a 20.000 esporos. mL⁻¹, seguida de molhamento folhar por 48 horas, no escuro. Após foi mantida a mesma temperatura e fotoperíodo de 14 horas em câmaras de crescimento.

Sementes de soja do cultivar Codetec 214 foram semeadas semanalmente, em copos plástico, mantidos em câmara-de-crescimento a 22 °C e fotoperíodo de 14 horas, para fornecer folíolos sadios sempre que necessário.

O experimento foi conduzido com folíolos de soja destacados (primeiro par unifoliado) e inoculados com 5.000 esporos.mL⁻¹ de *P. pachyrhizi*. Foram testadas temperaturas constantes em incubadora, de 10, 15, 20, 25 e 30 °C. A unidade experimental constou de caixas de acrílico (11 x 11 x 3,5 cm de altura)(tipo gerbox) tendo-se colocado no fundo uma espuma plástica, de 5 mm de espessura com dois

papéis filtro em sua superfície. O conjunto foi saturado com água destilada e, devidamente identificado e nele adicionado três folíolos com a face abaxial voltada para cima coletadas 25 dias após a emergência.

Em cada temperatura foram avaliados cinco tempos de exposição: 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a inoculação.

A inoculação foi feita com um atomizador plástico, manual, com suspensão de esporos (200 mL de água, 5000 esporos.mL⁻¹ e duas gotas de Tween 80%), borrifando cada gerbox. Após a inoculação o conjunto foi colocado nas incubadoras com fotoperíodo de 12 horas com lâmpadas de luz branca com 40 Watts de potência cada lâmpada, o conjunto constituía de 8 lâmpadas, divididas em duas fileiras de quatro. A intervalos de dois dias os folíolos foram borrifados com água destilada, contando-se quatro segundos para borrifar cada gerbox. Esse procedimento foi observado para evitar o acúmulo de água no papel filtro, formando apenas gotículas de água sobre os folíolos.

As avaliações foram feitas em um disco de 2,0 cm de diâmetro em cada folíolo, com furador de rolha. Sob lupa (50x) foi contado o número de urédias fechadas (apenas um domo) e abertas com esporos visíveis. Posteriormente os discos dos três folíolos foram introduzidos num recipiente plástico com 25 mL de água destilada e uma gota de espalhante (Tween 80%) somente para ajudar na remoção dos esporos. O material foi agitado, tomou-se uma alíquota de 0,01 mL e verteu-se três gotas sobre uma lâmina de microscopia. Foram contados por varredura sob microscópio os esporos presentes nas gotas.

Para calcular os graus-dias acumulados foi usada as fórmulas $1/t = (T - T_b)b$ (Monteith, 1977) onde t é o tempo requerido para cada evento particular do desenvolvimento, T (°C) é a temperatura média do período, T_b é a temperatura basal e b é o tempo térmico requerido para ocorrer o evento (Garcia-Huidobro et al. 1982). Russele et al. (1984) onde $GD = [(T_{max}+T_{min})/2]-T_b$, onde o GD é os graus dias acumulados no dia, T_{max} é a temperatura máxima ocorrida no dia, T_{min} é a temperatura mínima ocorrida no dia e o T_b é a temperatura basal para que ocorra o desenvolvimento.

Na determinação da temperatura basal, os dados foram submetidos à função Beta generalizada.

O período latente foi considerado desde a inoculação até a abertura da primeira pústula com uredosporos presentes. O período infeccioso foi considerado a partir do final do período latente até aos 35 dias finais do experimento. O período de 35 dias foi previamente determinado, podendo o experimento ser conduzido até as folhas de soja senescerem.

A relação entre temperatura, tempo de exposição (expresso em dias) e o número de pústula.cm⁻² foi representada por um modelo de regressão polinomial realizado no programa STATISTICA 8.0

3 Resultados e Discussão

A relação entre a temperatura, tempo de exposição, e número de pústulas.cm⁻² foi expresso pela equação $Z = -118,2736 + 13,3699 * x + 0,9421 * y - 0,4027 * x * x + 0,1452 * x * y + 0,0266 * y * y$. Onde z são as pústulas.cm⁻², y a temperatura em que os folíolos de soja foram submetidos e, x o tempo de exposição.

Pode-se observar (Figura 1) que a medida que a temperatura se aproximou da ótima, aumentou o número de urédias.cm⁻². Em valores térmicos superiores a ótima, houve redução no número de urédia e, a 30 °C, não ocorreu a infecção foliolar da soja.

A infecção ocorreu nas temperaturas que variaram de 7 a 27,5 °C. Os dados aqui gerados são semelhantes aos publicados por ALVES et al. (2005) tendo em vista que a mínima testada pelos autores foi de 10 °C. Experimento realizado com temperaturas na faixa de 10 a 30 °C mostrou que a infecção ocorre até 30 °C (Alves et al., 2006), confirmando novamente os obtidos do presente trabalho. Em outro trabalho realizado com diferentes temperaturas, Caldwell et al. (2005) determinaram que neste patossistema não ocorreu a infecção nas temperaturas de 15 e 30 °C. Esses dados confirmam que a 30 °C não há o desenvolvimento do processo infeccioso de *P. pachyrhizi* em soja.

Confrontando os trabalhos consultados nota-se que não há uma concordância quanto à temperatura mínima para que ocorra infecção do fungo *P. pachyrhizi*, porém, todos concluem que a temperatura máxima para o desenvolvimento do fungo foi 30°C.

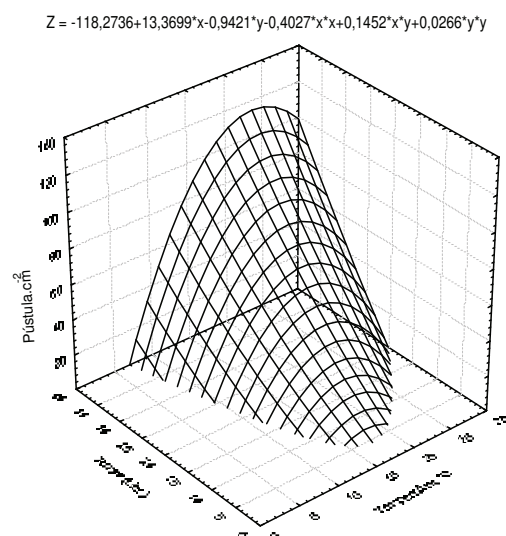


Figura 1 - Efeito de temperaturas (y) e tempos de exposição (x) sobre a densidade de urédias.cm⁻² (z) de *Phakopsora pachyrhizi* em cultivar Codetec 214 RR.UPF. Passo Fundo, 2009.

A relação entre temperatura, tempo de exposição (expresso em dias) e o número de esporos.cm⁻² foi representada por um modelo de regressão polinomial expresso pela equação $Z = -8290,9525 + 1046,483 \cdot x + 88,2499 \cdot y - 32,409 \cdot x^2 + 10,4831 \cdot x \cdot y + 1,2239 \cdot y^2$.

Os valores obtidos quanto ao efeito das temperaturas e tempo de exposição sobre o número de esporos.cm⁻² seguiu o mesmo comportamento das pústulas.cm⁻². A medida que a temperatura aumentou a esporulação seguiu o mesmo modelo. Como a 30 °C não ocorreu infecção, conseqüentemente não houve esporulação (Figura 2).

$$Z = -8290,9525 + 1046,483 \cdot x - 88,2499 \cdot y - 32,409 \cdot x^2 + 10,4831 \cdot x \cdot y + 1,2239 \cdot y^2$$

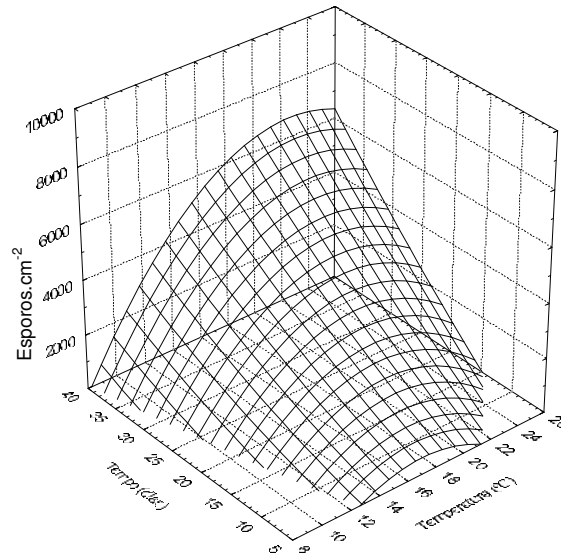


Figura 2 - Efeito de temperaturas (y) e tempos de exposição (x) sobre a quantidade de esporos.cm⁻² (z) de *Phakopsora pachyrhizi* em cultivar Codetec 214 RR. UPF. Passo Fundo, 2009.

A partir da fórmula de Monteith (1977) e Russele et al. (1984), verificou-se que há uma menor diferença entre a temperatura média mínima e a temperatura média máxima quando se refere a GDAs no período latente, quando utilizou-se a fórmula de Monteith (1977) (Tabela 1). Porém, no período infeccioso a fórmula de Russele et al. (1984) diminui a diferença nos GDAs entre as temperaturas médias máxima e mínima (Tabela 2).

Monteith (1977) assume que cada sub-período tem uma taxa diferente de desenvolvimento (1/t), enquanto que Russele et al. (1984)

desconsidera a taxa de desenvolvimento. A medida que a temperatura foi reduzida, o acúmulo dos graus-dias também diminuiu, conseqüentemente, demorando mais para surgir os primeiros sintomas. Na temperatura ótima o acúmulo dos graus-dias é maior, porém há uma redução em número de dias para o aparecimento dos primeiros sintomas, há uma concentração maior de urédias.cm⁻² e também uma maior quantidade de esporos.cm⁻² (Figura 2, Tabela 1).

Trabalhos realizados, até então, só consideravam os diferentes períodos em dias (tempo cronológico) para o fungo *P. pachyrhizi*.

Trabalhos realizados com *Venturia inaequalis* (Tomerlin & Jones 1983), considerando os GD acumulados, conseguiram prever com quatro dias de antecedência quando 10% dos ascósporos estavam em maturação, e com dois dias de antecedência quando 90% dos ascósporos estavam em maturação (MacHardy & Gadoury, 1985). Existe relação entre o tempo para o surgimento da primeira lesão e os GDAs (Franck et al., 1988).

O resultado obtido por Alves et al. (2005) mostra que os sintomas, com temperatura constante de 10 °C, surgem aos 20 dias após a inoculação, conclusão esta que difere do presente trabalho.

No Japão, o período latente variou de 13 dias a 28 °C (Kitani & Inoue, 1960). Na Austrália, em regime de temperatura variando de 7 a 17 °C, o período latente foi de 14 dias, variando as temperaturas de 17 a 27 °C, o período latente foi de 9 dias e, 11 dias no regime de temperatura variando de 22 a 32 °C (KOCHMAN, 1979).

Tabela 1 - Efeito da temperatura (°C) na duração dos períodos latente e infeccioso de *Phakopsora pachyrhizi*, em soja, quantificados em tempo cronológico (dias) e em graus- dia- acumulados (GDA) com base na fórmula de MONTEITH, (1977), UPF. Passo Fundo, RS, 2009

Temperatura (°C)	Tempo (Dias)			GDA (°C)		
	Período			Período latente	Período infeccioso	Total
	latente	Período infeccioso	Total			
10	28	7	35	150,0	32	182,0
15	21	14	35	158,0	135	293,0
20	14	21	35	207,0	362	569,0
25	14	21	35	278,0	487	765,0

Tabela 2 - Efeito da temperatura (°C) na duração dos períodos latente e infeccioso de *Phakopsora pachyrhizi*, em soja, quantificados em tempo cronológico (dias) e em graus-dia- acumulados (GDA) com base na fórmula de Russele et al. (1984), UPF. Passo Fundo, RS, 2009

Temperatura (°C)	Tempo (Dias)			GDA (°C)		
	Período			Período latente	Período infeccioso	Total
	latente	Período infeccioso	Total			
10	28	7	35	126,0	31,5	157,5
15	21	14	35	199,5	133,0	332,5
20	14	21	35	203,0	304,5	507,5
25	14	21	35	273,0	409,0	682,0

Dados sobre o uso de GDA referentes a esse patossistema (*Phakopsora pachyrhizi* – soja) não foram encontrados na literatura consultada.

4 Conclusão

A temperatura determina a duração do período latente para o período infeccioso de *P. pachyrhizi*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXOPOULOS, G.J. & MIMS, C. W. Introductory Mycology. 3^o Ed. Jhon Wiley e Sens, New York, 1979. 632p

ALMEIDA, F. S. & GONÇALVES, L. Efeitos da temperatura e do alimento no desenvolvimento de *Dysdercus maurus* Distant (Hemiptera, Pyrrhocoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* 51(4): 506-511, 2007.

ALVES et al. Efeito da temperatura e do período de molhamento na germinação de *Phakopsora pachyrhizi*. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, p.S207, 2004a.

ALVES et al. Efeito da temperatura e do período de molhamento na formação de apressórios de *Phakopsora pachyrhizi*. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, p.S208, 2004b.

ALVES et al. Influência da temperatura e da duração do período de molhamento foliar no desenvolvimento da ferrugem da soja. *Fitopatologia Brasileira*, v. 30, p.S127, 2005.

ALVES, S. A. M. et al. Influência da temperatura no período latente da ferrugem asiática da soja. v. 32 p. S71, 2006. Resumo n. 225 em *Summa Phytopathologica*.

ALVES, M. C. et al. Intensidade da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & P. Sydow) da soja [*Glycine Max* (L.) Merr.] nas cultivares Conquista, Savana e Suprema sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar. *Summa Phytopathologica*. v. 33 n. 3 p. 239-244, 2007.

BERGAMIN FILHO, A. & AMORIN, L. *Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico*. Ed. Agronômica Ceres, 289 p. 1996.

BONDE, M. R. et al. Effects of temperature on uredinospore germination, germ tube growth, and initiation of infection in soybean by *Phakopsora pachyrhizi*. *Phytopathology*. v. 97 n. 8, 2007.

BONHOMME, R. Bases and limits to using 'degree.day' units. *European Journal of Agronomy*, Amsterdam, v.13, n.1, p.1-10, 2000.

BRUNINI, O.; LISBÃO, R.S.; BERNARDI, J.B. Temperatura-base para a alface “Withe Boston”, em um sistema de unidades térmicas. *Bragantia*, Campinas, v.35, p. 214-219, 1976.

CALDWELL, P. M. et al. Development of *Phakopsora pachyrhizi* at different temperatures, relative humidities and leaf wetness duration. C3. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON PLANT DISEASE EPIDEMIOLOGY, 9., 2005.

CAMPBELL, C. L & MADDEN, L. V. *Introduction to plant disease epidemiology*. Ed. Wiley, p. 532, 1990.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <www.conab.gov.br> Acesso em: 10 jan. 2009

DAUGHTRY, C. S. T.; COCHRAN, J. C.; HOLLINGER, S. E. Estimating silking and maturity dates of corn large areas. *Agronomy Journal*. v. 76 p. 421-424, 1984.

DEL POZO, A. H. et al. Relationship of base temperature to development of spring wheat. *Experimental Agriculture*. v. 23, p. 21-30, 1987.

FAHIM, M. A.; HASSANIEN, M. K.; MOSTAFA, M. H. Relationships between climatic conditions and potato late blight epidemic in Egypt during winter seasons 1999-2001. *Applied Ecology and Environmental Research*. v. (1-2) p. 159-172, 2003.

FRANCK, G. D.; HARRISON, M. D.; LAHMAN, L. K. A simple day-degree model for initiating chemical control of potato early blight in Colorado. *Plant Disease*. v. 72 n. 10 p. 851-854, 1988.

GARCIA-HUIDOBRO, J.; MONTEITH, J. K.; SQUIRE, G. R. Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoides* S. & H.). I. Constant temperature. *Journal of Experimental Botany*. v. 33 p. 288-296, 1982.

GASSEN, F. & BORGES, L. D. Importância econômica da soja. In: REIS, E. M. et al. *Doenças na cultura da soja*. 1. ed. Passo Fundo. 2004. p. 11-19.

GODOY, C. V.; FLAUSINO A. M. Efeito da temperatura na germinação de *Phakopsora pachyrhizi*, viabilidade e sobrevivência em diferentes condições de armazenamento. v. 29 p.S124, 2004. Resumo n. 354 em *Fitopatologia Brasileira*.

GRIFFITH, G. S.; COOK, R.; MIZEN, K. A. Modelling development of stem nematode population in White clover stolons. In: *Aspects of Applied Biology 46, Modelling Applied Biology: Spatial Aspects*. p. 253-256, 1996.

HANSEN, J. G.; ANDERSSON, B.; HERMANSEN, A. NEGFYRY – a system of scheduling chemical control of late blight in potatoes. In: DOWLEY, L. J. et al. (eds). *Phytophthora infestans 150*. E. Boole Press Ltd., Dublin. p. 201-208, 1995.

HANSEN, J. G. & HOLMS, S. Validering af Negativ-prognosen til varsling for kartoffelskimmel (*Phytophthora infestans*). Tidsskrift for Planteavl's Specialserie n. S2178, p. 44, 1991.

KAUKORANTA, T. Impacto f global warming on potato late blight: risk, yield loss and control. *Agricultural and Food Science in Finland*. v. 5 p. 311-327, 1996.

KITANI, K.; INOUE, Y. Studies on soybean rust and its control measure. Part 1. Studies on the soybean rust. *Shikoku National Agricultural Experiment Station Bulletin*. v.5, p. 319-342, 1960.

KOCH, E., HOPPE, H. H. Development of infection structures by direct-penetrating soybean rust fungus (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) on artificial membranes. *Journal of Phytopathology*, v. 122, p. 232-244, 1988.

KOCHMAN, J. K. The effect of temperature on development of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*). *Australian Journal of Agricultural Research*. v. 30, p. 273-277, 1979.

KOGA, L. J. et al. Análise multivariada dos componentes da resistência à ferrugem-asiática em genótipos de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.3 n.10, 2008

KUSHALAPPA, A. C.; BOIVIN, G.; BRODEUR, L. Forecasting incidence thresholds of *Cercospora* blight in carrots to initiate fungicide application. *Plant Disease*. v. 73 n. 12 p. 979-983, 1989.

MACHARDY, W. E.; GADOURY, D. M. Forecasting the seasonal maturation of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*. v. 75 n. 4, 1985.

MARCHETTI, M. A., MELCHING, J. S., BROMFIELD, K. R. The effects of temperature and dew period on germination and infection by uredospores of *Phakopsora pachyrhizi*. *Phytopathology*, v. 66, p. 461-463, 1976.

MEDEIROS, G. A. et al. Crescimento vegetativo e coeficiente de cultura do feijoeiro relacionados a graus-dias acumulados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.35, n.9, p.1733-1742, 2000.

MELCHING, J.S., BROMFIELD, K.R. & KINGSOLVER, C.H. Infection, colonization and uredospore production on Wayne soybean by four cultures of *Phakopsora pachyrhizi*, the cause of soybean rust. *Phytopathology* 69:1262-1265. 1979.

MELCHING, J. S. et al. Effect of duration, frequency, and temperature of leaf wetness period on soybean rust. *Plant Disease*, v.73, p. 117-122, 1989.

MONTEITH, J. L. Climate. In *Ecophysiology of tropical crops*. Academic Press. p. 1-25, 1977.

MOREL, W. *Roya de la soja*. Comunicado técnico – Reporte oficial. Serie Fitopatológica n 1 – Junho de 2001. Ministerio de Agricultura y Ganaderia. Subsecretaria de Agricultura. Dirección de Investigación Agrícola. Centro de Investigación Agrícola (CRIA) Capitán Miranda, Itapúa, Paraguay.

MORRISON, M. J.; MCVETTY, P. B. E.; SHAYEKEWICH, C. F. The determination and verification of baseline temperature for the growth of westar summer rape. *Canadian Journal of Plant Science*. v. 69 p. 455-464, 1989.

MULLENS, B. A.; PAINE, E. O.; VELTEN, R. K. Temperature effects on survival and development of *Heleidomermis magnapopula* in laboratory. *Journal of Nematology*. v. 27 p. 29-35, 1995.

OMETTO, J. C. *Bioclimatologia vegetal*. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, p. 440, 1981.

REIS, E. M. *Previsão de doenças de plantas*. Ed. UPF, 1º ed. 2004.

REIS, E. M.; BRESOLIN, A. C. R.; CARMONA, M. *Doenças da soja! Ferrugem asiática*. Ed. Passo Fundo, 2006.

REIS, E. M. & RICHTER, R. L. Efeito de substratos sobre a germinação de uredosporos e comprimento de tubos germinativos de *Puccinia triticina*. *Fitopatologia Brasileira*. v. 32 n. 1 p. 75-160, 2007.

RIBEIRO do VALE et al. *Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas*. Belo Horizonte, Ed. Perfphil, p. 531, 2004.

ROBERTO S. R. et al. Caracterização da fenologia e exigência térmica (graus-dias) para a uva “Cabernet Sauvignon” em zona subtropical. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 27, n. 1, 2005.

RUSSELE, M. P. et al. Growth analysis based on degree days. *USDA Agricultural Reserch Service*. University of Nebraska, 1984.

SCHERM, H. & VAN BRUGGEN, H. C. Weather variables associated with infection of lettuce by downy mildew (*Bremia lactucae*) in Coastal Califórnia. *Phytopathology*. v. 84 n. 8 p. 860-865, 1994.

SCHNEIDER, R. W. et al. First report of soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* in the Continental United States. *Plant Disease*, v. 89, p. 774, 2005.

SHÖFFEL, E. R. & VOLPE, C. A. Relação da soma térmica efetiva e o crescimento da soja. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, v. 10, n. 1, p. 89-96, 2002.

SCHOOLFIELD, R. M.; SHARPE, P. J. H.; MAGNUSON C. E. Non-linear regression of biological temperature-dependent rate models on absolute rate theory. *Journal of Theoretical Biology*. v. 88 p. 719-731, 1981.

SHARVELLE, E. G. Chemical control of plant disease. Fort Worth. Prestige Press. 1969.

SHÖFFEL, E. R. & VOLPE, C. A. Relação da soma térmica efetiva e o crescimento da soja. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, v. 10, n. 1, p. 89-96, 2002.

STEINMAUS, S. J.; PRATHER, T. S.; HOLT, J. S. Estimation of base temperatures for nine weed species. *Journal of Experimental Botany*. v. 51 p. 275-286, 2000.

STENSVAND, A.; AMUNDSEN, T.; SEMB, L. Discharge and dissemination of ascospores by *Venturia inaequalis* during dew. *Plant disease*. v. 82 n. 7 p. 761-764, 1998.

STRECK, N.A. A generalized nonlinear air temperature response function for node appearance rate in muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, v.10, n.1, p.105-111, 2002.

STRECK, N.A. et al. Incorporating a chronology response into the prediction of leaf appearance rate in winter wheat. *Annals of Botany*, v.92, p.181-190, 2003.

SUN P., FITT B. D. L, STEED J. M., TOSCANO-UNDERWOOD C., WEST J. S. Factors affecting development of phoma canker (*Leptosphaeria maculans*) on stems of winter oilseed rape (*Brassica napus*) in southern England. *Annals of Applied Biology* 139, 227-42, 2001.

SUZUKI, M. S.; SILVEIRA, S. F.; ALFENAS, A. C. Germinação de uredíniosporos de *Puccinia psidii* Wint. em meio ágar com extratos

foliares de goiaba, jambo ou eucalipto. *Fitopatologia Brasileira.*, v. 23, p. 285, 1998.

TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL 2005. Londrina: Embrapa Soja; Embrapa Cerrados; Embrapa Agropecuária Oeste; Fundação Meridional, p 189-189, 2004.

TOMERLIN, J. R. & JONES, A. L. Effect of temperature and relative humidity on the latent period of *Venturia inaequalis* in apple leaves. *Phytopathology.* v. 73 n. 1 p. 51-54, 1983.

TORGENSON, D. C. Determination and measurement of fungitoxicity. In: *Fungicides. An advanced treatise.* New York NY. Academic Press. p. 93-123, 1967.

TRUDGILL, D. L. et al. Thermal time – concepts and utility. *Annals of Applied Biology.* v. 146, p. 1-14, 2005.

ULLRICH, J. & SCHRÖDER, H. Das problem de vorhersage des auftretens der kartoffelkautfäule (*Phytophthora infestans*) und die Möglichkeit siner Lösung durch eine “Negativprognose”. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes.* v. 18 p. 33-40, 1965.

WASHITANI, I.; TAKENAKA, A. Mathematical description of the seed germination dependency on time and the temperature. *Plant, Cell and Environment.* v. 7 p. 359-362, 1984a.

WASHITANI, I.; TAKENAKA, A. Germination resposes of a non-dormant seed population of *Amaranthus patulus* Bertol. to Constant temperatures in the sub-optimal range. *Plant, Cell and Environment.* v. 7 p. 353-358, 1984b

YIN, X.; KROPFF, M.J.; MCLAREN, G.; VISPERAS, R.M. A nonlinear model for crop development as a function of temperature. *Agricultural and Forest Meteorology,* Amsterdam, v.77. p. 1-16, 1995.

YORINORI, J. T. et al. Ferrugem da soja (*Phakpsora pachyrhizi*) no Brasil e no Paraguai, nas safras 2000/01 e 2001/02. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, Foz do Iguaçu, PR. 2002a. *Anais...* p.94

YORINORI, J. T. et al. Epidemics of soybean rust (*Phakospora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay. *Plant Disease*, v.89, p.675-677, 2005.

ZADOKS, J.C. & SCHEIN, R.D. *Epidemiology and Plant Disease Management*. New York. Oxford University Press. 1979.