

**ÁUREA TOMOKO MATSUMOTO KAMIKOGA**

**MÉTODO DA FOLHA DESTACADA PARA AVALIAR  
RESISTÊNCIA DA SOJA AO OÍDIO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia.

**CURITIBA  
2001**

**ÁUREA TOMOKO MATSUMOTO KAMIKOGA**

**MÉTODO DA FOLHA DESTACADA PARA AVALIAR  
RESISTÊNCIA DA SOJA AO OÍDIO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Maria Lúcia R. Z. da Costa Lima

**CURITIBA  
2001**




UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E FITOSSANITARISMO  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
PRODUÇÃO VEGETAL

## PARECER

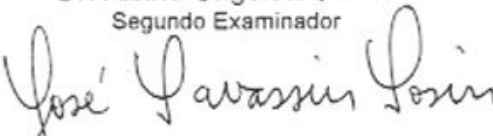
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO, apresentada pela candidata **AUREA TOMOKO MATSUMOTO KAMIKOGA**, sob o título "**MÉTODO DA FOLHA DESTACADA PARA AVALIAR RESISTÊNCIA DA SOJA AO OÍDIO**", para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Tese.

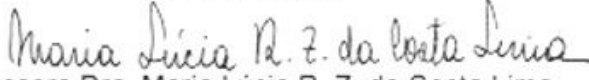
Curitiba, 27 de Julho de 2001.

  
Dr. Alvaro Figueredo dos Santos  
Primeiro Examinador

  
Dr. Albino Grigoletti Júnior  
Segundo Examinador

  
Professor Dr. José Cavassin Tosin  
Terceiro Examinador

  
Professor Dr. Vismar da Costa Lima Neto  
Quarto Examinador

  
Professora Dra. Maria Lúcia R. Z. da Costa Lima  
Presidente da Banca e Orientadora

**Aos meus pais Hiroshi e Toshiko**

**Aos meus irmãos, Dirce, Silvio e Marcos,**

**OFEREÇO.**

**Ao meu esposo Marcos,**

**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

A autora agradece a todos aqueles que colaboraram na realização deste trabalho, em especial:

Ao Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, ao Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Curitiba e à Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela oportunidade de aperfeiçoamento proporcionado.

A Prof<sup>a</sup>. Maria Lúcia R. Z. da Costa Lima, pelas sugestões, orientação, apoio, amizade e principalmente pelo exemplo de garra e determinação.

Ao Prof. Vismar da Costa Lima Neto, pela prestimosa colaboração na revisão dos originais e sugestões apresentadas.

Ao Prof. Luiz Doni Filho, coordenador do Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da UFPR, pelas atenções e estímulo.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação, pelos ensinamentos recebidos.

Aos colegas de curso pela amizade, companherismo e colaboração.

Ao Prof. David S. Jaccoud Filho, pela versão para o inglês do resumo.

Ao Prof. Cláudio Puríssimo e José Elzevir Cavassim pela colaboração nas análises estatísticas.

Aos amigos Aroldo Marochi, Mauro Cucolotto, Adilson Bizzetto, que colaboraram com os trabalhos.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa de estudo concedida.

As Empresas F. T. – Pesquisa e Sementes e Monsoy Ltda, pelas facilidades oferecidas para execução dos trabalhos.

A todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização do presente trabalho.

## BIOGRAFIA DO AUTOR

ÁUREA TOMOKO MATSUMOTO KAMIKOGA, filha de Hiroshi e Toshiko Matsumoto, nascida em Araçatuba, Estado de São Paulo, no dia 4 de março de 1955. Casada com Marcos Kazuyuki Kamikoga em 4 de dezembro de 1982.

Cursou o ensino de primeiro grau no Instituto de Educação "Prof. Manoel Bento da Cruz" em Araçatuba, Estado de São Paulo, em 1965; o segundo grau no Instituto de Educação "Prof. Stélio Machado Loureiro", em Birigui, Estado de São Paulo, em 1973. Realizou o curso de Farmácia-Bioquímica, na Universidade Estadual de Maringá, em 1980.

Realizou a capacitação profissional, cursando Mestrado em Agronomia, área de concentração Fitopatologia, na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", em Piracicaba, Estado de São Paulo, em 1988, onde desenvolveu o trabalho "Reações de diferentes populações de milho pipoca (*Zea mays* L.) a *Helminthosporium turcicum* Pass.

De 1980 a 1988 trabalhou no ramo comercial como responsável técnica na área farmacêutica. De 1984 até a presente data trabalha no Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, na Universidade Estadual de Ponta Grossa. Em março de 1997, iniciou o curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	vii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	viii
<b>RESUMO</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 O OÍDIO DA SOJA .....	3
2.2 O MÉTODO DA FOLHA DESTACADA .....	7
2.3 HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS .....	9
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	10
3.1 ISOLADO: ORIGEM E PRESERVAÇÃO .....	10
3.2 OBTENÇÃO E PREPARO DO INÓCULO .....	11
3.3 INOCULAÇÃO E INCUBAÇÃO DAS FOLHAS DESTACADAS DE SOJA .....	11
3.4 AVALIAÇÃO DOS SINTOMAS .....	12
3.5 EXPERIMENTOS .....	14
3.5.1 Influência da superfície foliar e da concentração de conídios na manifestação dos sintomas de <i>M. diffusa</i> , em folhas destacadas de soja .....	14
3.5.2 Influência do estágio de desenvolvimento das folhas destacadas de plantas de soja na duração e manifestação dos sintomas de <i>M. diffusa</i> .....	15
3.5.3 Influência da técnica de inoculação na manifestação dos sintomas de <i>M. diffusa</i> , em folhas destacadas de soja .....	20
3.5.4 Influência da temperatura, umidade relativa e fotoperíodo na ocorrência da fase perfeita do fungo <i>M. diffusa</i> .....	21
3.5.5 Comparação de reação de cultivares de soja inoculadas com <i>M. diffusa</i> pelo Método da Folha Destacada Modificada no laboratório, em plantas semeadas na casa de vegetação e campo .....	22

3.5.6 Reações de cultivares de soja inoculadas com <i>M. diffusa</i> em casa de vegetação	23
3.5.7 Reações de plantas invasoras à inoculação de <i>M. diffusa</i> em casa de vegetação	23
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>30</b>
4.1 INFLUÊNCIA DA SUPERFÍCIE FOLIAR E DA CONCENTRAÇÃO DE CONÍDIOS NA MANIFESTAÇÃO DOS SINTOMAS DE <i>M. diffusa</i> , EM FOLHAS DESTACADAS DE SOJA	31
4.2 INFLUÊNCIA DO ESTÁDIO DE DESENVOLVIMENTO DAS FOLHAS DESTACADAS DE PLANTAS DE SOJA NA SUA DURAÇÃO E MANIFESTAÇÃO DOS SINTOMAS DE <i>M. diffusa</i>	33
4.3 INFLUÊNCIA DA TÉCNICA DE INOCULAÇÃO NA MANIFESTAÇÃO DOS SINTOMAS DE <i>M. diffusa</i> EM FOLHAS DESTACADAS DE SOJA	37
4.4 INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NA OCORRÊNCIA DA FASE PERFEITA DO FUNGO <i>M. diffusa</i>	40
4.5 COMPARAÇÃO DA REAÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA À <i>M. diffusa</i> , ATRAVÉS DA INOCULAÇÃO DE FOLHAS DESTACADAS E DE FOLHAS ADERIDAS ÀS PLANTAS	41
4.6 AVALIAÇÃO DA REAÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA À <i>M. diffusa</i> , ATRAVÉS DA METODOLOGIA DA FOLHA DESTACADA MODIFICADA	45
4.7 REAÇÃO DE PLANTAS INVASORAS À INOCULAÇÃO EM <i>M. diffusa</i> EM CASA DE VEGETAÇÃO	48
<b>5 CONCLUSÕES</b>	<b>57</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>58</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>59</b>
<b>8 ANEXOS</b>	<b>65</b>

## LISTA DE FIGURAS

1 Reação de cultivares de soja em folha destacada: AS (altamente suscetível) e S (suscetível) .....	13
2 Reação de cultivares de soja em folha destacada: MR (moderadamente resistente) e R (resistente) .....	13
3 Plântula da soja em folha unifoliada e 1º trifólio completamente desenvolvido (V <sub>2</sub> ) ....	17
4 Plântula da soja com 2º trifólio completamente desenvolvido (V <sub>3</sub> ) .....	18
5 Plântula da soja com 3º trifólio completamente desenvolvido (V <sub>4</sub> ) .....	18
6 Plântula da soja com 4º trifólio completamente desenvolvido (V <sub>5</sub> ) .....	19
7 Avaliação dos níveis de infecção de <i>M. diffusa</i> inoculados com diferentes concentrações na superfície adaxial e abaxial das folhas destacadas de soja .....	33
8 Enraizamento de folhas destacadas de plantas de soja, com 30 dias de inoculação ..	36
9 Manifestação do sintoma de senescência de folhas destacadas de plantas de soja, com 30 dias de incubação .....	36
10 Níveis de infecção de <i>M. diffusa</i> em 10 cultivares de soja avaliadas na casa de vegetação e em folhas destacadas no laboratório .....	44
11 Níveis de infecção de <i>M. diffusa</i> em 10 cultivares de soja avaliadas no campo e em folhas destacadas no laboratório .....	44
12 Níveis de infecção de <i>M. diffusa</i> em 10 cultivares de soja avaliadas no campo e em casa de vegetação .....	45
13 Manifestação dos sintomas de oídio em <i>Galinsoga parviflora</i> inoculados com esporos de <i>M. diffusa</i> .....	50
14 Manifestação dos sintomas de oídio em <i>Physalis angulata</i> inoculados com esporos de <i>M. diffusa</i> .....	51
15 Manifestação dos sintomas de oídio em <i>Sonchus oleraceus</i> inoculados com esporos de <i>M. diffusa</i> .....	52
16 Manifestação dos sintomas de oídio em <i>Desmodium adscendens</i> inoculados com esporos de <i>M. diffusa</i> .....	53
17 Manifestação dos sintomas de oídio em <i>Desmodium tortuosum</i> inoculados com esporos de <i>M. diffusa</i> .....	54

## LISTA DE TABELAS

1 Estádio de desenvolvimento de soja .....	16
2 Relação de plantas invasoras submetidas à inoculação de <i>Microsphaera diffusa</i> em Condições de casa de vegetação .....	25
3 Relação de cultivares de inverno submetidas à inoculação de <i>M. diffusa</i> em Condições de casa de vegetação .....	29
4 Influência da superfície da folha inoculada e da concentração de conídios na manifestação de <i>M. diffusa</i> , em folhas destacadas de soja da cultivar FT – Estrela ..	32
5 Influência do estágio de desenvolvimento das folhas destacadas de plantas de soja da cultivar FT – Estrela, na manifestação dos sintomas de <i>M. diffusa</i> .....	34
6 Influência do estágio de desenvolvimento da soja cultivar FT – Estrela, no enraizamento e durabilidade das folhas destacadas .....	35
7 Influência da técnica da inoculação na manifestação dos sintomas de <i>M. diffusa</i> , em folhas destacadas de soja FT – Estrela .....	38
8 Reação da 10 cultivares de soja avaliadas quanto ao nível de infecção ao oídio em diferentes condições de desenvolvimento .....	41
9 Reações de 89 cultivares de soja ao oídio avaliadas pelo Método da Folha Destacada Modificada, em experimentos realizados em duas épocas diferentes .....	47

## RESUMO

O oídio da soja causado por *Microsphaera diffusa* Cooke & Perk tem causado no Brasil perdas esporádicas, que foram da ordem de 40% na safra de 96/97. O perigo potencial representado por esta doença para a cultura da soja justifica estudos que permitam conhecer a epidemiologia do patógeno em nosso País. O Método da Folha Destacada Modificado (MFDM), realizado "in vitro", foi tão eficiente quanto os testes em casa de vegetação e campo, para avaliação da resistência de 10 cultivares de soja. Nestes testes as cultivares FT- 10, FT - 15, IAC - 100 e MG/BR - 46 (Conquista) foram resistentes ao patógeno, BRS 133 e FT - Jatobá, moderadamente resistentes, EMBRAPA 48, suscetível e BR - 16, FT - Estrela e Coodetec - 201, altamente suscetíveis. No MFDM os estádios foliares mais adequados para inoculação foram V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> e V<sub>3</sub> por apresentarem maior vitalidade, sobrevivência e enraizamento. As concentrações de inóculo de 1.5 x 10<sup>7</sup> e 1.5 x 10<sup>8</sup> foram as mais eficientes e como método de inoculação o da pulverização foi superior ao da pipetagem e polvilhamento. De um total de 52 espécies de plantas invasoras inoculadas em casa de vegetação com o patógeno, 3 novos hospedeiros foram observados: *Galinsoga parviflora*, *Physalis angulata* e *Sonchus oleraceus*, além da confirmação de outros, já relatados, em outros países e no Brasil. A frequência de plantas invasoras nos campos de soja, além de representarem uma fonte de inóculo na safra, poderão estar sendo responsáveis pela manutenção do patógeno na entressafra. No decorrer dos experimentos não foi observada a presença da fase sexual do fungo, tanto em condições de laboratório, quando foram manipuladas as condições ambientais, quanto nos levantamentos realizados em plantios comerciais nos Estados do Paraná e Goiás.

## ABSTRACT

The soybean Powdery Mildew caused by *Microsphaera diffusa* Cooke & Perk has been causing sporadic losses in Brazil, estimated around 40% at the 96/97 crop season. The potential risk represented by this disease for the soybean crop justifies studies that allow us to know more about the epidemiology of this pathogen in our country. The Modified Detached Leaf Method (MFDM), carried out "in vitro", was just as efficient as the tests carried out in the greenhouse or at the field to evaluate the resistance of 10 soybean cultivars. In these tests the cultivars FT - 10, FT - 5, IAC - 100 and MG/BR - 46 (Conquista) were resistant to the pathogen, BRS 133 and FT - Jatobá were moderately resistant, EMBRAPA - 48 was susceptible and BR - 16, FT - Estrela and Coodetec 201 were highly susceptible. With the MFDM, the more suitable foliar stages for the inoculation were the V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> and the V<sub>3</sub> due to presenting more vitality, survival and root taking. The inoculum concentration of 1.5 x 10<sup>7</sup> and 1.5 x 10<sup>8</sup> were more efficient and as an inoculation method, the spraying method presented a better performance when compared to the pipeting and the sprinkle method. From a total of 52 species of plants from the weed inoculated at the green house with the pathogen, 3 new hosts were observed: *Galinsoga parviflora*, *Physalis angulata* e *Sonchus oleraceus*, not to mention the confirmation of others already reported in different countries and in Brazil. The frequency of plants from the weed at the soybean crop fields, other than representing an inoculum source in the crop season, may be responsible for the pathogen maintenance between the harvest period. The frequency of plants from the weed at the soybean crop fields, other than representing an inoculum source in the crop season, may be responsible for the pathogen maintenance between the harvest period. During this research the presence of the sexual phase of the fungi was not observed, even in laboratory conditions, when the natural environmental conditions were manipulated, even in the commercial field surveys carried out in Paraná State and Goiás State.

## 1 INTRODUÇÃO

Com base nos dados de 2000/01, o maior produtor de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) no mundo são os Estados Unidos (51,3 %), seguido do Brasil (20,1 %), Argentina (10,4 %), China (9,1 %) e Índia (3,2 %) (EMBRAPA, 2000).

Na última década, o consumo mundial de soja cresceu a uma taxa média anual de 4,76%, igualando-se à taxa de crescimento da produção. Na década de 70, o crescimento da produção e do esmagamento da soja foi tão rápido que colocou o Brasil como o segundo exportador de soja grão e o primeiro exportador mundial de farelo de soja, tendo perdido recentemente essa posição para a Argentina.

O Brasil está na vanguarda mundial da tecnologia de produção de soja nas regiões tropicais. A potencialidade do aumento de produção de soja no mundo está localizada no paralelo 20°S e 20°N. No entanto se for observado o potencial desta faixa no mundo, a possibilidade de expansão produtiva dessa oleaginosa está quase toda no Brasil, em termos topográficos, meteorológicos, tecnológicos e de disponibilidade de terras. Além disso, as terras disponíveis no Brasil permitem a produção de soja em larga escala, tendência mundial na produção de grãos. Considerando a tendência da produção mundial de soja, principalmente sob o aspecto “escala”, dificilmente existirão argumentos convincentes no sentido de frear a expansão dessa oleaginosa no Brasil.

Paralelamente à expansão do cultivo da soja nas diversas regiões do mundo, tem sido relatadas doenças afetando e reduzindo o rendimento da cultura da soja (FERREIRA *et al.*, 1979; SINCLAIR 1979; YORINORI, 1982). As perdas anuais por doenças são estimadas em cerca de 15% a 20%, entretanto, algumas doenças podem ocasionar perdas de quase 100%, individualmente. A importância econômica de cada doença varia de ano para ano e de região para região, dependendo da condição climática de cada safra (EMBRAPA, 2000).

O oídio da soja causado por *Microsphaera diffusa* Cooke. & Peck. era considerada uma doença esporádica e de pouca importância nesta cultura. Porém na safra de 1996/97, atingiu proporções epidêmicas na maioria das regiões produtoras de soja do país, causando perdas no rendimento estimadas em até 40 % (YORINORI, 1997c).

A severidade da doença na safra 1996/97, redundou em pequena disponibilidade de semente de cultivares resistentes e face ao risco de reincidência da doença na safra

1997/98, como medida emergencial, foi recomendado o tratamento químico da parte aérea, com o uso dos seguintes fungicidas: benomyl, carbendazim, difenoconazole, além do enxofre (YORINORI, 1997a). Todavia para o controle efetivo da doença, a longo prazo, o uso de cultivares resistentes ou moderadamente resistentes seria uma medida de controle valiosa em programa de controle integrado deste patógeno. Outra forma de evitar perdas por oídio é não semear cultivares suscetíveis nas épocas mais favoráveis à ocorrência da doença, tais como semeaduras tardias ou safrinha e cultivo sob irrigação no inverno (EMBRAPA, 2000).

Diante da importância da cultura e da severidade do patógeno, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o uso do Método da Folha Destacada para estudar as reações de resistência da soja ao parasita obrigatório *M. diffusa*. Especificamente buscou-se determinar a influência da superfície foliar na manifestação do patógeno em folhas destacadas de soja; definir a melhor concentração, a melhor técnica de inoculação e a melhor idade fenológica de folha de soja, para ser utilizada no Método da Folha Destacada. Além disso, detectar a ocorrência de *M. diffusa* em outras espécies vegetais (hospedeiros alternativos); e determinar a formação dos órgãos de reprodução sexual do patógeno na soja e nas culturas alternativas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O OÍDIO DA SOJA

O oídio da soja foi primeiramente relatado na Carolina do Norte em 1947 por LEHMAN. As plantas doentes podem ter a fotossíntese e a transpiração afetadas, sendo que nos Estados Unidos têm sido registradas perdas de 10 a 25%, em campos severamente atacados (SINCLAIR, 1982). Segundo, DUNLEAVY (1978) e PHILLIPS (1984), as perdas da produção em cultivares de soja suscetíveis, devido à infecção natural do oídio no campo, chegaram em níveis superiores a 35%.

Os relatos na identificação do fungo causador do oídio na soja são informações desencontradas na literatura. Os primeiros relatos desta doença citam *Erysiphe polygoni* DC.; entretanto relatos posteriores identificam como *Microsphaera diffusa* Cooke & Peck como o patógeno JOHNSON e CHAMBERLAIN, 1954; DEMSKI e PHILLIPS, 1974; PAXTON e ROGERS, 1974).

O oídio da soja, causado por *Microsphaera diffusa* Cooke & Peck, caracteriza-se por um crescimento superficial de cor branca ou cinza claro e aspecto pulverulento, constituído pelo micélio denso e conídios do fungo, em toda a parte aérea da planta, incluindo hastes e vagens, porém é mais visível nas folhas (SINCLAIR, 1979; ALMEIDA *et al.*, 1997; YORINORI, 1997a).

O conídio ou o ascósporo do fungo, em contato com a superfície foliar, germina dentro de seis horas após a inoculação e produz uma teia de micélio que se espalha pela superfície da planta. O micélio penetra nas células epidérmicas e, por meio de haustórios intracelulares, nutre-se do conteúdo das células (ALMEIDA *et al.*, 1997; YORINORI, 1997a). Conídios de *M. diffusa* produzem muito mais do que cinco tubos germinativos após a germinação. Apenas o primeiro tubo germinativo forma apressório (MIGNUCCI e CHAMBERLAIN, 1977).

Nas folhas mais velhas e vagens de plantas em final de ciclo são observados, juntamente com as estruturas da fase conidial, os cleistotécios. Os cleistotécios inicialmente são brancos e durante a maturação mudam sequencialmente amarelo, marrom amarelado, marrom e finalmente preto. Os cleistotécios maduros medem 92 a 125  $\mu\text{m}$  de diâmetro e

possuem cerca de vinte apêndices de 124 a 212  $\mu\text{m}$  de comprimento e se ramificam dicotomicamente em 4 a 5 vezes nas extremidades; a primeira ramificação tem ângulos abertos mas, o último um ângulo tão estreito como se fosse subparalelo. Ascas periformes múltiplas contêm mais de 6 ascósporos levemente amarelados ovalados que medem 9 x 18  $\mu\text{m}$  (PAXTON e ROGERS, 1974; DEMSKI e PHILLIPS, 1974; McLAUGHLIN *et al.*, 1976).

A fotomicrografia pelo microscópio eletrônico de varredura confirmou a textura reticulada das paredes do cleistotécio e mostrou que os cleistotécios são hemiféricos com um anel de apêndices que nasce basalmente e se estende radialmente paralelo à superfície foliar (McLAUGHLIN *et al.*, 1976). Segundo GRAU e LAWRENCE (1975) os cleistotécios não foram observados sobre plantas de soja infectadas no campo, mas foram encontrados uma ocasião na casa de vegetação em Illinois, no inverno de 1972.

O estágio assexual deste fungo desempenha um importante papel no ciclo da doença. YARWOOD (1973) identificou o oídio sobre características morfológicas do estágio assexual, tal como, padrão de forma e germinação do conídio, formato do conidióforo, presença ou ausência dos corpos de fibrosina e outros. Isto poderia ser particularmente útil quando cleistotécios não estão presentes e quando mais do que uma espécie de oídio necessitam ser relatados.

Na descrição dos estágios assexuais de *M. diffusa*, as SEM realizadas por McLAUGHLIN *et al.* (1976) e os relatos descritos nos trabalhos de YARWOOD (1973), representam uma tentativa para prover informações adicionais que podem auxiliar na identificação deste patógeno na ausência do cleistotécio.

Parece ter havido uma confusão na literatura, a respeito dos primeiros relatos de identificação do fungo causador do oídio na soja. Esta doença inicialmente era citada como *Erysiphe polygoni* DC, diante da dificuldade em se observar a formação de cleistotécios. No entanto, evidências na formação de suas estruturas fúngicas, permitiram classificá-lo como *M. diffusa*. (PAXTON e ROGERS, 1974), sendo esta última classificação adotada por vários autores (LEHMAN, 1974; DEMSKI e PHILLIPS, 1974; McLAUGHLIN *et al.*, 1976; DUNLEAVY, 1976; SINCLAIR, 1982; YORINORI, 1982; JOHNSON e JONES, 1961).

As reações de numerosas variedades de soja, à esta doença tem sido relatada por vários autores (DEMSKI e PHILLIPS, 1974; ARNY, *et al.*, 1975; BUZZELL e HASS, 1975; GRAU e LAURENCE, 1975; MIGNUCCI, 1975; JOHNSON e JONES, 1961; YORINORI, 1997a,b,c).

O oídio tem sido, algumas vezes, uma doença séria de casa de vegetação, e a *M. diffusa* é talvez o único patógeno da folha da soja que pode ser disseminado e infectar

plantas em condições de casa de vegetação. Outros patógenos foliares de soja exigem água livre para a sua infecção (LOHNE e BERNARD, 1992).

A seleção de cultivares de soja para resistência a *M. diffusa* poderia ser realizada na casa de vegetação dado que as plantas são continuamente expostas aos conídios iniciando no estágio de plântula até próximo ao florescimento quando a expressão da resistência da planta adulta torna-se aparente (MIGNUCCI e LIM, 1980). A severidade da doença em uma mesma cultivar tem sido menor em campo do que em casa de vegetação, a qual apresenta condições ambientais consideradas mais favoráveis ao seu desenvolvimento (DEMISKI e PHILLIPS, 1974; PAXTON e ROGERS, 1974; DUNLEAVY, 1977; MIGNUCCI, *et al.*, 1977).

Segundo DEMISKI e PHILLIPS (1974) havia concordância entre a reação das cultivares na casa de vegetação e no campo. A diferença principal entre estes dois sistemas de avaliação era que as reações das cultivares que pareciam ser imunes no campo eram medianamente suscetíveis na casa de vegetação, apresentando pintas foliares cloróticas sobre a página superior da folha, mas eram parcialmente necróticas sobre a página inferior. Os exames destas lesões ao microscópio revelaram um micélio esparsos com poucos conídios. Os cleistotécios não foram observados sobre estas cultivares. As cultivares que eram suscetíveis no campo foram altamente suscetíveis na casa de vegetação, apresentando micélio recobrimdo as folhas e ocasionalmente atacaram as hastes e vagens. Ambos os estágios perfeito e imperfeito desenvolveram-se sobre as folhas dessas cultivares.

GRAU e LAURENCE (1975) durante os trabalhos realizados com trinta e seis cultivares de soja avaliados para resistência à *M. diffusa* nos testes de casa de vegetação, observaram que as reações à doença de algumas cultivares diferiram para os três isolados utilizados, o que sugere a existência de raças patogênicas.

Os sintomas apresentados pelo oídio podem variar de clorose foliar, pintas verdes, manchas ferruginosas, sob o micélio do fungo, podendo causar desfolha ocasional ou acentuada ou combinações desses sintomas, dependendo da reação das cultivares e em certos casos o desenvolvimento abundante do fungo pode ocorrer sem causar outros sintomas secundários visíveis no hospedeiro, MIGNUCCI e CHAMBERLAIN (1977), MIGNUCCI e BOYER (1979) e (YORINORI, 1997a,c).

Segundo, MIGNUCCI e LIM (1980), o patógeno e o desenvolvimento dos sintomas da doença pareceu ser afetado pela cultivar; idade e posição da folha; e a idade da planta na hora da inoculação.

Além desses, os fatores ambientais influenciaram a doença prevalecente, a severidade e a formação de cleistotécio (GRAU e LAURENCE, 1975). A temperatura influencia a taxa do desenvolvimento da *M. diffusa* sobre as cultivares de soja. MIGNUCCI *et al.* (1977) relataram que o oídio se desenvolveu abundantemente na temperatura de 18 e 24 °C, mas foi menor a 30 °C em cultivares suscetíveis (Corsoy, Harosoy e Wells). As cultivares resistentes (Flambeau, Norchief e Chippewa 64) não diferiram significativamente em suas reações de resistência nas três temperaturas estudadas.

As reações das cultivares de soja à inoculação com *M. diffusa* variaram de altamente suscetível a altamente resistente (DEMSKI e PHILLIPS, 1974; ARNY *et al.*, 1975; GRAU e LAURENCE, 1975; McLAUGHLIN *et al.*, 1976; MIGNUCCI e CHAMBERLAIN, 1977; DUNLEAVY, 1977; MIGNUCCI *et al.*, 1977; MIGNUCCI e BOYER, 1979). Algumas cultivares de soja são resistentes no campo, mas são altamente suscetíveis quando cultivadas na casa de vegetação, e algumas parecem ser imunes no campo mas exibem média suscetibilidade na casa de vegetação (DEMSKI e PHILLIPS, 1974; GRAU e LAURENCE, 1975; DUNLEAVY, 1977).

As cultivares de soja que sustentam baixas populações do patógeno no estágio de plântula, mas detêm o desenvolvimento do patógeno até os estádios mais tardios, são tão valiosas quanto as cultivares que são resistentes em todos os estádios de desenvolvimento, especialmente em áreas onde o fungo chega tardiamente no campo (MIGNUCCI e LIM, 1980). Nenhum relato sobre a herança da resistência ao oídio por todo o ciclo da cultura foi encontrado (LOHNE e BERNARD, 1992).

A reação da soja ao oídio é controlada por três pares de alelos localizados no locus *Rmd*: *Rmd-c*, que confere resistência por toda a vida da planta (LOHNES e BERNARD, 1992); *Rmd* que confere resistência nos estádios de planta adulta (MIGNUCCI e LIM, 1980); e *rmd* que condiciona a suscetibilidade (BUZZELL e HAAS, 1978). A resistência do estágio de plântula foi observado em casa de vegetação em diversas cultivares de soja e estes cultivares foram resistentes no campo com inoculação natural e artificial. As proporções de segregação no F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub> na casa de vegetação e no campo mostram que esta resistência é derivada da cultivar CNS, é controlada por um único alelo, simbolizado de *Rmd-c*, qual é alélico à *Rmd rmd* (BUZZELL e HASS, 1978; BUSS *et al.*, 1988; LOHNES e BERNARD, 1992; LOHNES e NICKELL, 1994).

No Brasil, relatos de trabalhos com oídio na soja discriminando as reações de suscetibilidade e resistência na casa de vegetação e/ou sob incidência natural a campo, foram relatados por TANAKA *et al.* (1993 e 1997); REIS, *et al.* (1997); YORINORI (1997a,b,c); EMBRAPA (1999) e EMBRAPA (2000).

## 2.2 O MÉTODO DE FOLHAS DESTACADAS

A utilização do método de folhas destacadas em estudos com agentes de doenças em plantas é descrita em trabalhos realizados há mais de meio século. Este método apresenta a possibilidade de infectar folhas destacadas e manter estas folhas e parasitas inoculados sobre as mesmas, em condições vigorosas por um determinado período de tempo (CLINTON e McCORMICK, 1924).

YARWOOD (1946) publicou uma extensa revisão de literatura sobre a cultura de folhas destacadas, incluindo aplicações em estudos sobre a suscetibilidade de hospedeiros e a virulência de patógenos. As vantagens de se utilizar esta técnica, segundo este autor, são: economia de espaço e material do hospedeiro, quando se deseja testar coleções de variedades; economia de inóculo dos patógenos a serem estudados; facilidade e exatidão das observações; menor risco de contaminações; uniformidade da unidade experimental; facilidade de controle e manipulação dos ambientes; possibilidade de manter as folhas destacadas, em alguns casos, por um período mais longo que a vida normal de folhas ligadas às plantas; as folhas destacadas apresentam a maioria das funções de folhas ligadas normais, incluindo transpiração, respiração, fotossíntese e síntese de proteínas.

Esta técnica tem sido empregada em muitos estudos envolvendo relações patógeno-hospedeiro com parasitas obrigados, especialmente as ferrugens, utilizando folhas ou pedaços de folhas de gramíneas (milho, trigo e outros cereais) flutuando em água ou soluções de sacarose, tanto com quanto sem benzimidazole ou cinetina (CLINTON e McCORMICK, 1924; SILVERMAN, 1957; BROWDER, 1964; HOOKER e YARWOOD, 1966; WILCOXSON *et al.*, 1974).

Segundo MIGNUCCI (1978) estes métodos devem ser úteis também para manter e aumentar as populações de nematóides, para estudo do heterotalismo em parasitas obrigatórios, ou para manutenção de isolados ou raças de parasitas obrigatórios (tais como ferrugens, míldios e oídios) para pesquisa fisiológica e fitopatológica.

Esta técnica também tem sido utilizada em experimentos com leguminosas. ROBERTS (1956) utilizou a técnica de folhas destacadas para testar plantas leguminosas forrageiras, quanto à resistência a doenças foliares causadas por *Ascochyta imperfecta* em alfafa, *Stemphylium sarcinaeforme* e *Stemphylium lote* em trevos. Segundo WARD (1959), a técnica de folhas destacadas mostrou ser um método seguro, também, para a avaliação de alfafa à doença causada por *Phoma herbarum*, não diferindo significativamente dos resultados obtidos através de inoculações no campo ou em casa de vegetação; uma

solução de 2,0 % de sacarose não esterilizada, como no trabalho de ROBERTS (1956), mostrou ser a mais satisfatória para as folhas de alfafa.

A técnica de folhas destacadas de plantas de amendoim foi utilizada por RIBEIRO *et al.* (1976) para a realização de testes de patogenicidade com isolados de *Cercospora arachidicola*, *Cercospora personata* e *Puccinia arachidis*. Esta técnica foi também utilizada por MISRA e MISRA (1976) e SUBRAHMANYAM *et al.* (1980) para testar a reação varietal à ferrugem causada por *Puccinia arachidis*.

REIS e KIMATI (1974) verificaram que folhas destacadas de soja, cultivadas em placas de Petri, emitiram raízes no pecíolo e permaneceram vivas por um período superior a setenta dias; assim, permitiram o aparecimento de sintomas locais em inoculações com *Septoria glycines* e *Cercospora sojina* e a formação de nódulos nas raízes nas inoculações com *Bradyrhizobium japonicum*. MIGNUCCI (1978) verificou que cerca de 90 % de folhas unifoliadas e trifoliadas de soja da cv. Harosoy produziram raízes adventíceas, mas não brotos, quando flutuadas em água; as folhas enraizadas foram mantidas por três meses em filme de água deionizada esterilizada ou por nove meses em areia ou solo autoclavado; as folhas enraizadas que foram inoculadas com conídios de *M. diffusa* suportaram crescimento luxuriante do fungo e permaneceram vivas por mais de sete meses. MIGNUCCI (1978) sugeriu o uso de culturas de folhas de soja enraizadas em solo esterilizado para a manutenção ou estudo durante longos períodos, de parasitas obrigados e outros organismos associados com folhas ou raízes.

O apodrecimento e a senescência relativamente rápida dos tecidos das folhas destacadas de várias espécies vegetais têm sido considerados como os fatores mais limitantes para estudos que requerem períodos de tempo mais longos (CLINTON e McCORMICK, 1924; YARWOOD, 1946).

A viabilidade de folhas destacadas é prolongada, em alguns casos, quando calos de tecidos são formados ou, em outros casos, quando ocorre o enraizamento (YARWOOD, 1946). Esta correlação entre o enraizamento e a durabilidade das folhas foi observada por HOOKER e YARWOOD (1966) com folhas de *Oxalis corniculata*; por REIS e KIMATI (1974) e MIGNUCCI (1978) com folhas de soja e, por RIBEIRO *et al.* (1976) e MORAES (1981) com folhas de amendoim.

Segundo NSUMBU e BOUHARMONT (1977), a diferenciação de meristemas radiculares ou apicais depende de um equilíbrio hormonal extremamente preciso. Esta é, provavelmente, a explicação para a falta de enraizamento em determinados trabalhos com folhas destacadas, por conseguinte, a maior dificuldade encontrada na manutenção das mesmas em boas condições, por períodos de tempo mais longos.

## 2.3 HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS

*Microsphaera diffusa* foi identificada em seu estágio de cleistotécio sobre a lespedeza na Coréia por JOHNSON, *et al.* (1940), sobre a soja por LEHMAN (1974), e sobre o tremoço azul por THOMPSON (1951). Parece provável, que o primeiro relato de oídio sobre *Psoralea tenax* nos EUA, por JOHNSON e JONES (1961), seja *M. diffusa*.

Este fungo tem sido relatado também sobre diversos gêneros de *Leguminosae* (MIGNUCCI, 1975; UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1960), em 4 espécies de *Caprifoliaceae* (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1960), e sobre uma espécie de *Solanaceae* (ELLET, 1966).

Este patógeno, quando testado sobre diversos membros de *Leguminosae*, mostraram menor especificidade do que a esperada. MIGNUCCI e CHAMBERLAIN (1977) testaram a *M. diffusa* sobre diversos membros de *Leguminosae* e observaram que apenas 3 dos 11 generos (*Lotus*, *Melilotus* e *Trifolium*) mostraram imunidade completa à *M. diffusa* e que seis das onze espécies testadas mostraram 100% de suscetibilidade a este fungo (*Cyamopsis tetragonaloba*, *Glycine falcata*, *Lespedeza striata*, *Phaseolus vulgares* cv. “Wonder-Wax-Pale”, *Pisum sativum* cv. “Burpee”, *Vigna unguiculata* cv. “Black cowpea”). Por outro lado, foram observados diferentes graus de infecção sobre os membros do mesmo gênero, mas também entre cultivares da mesma espécie. Dentre estas, quatro espécies testadas mostraram 75% de suscetibilidade a este fungo (*Lespedeza stipulacea*, *Phaseolus vulgaris* cv. “Bush Bountiful”, *Phaseolus vulgaris* cv. “Pale Ky wonder”, *Vigna unguiculata* cv. “Prima”). Por outro lado, uma espécie de soja selvagem, uma espécie de *Lespedeza* spp., e uma cultivar de *Phaseolus vulgaris*, e duas cultivares de *Vigna* foram imunes ao fungo.

BURRILL e EARLE (1987) também relataram que *M. diffusa* ocorre sobre três espécies identificadas de *Desmodium* spp. duas de *Lespedeza* spp. e *Phaseolus perennis* em Illinois.

Relatos sobre a ocorrência de *M. diffusa* sobre diversos hospedeiros alternativos, encontrados nos campos de cultivo da soja em outros países e a possibilidade de que uma ou mais destas ou outras espécies de plantas possam abrigar este patógeno, servindo como fonte de inóculo durante as fase de desenvolvimento da cultivar, e/ou possam estar envolvidos com o fungo da estação anterior (inverno), justificam o monitoramento deste patógeno em plantas da vegetação espontânea em nosso país.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no laboratório da Universidade Estadual de Ponta Grossa-PR, no laboratório e na casa de vegetação da empresa F.T. – Pesquisa e Sementes de Ponta Grossa e casa de vegetação da empresa Monsoy Ltda de Ponta Grossa e Morrinho-MS no período compreendido entre 1998 e 2001.

#### 3.1 ISOLADO: ORIGEM E PRESERVAÇÃO

O patógeno *M. diffusa* utilizado neste experimento apresentou as características semelhantes às descritas por PAXTON e ROGERS (1974) e foi obtido de folhas da cultivar de soja FT – Estrela, na Empresa F.T. – Pesquisa e Sementes de Ponta Grossa no ano agrícola 1997/98 e mantido em casa de vegetação.

A preservação de *M. diffusa*, durante toda a fase de execução do ensaio, foi na cultivar FT – Estrela, altamente suscetível ao patógeno. Para garantir a quantidade necessária de inóculo foram realizados plantios escalonados da cultivar FT - Estrela, que foram inoculadas com suspensão de conídios do patógeno, de forma a ter a cultura em casa de vegetação, durante o ano todo e conseqüentemente garantir a presença do fungo em questão.

Esta cultivar foi plantada em sacos de plástico, com 30 cm x 40 cm, contendo um substrato composto de três partes de terra e uma parte de esterco. Na época da semeadura as sementes de soja foram tratadas com a mistura Vitavax (Carboxin) + Thiram 200SC (Thiram), baseado nas recomendações técnicas para a cultura da soja (EMBRAPA, 2000). Quando se fez necessário controlou-se a ocorrência de trips e ácaros, com o objetivo de evitar a conseqüente deformação das folhas, com o uso de endossulfan.

### 3.2 OBTENÇÃO E PREPARO DO INÓCULO

As suspensões de conídios de *M. diffusa* utilizadas em todos os experimentos de inoculação de folhas destacadas de soja, foram sempre obtidas a partir de folhas da cultivar FT – Estrela, cultivada em casa de vegetação da empresa F.T. – Pesquisa e Sementes de Ponta Grossa.

Para conseguir maior liberação dos conídios, foi realizada uma raspagem do crescimento fúngico com um pincel de pelos macios umedecido em água esterilizada repetindo-se o processo várias vezes. A suspensão assim conseguida foi filtrada através de uma camada dupla de gaze, a fim de que fossem eliminados fragmentos de folha e de micélio.

A padronização da suspensão de conídios foi obtida contando-se o número de conídios com o auxílio do hemacitômetro, do tipo Neubauer, após o que ajustava-se para as concentrações desejadas. À suspensão assim obtida, adicionou-se Tween 80 na proporção de 1 gota para cada 100 ml de suspensão de conídios a ser usada como inóculo (ROTH e SCHAFFER, 1968).

### 3.3 INOCULAÇÃO E INCUBAÇÃO DAS FOLHAS DESTACADAS DE SOJA

As folhas destacadas utilizadas em todos os experimentos foram obtidas de plantas jovens e sadias, cultivadas em casa de vegetação da empresa Monsoy Ltda de Ponta Grossa, através de semeadura em vasos. Para assegurar um fornecimento constante de folhas sadias nos estádios vegetativos, o plantio das cultivares de soja era renovado, em função da época de realização dos experimentos.

As folhas necessárias para a instalação de cada experimento foram retiradas dessas plantas destacando-se o pecíolo junto às hastes, sendo imediatamente levadas ao laboratório para o devido acondicionamento.

De acordo com os resultados obtidos por REIS e KIMATI (1974), o acondicionamento das folhas de soja foi realizado em placa de Petri de 100 mm de diâmetro por 20 mm de altura (uma folha de soja por placa), contendo uma fina camada de algodão e um papel de filtro umedecidos com água esterilizada. Antes da folha ser colocada na placa, seu pecíolo, imerso em água esterilizada, foi cortado com tesoura desinfestada e sua extremidade foi envolvida com algodão umedecido. Com este procedimento as folhas destacadas estavam prontas para serem inoculadas.

Após alguns experimentos preliminares realizados, esta técnica foi modificada substituindo-se a camada de algodão por quatro folhas de papel de filtro umedecidos com 25 ml de água esterilizada por placa, de modo a garantir alta umidade relativa no interior da placa. O algodão umedecido com água esterilizada, utilizado nas extremidade do pecíolo foi envolvido com movimentos suaves, procurando evitar a compactação desta região, para facilitar o enraizamento das folhas. Sob cada folha destacada foram colocadas duas lâminas de vidro, a fim de evitar o contato direto da mesma com o papel de filtro, de forma a evitar o seu encharcamento e apodrecimento.

Com estes procedimentos, denominado de método da folha destacada modificada (MFDM), obteve-se o material para ser inoculado artificialmente.

Em seguida à inoculação de conídios de *M. diffusa*, as placas foram fechadas, recebendo uma película plástica transparente de PVC vedando a tampa a fim de manter uma alta umidade relativa no seu interior (necessária durante o período inicial de infecção, segundo experimentos preliminares realizados). Este plástico foi retirado cerca de 72 horas após a inoculação, permanecendo as placas fechadas até a época de avaliação dos sintomas, para evitar o secamento do papel de filtro e algodão e, conseqüentemente, o murchamento das folhas.

Em todos os experimentos realizados, as placas de Petri contendo as folhas destacadas permaneceram, durante todo o período de incubação, em câmara BOD, sob temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 14 horas.

### 3.4 AVALIAÇÃO DOS SINTOMAS

A avaliação dos sintomas causados pelo fungo *M. diffusa* foi realizado após 17 dias de incubação, baseada na quantificação visual do nível de infecção (NI) da área foliar infectada, conforme escala (YORINORI, 1997b,c):

- NI = 0 → sem sintoma ou sinal visível;
- NI = 1 → traços a 10% da área foliar infectada;
- NI = 2 → 11% a 25% da área foliar infectada;
- NI = 3 → 26% a 50% da área foliar infectada;
- NI = 4 → 51% a 75% da área foliar infectada;
- NI = 5 → maior 76% da área foliar infectada.

A discriminação da reação das cultivares de soja (Figura 1 e 2) foi baseada no seguinte critério: R = Resistente → NI = 0 a 2

MR = Moderadamente Resistente → NI = 2 a 3

S = Suscetível → NI = 3 a 4

AS = Altamente Suscetível → NI > 4



Figura 1 – Reação de cultivares de soja em folha destacada: altamente suscetível (esquerda) e suscetível (direita)



Figura 2 – Reação de cultivares de soja em folha destacada: moderadamente resistente (esquerda) e resistente (direita)

### 3.5 EXPERIMENTOS

#### 3.5.1 Influência da superfície foliar e da concentração de conídios na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*, em folhas destacadas de soja

O experimento para se testar qual a melhor concentração de conídios na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*, foi realizado em 1997 e repetido em 1998, para confirmação dos dados.

Para a inoculação foram utilizadas suspensões de conídios de *M. diffusa*, quantificada com auxílio do hemacitômetro, obtendo as concentrações de  $1,5 \times 10^4$ ;  $1,5 \times 10^5$ ;  $1,5 \times 10^6$ ;  $1,5 \times 10^7$  e  $1,5 \times 10^8$  conídios por mililitro, acrescido de gotas de Tween 80. A inoculação da superfície foliar foi feita com um atomizador Devilbiss, distribuindo-se cerca de 0,5 ml de inoculo por folha.

No segundo experimento realizado em 1998, foram avaliadas as cinco diferentes concentrações de inoculo versus local de inoculação da superfície foliar. Com este objetivo, cada concentração de conídios foi inoculada na posição abaxial e na posição adaxial, em folhas destacadas.

As folhas destacadas da cultivar FT – Estrela utilizadas como testemunha não receberam a suspensão de conídios. Elas foram inoculadas com água destilada, com o mesmo processo que as demais.

As placas inoculadas foram fechadas e vedadas com uma película plástica transparente de PVC e incubadas em câmara BOD, sob temperatura média de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 14 horas. Decorridas 72 horas, foram retiradas as películas plásticas e as placas recolocadas na câmara BOD, até o momento da avaliação.

O delineamento deste experimento foi inteiramente casualizado, com seis repetições, sendo cada parcela constituída por uma folha destacada cultivar FT – Estrela e acondicionadas em placa de Petri, conforme o método da folha destacada modificada.

A avaliação dos sintomas foi realizada 17 dias após a inoculação, através da quantificação visual do nível de infecção da área foliar infectada (Yorinori, 1997b,c).

### 3.5.2 Influência do estágio de desenvolvimento das folhas destacadas de plantas de soja na sua duração e manifestação dos sintomas de *M. diffusa*

Com o objetivo de se determinar em que idade fenológica a folha de soja apresenta a maior suscetibilidade a *M. diffusa*, para ser utilizada no Método da Folha Destacada Modificada foram utilizados os seguintes estádios foliares (Tabela 1): unifoliada ( $V_1$ ), 1ª trifoliada ( $V_2$ ), 2ª trifoliada ( $V_3$ ), 3ª trifoliada ( $V_4$ ) e 4ª trifoliada ( $V_5$ ), todas da cultivar FT – Estrela (Figuras 3, 4, 5 e 6).

Tabela 1 - ESTÁDIO DE DESENVOLVIMENTO DA SOJA

ESTÁDIO	DESCRIÇÃO
<b>I. Fase Vegetativa</b>	
V <sub>C</sub> .	Da emergência a cotilédones abertos
V <sub>1</sub> .	Primeiro nó: folhas unifoliadas abertas
V <sub>2</sub> .	Segundo nó: primeiro trifólio aberto
V <sub>3</sub> .	Terceiro nó: segundo trifólio aberto
.	.
V <sub>n</sub> .	Enésimo (último) nó com trifólio aberto, antes da floração
<b>II. Fase reprodutiva (observação na haste principal)</b>	
R <sub>1</sub> .	Início da floração: até 50% das plantas com uma flor
R <sub>2</sub> .	Floração plena: maioria dos racemos com flores abertas
R <sub>3</sub> .	Final da floração: vagens com até 1,5 cm de comprimento
R <sub>4</sub> .	Maioria das vagens no terço superior com 2 - 4 cm, sem grãos perceptíveis
R <sub>5.1</sub> .	Grãos perceptíveis ao tato a 10% de enchimento da vagem
R <sub>5.2</sub> .	Maioria das vagens com 10% - 25% de enchimento
R <sub>5.3</sub> .	Maioria das vagens entre 25% e 50% de enchimento
R <sub>5.4</sub> .	Maioria das vagens entre 50% e 75% de enchimento
R <sub>5.5</sub> .	Maioria das vagens entre 75% e 100% de enchimento
R <sub>6</sub> .	Vagens com enchimento pleno (100%) e folhas verdes
R <sub>7.1</sub> .	Início a 50% de amarelecimento de folhas e vagens
R <sub>7.2</sub> .	Entre 51% e 75% de folhas e vagens amarelas
R <sub>7.3</sub> .	Mais de 75% de folhas e vagens amarelas
R <sub>8.1</sub> .	Início a 50% de desfolha
R <sub>8.2</sub> .	Mais de 50% de desfolha à pré-colheita
R <sub>9</sub> .	Ponto de maturação de colheita

Fonte: Adaptado de Ritchie *et al.* (1982).

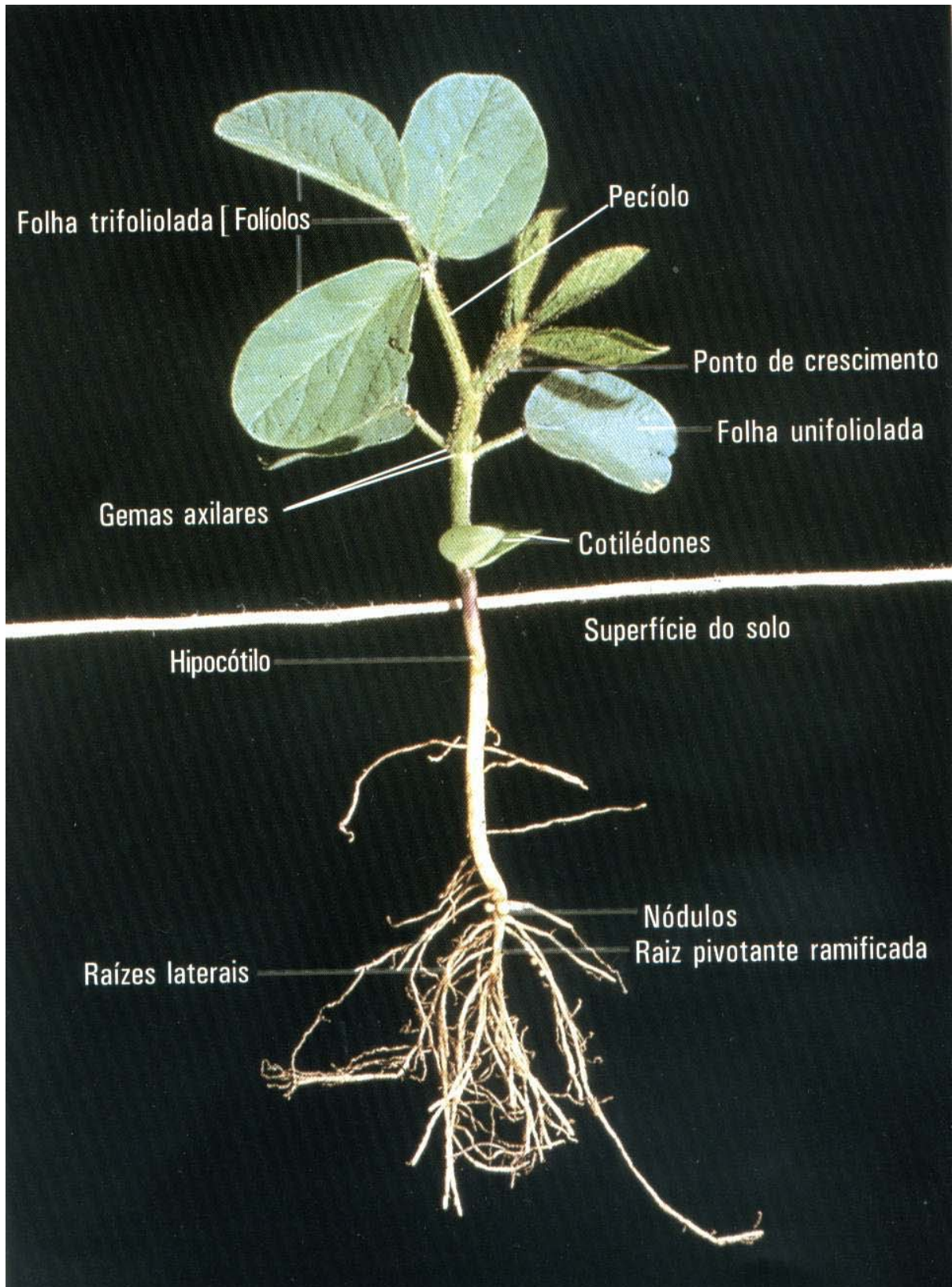


Figura 3 – Plântula de soja com folha unifoliada e 1º trifólio completamente desenvolvido (estádio V<sub>2</sub>)



Figura 4 – Plântula de soja com 2º trifólio completamente desenvolvido (estádio V<sub>3</sub>)



Figura 5 – Plântula de soja com 3º trifólio completamente desenvolvido (estádio V<sub>4</sub>)



Figura 6 – Plântula de soja com 4º trifólio completamente desenvolvido (estádio V<sub>5</sub>)

Para a instalação deste experimento, foram semeadas cinco sementes/vaso da cultivar FT – Estrela, em plantio escalonado de 5 em 5 dias, de forma que no dia da coleta e instalação do experimento se pudesse ter a cultura em diversos estádios de desenvolvimento.

As folhas assim coletadas foram acondicionadas em placa de Petri, conforme o método do plaqueamento das folhas destacadas.

A inoculação foi feita com suspensões de conídios de *M. diffusa* padronizada com auxílio do hemacitômetro na concentração de  $1,5 \times 10^7$  conídios por mililitro, acrescido de gotas de Tween 80.

A avaliação foi realizada após 17 dias de incubação na câmara BOD, à temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e 14 horas de fotoperíodo, baseado na quantificação visual do nível de infecção (NI) da área foliar infectada, conforme escala já descrita.

Para a avaliação da duração e enraizamento das folhas inoculadas e sem inoculação foi realizado um acompanhamento semanal por 30 dias.

O delineamento deste experimento foi inteiramente casualizado, com seis repetições. Cada parcela constou de um folíolo acondicionado em uma placa de Petri, totalizando 30 placas por experimento. Este experimento foi conduzido durante os meses de janeiro a abril de 1998, sendo repetido duas vezes.

No segundo experimento realizado foram incubadas mais 6 folhas de cada idade fisiológica não inoculadas, totalizando 60 placas incubadas, com a finalidade de se observar a duração e o enraizamento das folhas.

### 3.5.3 Influência da técnica de inoculação na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*, em folhas destacadas de soja

Foram utilizados os primeiros trifólios (estádios V<sub>2</sub> e V<sub>3</sub>) desenvolvidos de plantas da cultivar FT – Estrela e o acondicionamento das folhas foi realizado conforme o método da folha destacada modificada, dispostas com a face adaxial voltada para cima.

A inoculação foi feita com suspensões de conídios de *M. diffusa* padronizada com auxílio do hemacitômetro na concentração de  $1,5 \times 10^7$  conídios por mililitro, acrescido de gotas de Tween 80.

Foram testadas quatro técnicas de inoculação das folhas destacadas de soja: pulverização de cerca de 0,5 ml da suspensão de conídios por folha com o auxílio de um atomizador Devilbiss; gotejamento de 0,5 ml da suspensão de conídios por folha com o auxílio de micropipetas, tomando-se o cuidado para evitar o escorrimento do inóculo; pincelamento de cerca de 0,5 ml da suspensão de conídios sobre toda a superfície da folha, com o auxílio de um pincel de pelos macios e polvilhamento dos conídios do fungo sobre toda a superfície da folha destacada, através de agitação de folhas infectadas de soja com bastante desenvolvimento do oídio, procurando-se efetuar a deposição dos conídios por toda a folha.

As folhas inoculadas permaneceram durante todo o período de incubação em câmara BOD, sob temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 14 horas.

As folhas destacadas da cultivar FT – Estrela utilizadas como testemunha foram inoculadas apenas com água destilada, com o mesmo processo que as demais.

A avaliação dos sintomas foi realizada 17 dias após a inoculação, através da quantificação visual do nível de infecção da área foliar infectada (Yorinori, 1997b,c).

O presente experimento foi realizado nos anos 1998 e 1999, testando-se duas técnicas de inoculação: pulverização e gotejamento da suspensão de conídios. Em 2000/01, o mesmo experimento foi repetido, acrescentando-se mais duas técnicas de inoculação: pincelamento e polvilhamento dos conídios do fungo.

O delineamento deste experimento foi inteiramente casualizado, com seis repetições, sendo cada parcela constituída por uma folha destacada.

### 3.5.4 Influência da temperatura, umidade relativa e fotoperíodo na ocorrência da fase perfeita do fungo *M. diffusa*

Na tentativa de estimular o fungo *M. diffusa* a desenvolver as estruturas da fase perfeita em folhas de soja, foram realizados vários experimentos, alterando-se apenas uma das condições ambientais, tais como: temperatura, fotoperíodo ou umidade relativa, durante a fase de incubação e mantendo as demais inalteradas.

Estes testes foram realizados no período de 1998/99 e repetido em 1999/00, com o objetivo de se confirmar os resultados. Para a instalação do experimento foram realizadas semeaduras escalonadas da cultivar FT - Estrela em casa de vegetação, para obtenção de folhas de soja.

A metodologia empregada foi o Método da Folha Destacada Modificada, com a utilização do 1º trifólio e 2º trifólio, as quais foram acondicionadas em placa de Petri.

A inoculação foi feita por pulverização de conídios na concentração de  $1,5 \times 10^7$  conídios por mililitro, acrescido de gotas de Tween 80.

Todas as placas foram mantidas em câmara BOD, por 17 dias, sob temperatura  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 14 horas e após a manifestação de sintomas, as placas foram submetidas a diferentes variações na temperatura, fotoperíodo e umidade relativa.

Para cada variação de temperatura, fotoperíodo ou umidade relativa testada foram incubadas três placas, caracterizando três repetições.

Para a verificação do efeito da temperatura no desenvolvimento da fase perfeita do fungo *M. diffusa*, o experimento foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa foram utilizadas 3 câmaras BOD, reguladas nas temperaturas de  $5^\circ\text{C}$ ,  $10^\circ\text{C}$  e  $15^\circ\text{C}$  e na segunda etapa foram reguladas nas temperaturas de  $25^\circ\text{C}$ ,  $30^\circ\text{C}$  e  $35^\circ\text{C}$ , ambas com fotoperíodo de 14 horas.

Para a observação do efeito do fotoperíodo, no desenvolvimento e formação dos cleistotécios do fungo *M. diffusa*, foram utilizados 3 câmaras de BOD, reguladas na temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , variando apenas o fotoperíodo para 12 horas, 10 horas e 8 horas.

A redução da umidade relativa testada para verificação da fase perfeita do fungo *M. diffusa*, foi obtida incubando-se as placas com folha destacada em dessecador com 200 g de sílica-gel, previamente desidratadas em estufa à temperatura de  $160^\circ\text{C}$  por 24 horas. Todo este material foi colocado na câmara BOD à temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 14 horas .

As folhas de soja submetidas aos diferentes tratamentos de temperatura, fotoperíodo e umidade relativa foram avaliados com o auxílio da microscopia.

Durante o período de realização do trabalho, foram efetuadas observações das estruturas fúngicas em população de soja FT - Estrela altamente infectada dentro de casa de vegetação e ao nível de campo em várias regiões dos Campos Gerais e na região de Morrinhos-MS. Este acompanhamento foi realizado nos períodos normais de cultivo da soja, bem como no período de outono/inverno em plantas de soja espontâneas e plantas invasoras, para verificar a possibilidade de se detectar a formação da fase perfeita do fungo *M. diffusa*.

### 3.5.5 Comparação de reação de cultivares de soja inoculadas com *M. diffusa* pelo Método da Folha Destacada Modificada e em plantas semeadas na casa de vegetação e campo

Com o objetivo de comparar os níveis de infecção das cultivares de soja ao fungo *M. diffusa* semeadas na casa de vegetação, no campo e no laboratório pelo Método da Folha Destacada Modificada, foi realizado um experimento utilizando-se dez cultivares: BR - 16, BRS 133, COODETEC - 201, EMBRAPA 48, FT - 5, FT - 10, FT - Estrela, FT - Jatobá, IAC - 100 e MG/BR - 46 (CONQUISTA).

Para a avaliação destas cultivares quanto ao nível de infecção de *M. diffusa* pelo Método da Folha Destacada Modificada e seu cultivo em casa de vegetação foram utilizados delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. Neste experimento, todas as cultivares foram inoculadas no estádio entre  $V_2$  e  $V_3$ , através de pulverização com suspensão de conídio na concentração  $1,5 \times 10^7$  conídios/ml, acrescido de gotas de Tween 80.

Os sintomas foram avaliados 17 dias após a inoculação, através da quantificação visual do nível de infecção da área foliar infectada, tanto para o Método da Folha Destacada Modificada, quanto para o cultivo em casa de vegetação.

Para a avaliação no campo foi utilizado o delineamento em blocos casualizados, com 4 repetições, onde cada parcela foi constituída de duas linhas de 2,0 metros de comprimento, entremeadas por linhas da cultivar FT – Estrela, para garantir a fonte de inoculo do fungo até o momento da avaliação. Este experimento foi semeado em Ponta Grossa, na área experimental da empresa Monsoy Ltda em 20 de outubro de 2000.

Todas as cultivares semeadas no campo no estádio entre  $V_2$  e  $V_3$ , foram inoculadas através de pulverização com suspensão de conídios na concentração  $1,5 \times 10^7$  conídios/ml, acrescido de gotas de Tween 80.

A avaliação dos sintomas nas plantas semeadas no campo ocorreu no início do florescimento, estágio onde a doença se torna mais visível (YORINORI, 1997c).

### 3.5.6 Reações de cultivares de soja inoculadas com *M. diffusa* pelo Método da Folha Destacada Modificada

Durante os anos agrícolas 1998/1999 e 2000/2001 foram semeados em casa de vegetação 122 cultivares de soja, dos quais apenas 89 cultivares tiveram boa germinação e foram utilizadas para avaliação do grau de resistência ao oídio.

Foram semeados 3 vasos com 5 sementes de cada cultivar, sendo que após o desbaste foram mantidas 3 plantas por vaso, em casa de vegetação.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 6 repetições para cada cultivar avaliada, sendo cada parcela constituída por uma folha destacada.

O presente experimento foi realizado segundo o Método da Folha Destacada Modificada e inoculado por pulverização de cerca de 0,5 ml da suspensão de conídios por folha, com auxílio do atomizador Devilbiss, na concentração  $1,5 \times 10^7$  conídios/ml, acrescido de gotas de Tween 80.

A avaliação foi realizada após 17 dias de incubação na câmara BOD, à temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e 14 horas de fotoperíodo, baseado na quantificação visual do nível de infecção (NI) da área foliar infectada (YORINORI, 1997b,c).

### 3.5.7 Reações de plantas invasoras à inoculação de *M. diffusa* em casa de vegetação

Para a instalação do experimento em casa de vegetação foram usados sacos plásticos de 30 cm x 40 cm e um substrato composto de três partes de terra e uma parte de esterco, previamente desinfestados com brometo de metila ( $80 \text{ cc/m}^3$  de substrato).

O critério de escolha das espécies de plantas invasoras utilizadas no experimento baseou-se em LORENZI (1982); LORENZI (1994) e EMBRAPA (2000).

A semeadura das diferentes espécies de plantas invasoras foi realizada de forma escalonada, obedecendo os dias requeridos para cada espécie para o início de sua emergência (Tabela 2), visando uma padronização quanto ao início de desenvolvimento de

todas as espécies, de modo a facilitar as etapas seguintes, como: desbastes, inoculações, adubações, tutoramento, necessários até a avaliação.

Em todos os testes, os vasos foram distribuídos num delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições (1 repetição=1 vaso), sobre bancadas na casa de vegetação, sendo distribuídos de forma intercalada com vasos contendo plantas de soja, da cultivar FT – Estrela com alta incidência do patógeno, numa proporção de 10 vasos de plantas invasoras para um vaso de soja. Os vasos com plantas de soja com alta incidência do fungo, garantiram a presença constante de alta fonte de inóculo para as plantas invasoras adjacentes. Além desta fonte de inóculo, foram realizadas 3 inoculações, com intervalos de 2 semanas.

A temperatura na casa de vegetação oscilou entre 20 e 32°C, e rotineiramente foram realizadas duas nebulizações, durante 10 minutos, nos horários mais quentes do dia, a fim de se proporcionar melhores condições para o desenvolvimento da doença, além das irrigações normais.

Durante o período correspondente ao início de desenvolvimento das plantas invasoras, foram realizados 4 desbastes, com intervalos de aproximadamente 10 dias.

As parcelas, inicialmente foram constituídas de 6 plantas/vaso, que no momento da inoculação sofreram um desbaste reduzindo para 3 plantas/vaso, perfazendo um total de 12 plantas por espécie de planta daninha.

Aos 30 dias após a semeadura, as plantas invasoras receberam a primeira inoculação de suspensão de *M. diffusa*, preparada conforme os resultados obtidos nos experimentos de padronização da Metodologia de Folhas Destacadas Modificada.

A inoculação foi realizada às 18:00 horas, quando as temperaturas são mais amenas. Antes da segunda inoculação, foi necessário realizar o tutoramento das plantas, devido ao acentuado crescimento das plantas invasoras.

Ao todo foram realizados três experimentos, os quais foram semeados em diferentes épocas, a saber: 19/02/99; 08/11/99 e 30/10/00; recebendo respectivamente a 1ª inoculação em 16/03/99; 08/12/99 e 01/12/00; a 2ª inoculação em 06/04/99; 29/12/99 e 22/12/00 e a 3ª inoculação em 20/04/99; 12/01/00 e 05/01/01.

Os dois primeiros experimentos foram iguais, variando apenas a época de execução dos trabalhos, quando 52 espécies de plantas invasoras (Tabela 2) foram inoculadas com conídios de *M. diffusa* e no terceiro experimento foram submetidas à inoculação mais 12 culturas de inverno (Tabela 3).

Tabela 2: Relação de plantas invasoras submetidas à inoculação de *M. diffusa* em condições de casa de vegetação.

Família	Nome Científico	Nome Comum	Emerg.*
<i>Compositae</i>	<i>Acanthospermum australe</i>	carrapichinho, carrapicho-rasteiro, mata-pasto, maroto	9
<i>Compositae</i>	<i>Acanthospermum hispidum</i>	carrapicho-carneiro, espinho-de-carneiro	7
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Alternanthera tenella</i>	apaga-fogo, periquito, alecrim, corrente, mangericão	6
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Amaranthus hybridus</i>	caruru-roxo, caruru, bredo, crista-de-galo, caruru-branco	7
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Amaranthus lividus</i>	caruru-folha-de-cuia	8
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Amaranthus spinosus</i>	caruru-de-espinho, caruru-de-porco, bredo-branco	9
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Amaranthus viridis</i>	caruru-de-mancha, caruru-verde, bredo, caruru	6
<i>Compositae</i>	<i>Ambrosia elatior</i>	ambrosia-americana, losna-do-campo, carprineira	11
<i>Compositae</i>	<i>Bidens pilosa</i>	picão-preto, picão, pico-pico, fura-capá, piolho-de-padre	6
<i>Gramineae</i>	<i>Brachiaria brisanta</i>	brachiarão	9
<i>Gramineae</i>	<i>Brachiaria decumbens</i>	capim-brachiária, braquiária	9
<i>Gramineae</i>	<i>Brachiaria humidícola</i>	capim-agulha	9
<i>Gramineae</i>	<i>Brachiaria plantagínea</i>	capim-marmelada, marmelada, papuã, capim-são-paulo	6
<i>Gramineae</i>	<i>Cenchrus echinatus</i>	capim-carrapicho, capim-amoroso, timbête	8
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Chenopodium album</i>	ançarinha-branca, erva-formigueira-branca, fedegosa	8
<i>Commelinaceae</i>	<i>Commelina benghalensis</i>	trapoeraba, rabo-de-cachorro, andaca, maria-mole	8

\* Dias para o início da emergência

continua

Tabela 2: continuação

Família	Nome Científico	Nome Comum	Emerg.*
Leguminosae	<i>Desmodium adscendens</i>	carrapicho-beiço-de-boi	8
Leguminosae	<i>Desmodium tortuosum</i>	pege-pega	8
Gramineae	<i>Digitaria horizontalis</i>	capim-colchão, capim-milhã, capim-de-roça, milhã	10
Gramineae	<i>Digitaria insularis</i>	capim-amargoso, capim-açu, capim-pororó, capim-flexa	8
Gramineae	<i>Digitaria sanguinalis</i>	capim-colchão	8
Gramineae	<i>Echinochloa colonum</i>	capim-arroz, capim-coloninho, capim-jaú, capituva	8
Gramineae	<i>Echinochloa crusgalli</i>	capim-arroz, jervão, capituva, capim-capivara	8
Gramineae	<i>Echinochloa cruspavonis</i>	capim-arroz, capim-jaú, capituva, barbudinho, jervão	8
Gramineae	<i>Eleusine indica</i>	capim-pé-de-galinha, capim-de-pomar, pé-de-galinha	8
Compositae	<i>Emilia sonchifolia</i>	serralha-vermelha	7
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i>	amendoim-bravo	7
Compositae	<i>Galinsoga parviflora</i>	fazendeiro, picão-branco, botão-de-ouro	7
Covulvaceae	<i>Ipomoea grandifolia</i>	corda-de-viola, corriola, campainha	7
Covulvaceae	<i>Ipomoea nil</i>	Corriola	5
Covulvaceae	<i>Ipomoea purpurea</i>	corda-de-viola, campainha, corriola, bom-dias	5
Covulvaceae	<i>Ipomoea quamoclit</i>	flor-de-cardeal, corda-de-viola, cipó-esqueleto, corriola	5

\* Dias para o início da emergência

continua

Tabela 2 : continuação

Família	Nome Científico	Nome Comum	Emerg.*
<i>Labiatae</i>	<i>Leonotis nepetaefolia</i>	cordão-de-frade, cordão-de-são-francisco, corindiba	11
<i>Labiatae</i>	<i>Leonurus sibiricus</i>	rubim, erva-macaé, chá-de-frade, erva-dos-zangões	8
<i>Solanaceae</i>	<i>Nicandra physaloides</i>	joá-de-capote, quintilho, bexiga, balão	8
<i>Gramineae</i>	<i>Panicum maximum</i>	capim-colonião, capim-coloninho, capim-milhã	8
<i>Solanaceae</i>	<i>Physalis angulata</i>	bucho-de-rã, camapú, balão, balão-rajado	10
<i>Portulacaceae</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	beldroega, bredo-de-porco, verdolaga, ora-pro-nobis	7
<i>Cruciferae</i>	<i>Raphanus raphanistrum</i>	nabiça, nabo-bravo, nabo, rabanete-de-cavalo	6
<i>Rubiaceae</i>	<i>Richardia brasiliensis</i>	poaia-branca, poaia, poaia-do-campo	11
<i>Leguminosae</i>	<i>Senna obtusifolia</i>	fedegoso, mata-pasto-liso, fedegoso-branco	5
<i>Leguminosae</i>	<i>Senna occidentalis</i>	fedegoso, manjerioba, mata-pasto, mamangá	7
<i>Malvaceae</i>	<i>Sida glaziovii</i>	guanxuma-branca, malva-guaxima, mata-pasto	8
<i>Malvaceae</i>	<i>Sida rhombifolia</i>	guanxuma, mata-pasto, vassourinha, relógio	7
<i>Malvaceae</i>	<i>Sida santaremnensis</i>	guanxuma, guaxima, guanxumona	7
<i>Malvaceae</i>	<i>Sida spinosa</i>	guanxuma, guanxuma, malva-lanceta, zunzo	7
<i>Solanaceae</i>	<i>Solanum americanum</i>	maria-pretinha, erva-moura, pimenta-de-galinha	8
<i>Compositae</i>	<i>Sonchus oleraceus</i>	serralha, chicória-brava, serralha-lisa, serralheira	7

\* Dias para o início da emergência

continua

Tabela 2 : continuação

<i>Família</i>	Nome Científico	Nome Comum	Emerg. *
<i>Gramineae</i>	<i>Sorghum halipense</i>	capim-massambará, capim-argentino, sorgo-de-alepo	8
<i>Compositae</i>	<i>Tagetes minuta</i>	cravo-de-defunto, rabo-de-rojão, erva-fedorenta, coari	6
<i>Compositae</i>	<i>Tridax procumbens</i>	erva-de-touro	8
<i>Compositae</i>	<i>Xanthium strumarim</i>	carrapichão	9

\* Dias para o início da emergência

Tabela 3 - Relação de culturas de inverno submetidas à inoculação de *Microsphaera diffusa* em condições de casa de vegetação. Ponta Grossa - PR. Ano Agrícola 2000/01.

NOME CIENTÍFICO	NOME COMUM	CULTIVAR
<i>Avena sativa</i> L.	Aveia branca	DRL 9248
<i>Avena strigosa</i> Schieb.	Aveia preta	EMBRAPA 140
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Cevada	–
<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	Azevém	–
<i>Lupinus albus</i> L.	Tremoço branco	FLORESTA
<i>Lupinus angustifolius</i> L.	Tremoço azul	IAPAR – 24
<i>Lupinus luteus</i> L.	Tremoço amarelo	PORTUGAL
<i>Secale cereale</i> L.	Centeio	EMBRAPA 1
<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench	Sorgo	AG 2006
<i>Trifolium pratense</i> L.	Trevo vermelho	–
<i>Trifolium repens</i> L.	Trevo branco	–
<i>Triticum aestivum</i> L.	Trigo	OCEPAR 18

Durante os experimentos, os vasos foram irrigados com adubo foliar Greenzit-A, na proporção de 30 a 50 ml para cada litro de água na quantidade de 50ml/vaso.

Os experimentos mostraram que algumas plantas invasoras apresentaram sintomas de oídio. Para se certificar a ocorrência do fungo nas plantas invasoras foram coletadas amostras e analisadas em laboratório.

A presença de oídio nas plantas invasoras foram confirmados através dos Postulados de Koch pelo Método da Folha Destacada Modificada.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um dos problemas verificados nos experimentos iniciais realizados com folhas destacadas de soja foi a dificuldade na manutenção da viabilidade da folha, tanto sadias como as inoculadas, que mostravam sinais de amarelecimento e raízes com pouco desenvolvimento, decorrentes das condições de baixa umidade relativa no interior das placas de Petri. Esta dificuldade também foi observada por YARWOOD (1946) e outros autores que abordavam como principal responsável pelo insucesso de muitos trabalhos, a morte ou senescência relativamente rápidas das folhas, após serem destacadas das plantas.

Este problema foi resolvido, após testes preliminares, melhorando-se as metodologias já descritas, tais como: a) colocação de 4 folhas de papel de filtro e um chumaço de algodão umedecido com 25 ml de água esterilizada por placa de Petri; b) colocação de 2 lâminas de vidro sobre o papel filtro umedecido, para se evitar o apodrecimento das folhas de soja, em decorrência do contato direto com o excesso de umidade; c) colocação de um plástico transparente sobre a tampa da placas de Petri, durante 72 horas após a inoculação, para a manutenção de uma atmosfera com alta umidade relativa em seu interior, durante o período necessário para a ocorrência da germinação e crescimento do tubo germinativo do fungo.

A produção de raízes pelas folhas de soja destacadas ofereceu a manutenção das mesmas, permitindo a avaliação dos níveis de infecção de *M. diffusa* sob ambiente controlado. Algumas das vantagens observadas foram um mínimo de contaminação e facilidades nas observações dos sintomas.

Durante os testes preliminares foi comprovada a necessidade da incubação das folhas destacadas sob condição de luz e temperatura controladas, para a melhor manifestação dos sintomas causados pelo *M. diffusa*, sendo que a melhor temperatura para a execução deste trabalho foi de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e o fotoperíodo de 14 horas, em virtude da exigência fotoperiódica da cultura da soja que é considerada planta de dia curto, estando em conformidade com os trabalhos realizados por MIGNUCCI, *et al.* (1977). CLINTON E McCORMICK (1924) que também ressaltam a importância da luz favorecendo a infecção das ferrugens em folhas destacadas de amendoim, pois parece deixar estas folhas em condições mais saudáveis, permitindo os processos normais de fotossíntese e, deste modo, favorecendo o desenvolvimento fúngico mais vigoroso.

Em todos os experimentos realizados verificou-se que os primeiros sintomas foram observados a partir do 10º dia da inoculação, confirmando as observações de MIGNUCCI (1978). Pela observação da evolução dos sintomas causados por *M. diffusa*, em folhas destacadas de soja, sugere-se a utilização de períodos de incubação entre 17 a 20 dias; períodos menores que estes podem possibilitar a avaliação de níveis de infecção que não diferencie plantas com características genéticas diferentes em relação à resistência a moderada resistência e de suscetível a altamente suscetível.

#### 4.1 INFLUÊNCIA DA SUPERFÍCIE FOLIAR E DA CONCENTRAÇÃO DE CONÍDIOS NA MANIFESTAÇÃO DOS SINTOMAS DE *M. diffusa*, EM FOLHAS DESTACADAS DE SOJA

As médias dos resultados obtidos nos dois experimentos pela avaliação do nível de infecção da área foliar infectada pelo fungo *M. diffusa*, utilizando cinco diferentes concentrações de inóculo, estão apresentados na Tabela 4.

Os dados originais dos experimentos 1 e 2, são apresentados respectivamente nas Tabelas 10 e 13 do Anexo. Para as análises de variância os resultados obtidos foram transformados para  $\sqrt{x+0,5}$ , os quais são apresentados nas Tabelas 11 e 14 do Anexo, para os experimentos 1 e 2, respectivamente. As análises de variância dos experimentos 1 e 2, são apresentados nas Tabelas 12 e 15 do Anexo.

Tabela 4 - Influência da superfície da folha inoculada e da concentração de conídios na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*, em folhas destacadas de soja cv. FT - Estrela. Ponta Grossa, PR. 1997 e 1998.

Concentração (conídios/ml)	Superfície foliar	Experimento 1		Experimento 2			
		Dados originais <sup>(a)</sup>	$\sqrt{x+0,5}$	Dados originais <sup>(a)</sup>	$\sqrt{x+0,5}$		
testemunha	adaxial	0,00	a**	0,71	0,00	a**	0,71
	abaxial	—		—	0,00	a	0,71
1,5 x 10 <sup>4</sup>	adaxial	0,67	b	1,05	0,83	b	1,13
	abaxial	—		—	0,00	a	0,71
1,5 x 10 <sup>5</sup>	adaxial	1,50	c	1,40	1,33	c	1,31
	abaxial	—		—	0,50	b	0,97
1,5 x 10 <sup>6</sup>	adaxial	2,17	c	1,63	2,33	d	1,68
	abaxial	—		—	1,17	c	1,28
1,5 x 10 <sup>7</sup>	adaxial	4,33	d	2,20	4,33	e	2,20
	abaxial	—		—	2,50	d	1,73
1,5 x 10 <sup>8</sup>	adaxial	4,83	d	2,31	4,67	f	2,27
	abaxial	—		—	2,67	d	1,77

<sup>(a)</sup> Médias das 6 repetições dos dados originais de nível de infecção da área foliar, que varia de 0 = sem sintoma a 5 = mais de 76% da área foliar infectada.

(-) não testado.

\*\* Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade

DMS Tukey 1% = 0,31; CV = 9,12% (Experimento 1)

DMS Tukey 1% = 0,17; CV = 12,64% (Experimento 2)

Os resultados apresentados na Tabela 4, obtidos pela avaliação do nível de infecção foliar, mostraram ser inviável a utilização de suspensões de conídios de *M. diffusa* com baixas concentrações, sendo indicado a utilização de concentrações de 1,5 x 10<sup>7</sup> e 1,5 x 10<sup>8</sup> conídios por mililitro de suspensão, para se conseguir resultados mais consistentes na avaliação dos sintomas apresentados em folhas destacadas.

A inoculação da superfície adaxial das folhas destacadas de soja, permitiu um maior desenvolvimento do fungo *M. diffusa*, independentemente das concentrações de conídios utilizadas (Tabela 4); isto pode ser atribuído à existência de melhores condições de penetração e colonização, nesta face das folhas.

Os estudos de correlação realizados com os dados obtidos, obedecendo os procedimentos relatados por KEMPTHORNE (1969) e FALCONER (1977), demonstram que as estimativas de correlação ( r ) envolvendo as diferentes superfícies de inoculação de *M.*

*diffusa* foi de 0,975, indicando que para quaisquer superfícies de inoculação os resultados obtidos apresentarão a mesma tendência (Figura 7).

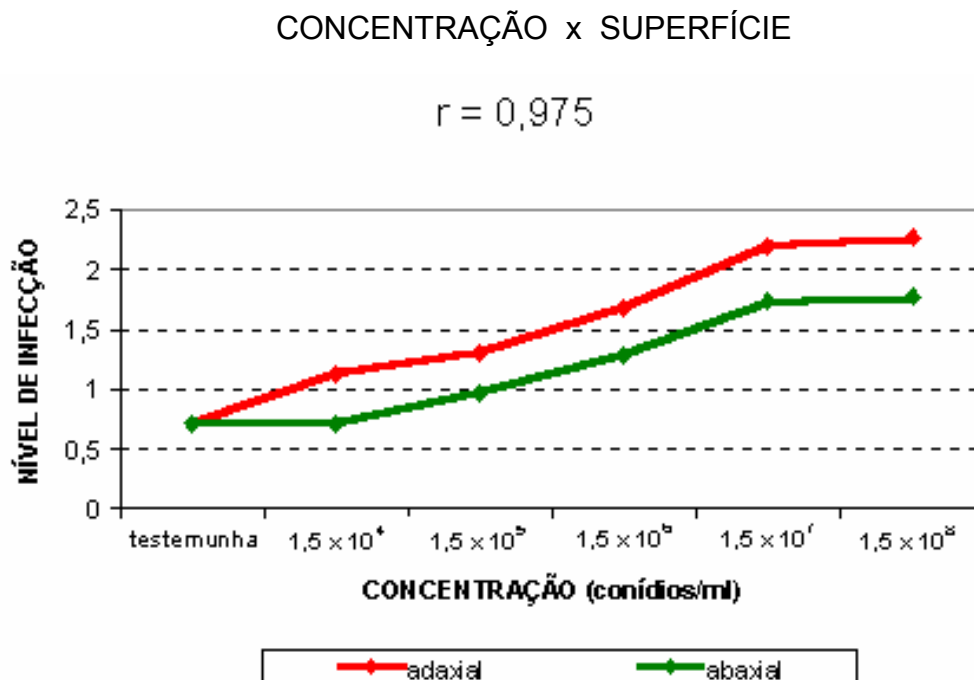


Figura 7 – Níveis de infecção de oídio em folhas destacadas de soja, face adaxial e abaxial submetidas à inoculação com diferentes concentrações de conídios de *Microsphaera diffusa*. Ponta Grossa, PR. 1998.

#### 4.2 INFLUÊNCIA DO ESTÁDIO DE DESENVOLVIMENTO DAS FOLHAS DESTACADAS DE PLANTAS DE SOJA NA SUA DURAÇÃO E MANIFESTAÇÃO DOS SINTOMAS DE *M. diffusa*

As médias dos resultados obtidos nos dois experimentos pela avaliação do nível de infecção da área foliar infectada pelo fungo *M. diffusa* nas folhas destacadas de soja com diferentes idades de desenvolvimento, estão apresentados na Tabela 5.

Os dados originais dos experimentos 1 e 2, são apresentados respectivamente nas Tabelas 16 e 19 do Anexo. Para as análises de variância os resultados obtidos foram transformados para  $\sqrt{x+0,5}$ , os quais são apresentados nas Tabelas 17 e 20 do Anexo, para os experimentos 1 e 2, respectivamente. As análises de variância dos experimentos 1 e 2, são apresentados nas Tabelas 18 e 21 do Anexo.

Tabela 5 - Influência do estágio de desenvolvimento das folhas destacadas de plantas de soja cv. FT – Estrela, na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*. Ponta Grossa, PR. 1998.

Estádio de desenvolvimento <sup>(a)</sup>	Experimento 1			Experimento 2		
	Dados originais <sup>(b)</sup>		$\sqrt{x + 0,5}$	Dados originais <sup>(b)</sup>		$\sqrt{x + 0,5}$
V1	4,50	a**	2,23	4,33	a**	2,19
V2	4,33	a	2,20	4,33	a	2,19
V3	4,17	a	2,16	4,17	a	2,16
V4	2,50	b	1,73	2,67	b	1,77
V5	1,67	b	1,44	1,83	b	1,52

<sup>(a)</sup> (V1) = Primeiro nó; folhas unifoliadas abertas de soja; (V2) = Segundo nó; primeiro trifólio aberto; (V3) = Terceiro nó; segundo trifólio aberto; (V4) = Quarto nó; terceiro trifólio aberto; (V5) = Quinto nó; quarto trifólio aberto.

<sup>(b)</sup> Médias das 6 repetições dos dados originais de nível de infecção da área foliar, que varia de 0 = sem sintoma a 5 = mais de 76% da área foliar infectada.

\*\* Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

DMS Tukey 1% = 0,41; CV = 10,26% (Experimento 1)

DMS Tukey 1% = 0,36; CV = 8,79% (Experimento 2)

As análises indicam que existem diferenças significativas em relação à idade foliar para a manifestação dos sintomas de *M. diffusa*.

A comparação entre as médias do estágio de desenvolvimento das folhas destacadas indicou diferença significativa apenas para as folhas mais velhas dos estádios de desenvolvimento V<sub>4</sub> e V<sub>5</sub> em relação às demais, que não diferiram entre si. As folhas mais novas V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> e V<sub>3</sub> possibilitaram o aparecimento de maior nível de infecção do fungo.

Apesar das folhas de soja dos estádios V<sub>1</sub> (unifoliada), V<sub>2</sub> (1<sup>a</sup> trifoliada) e V<sub>3</sub> (2<sup>a</sup> trifoliada) não apresentarem diferença estatística pelo teste de Tukey a 1%, foi observado nas unifoliadas (V<sub>1</sub>), variação na manifestação da porcentagem de área infectada entre as seis repetições, não apresentando homogeneidade de sintomas de *M. diffusa* nos dois experimentos realizados. Diante desta observação, optou-se pela utilização de folíolos dos estádios V<sub>2</sub> e V<sub>3</sub> para utilização em todos os trabalhos.

Os resultados obtidos no experimento sobre influência da idade das folhas destacadas de plantas de soja na manifestação dos sintomas de *M. diffusa* mostraram a necessidade de se trabalhar com as folhas mais novas, mas completamente expandidas, do ápice dos ramos principal ou laterais de plantas sadias. Para a utilização desta técnica, deve ser considerada a restrição citada por ABDON (1966) de que as folhas muito jovens ainda não totalmente expandidas, mesmo em plantas altamente suscetíveis, podem se comportar

como imunes conforme observado em plantas de amendoim à infecção por *Mycosphaerella arachidicola* e *M. berkeleyi*.

A utilização de folhas novas destacadas, mas completamente expandidas possibilitou a obtenção de respostas uniformes com esta técnica, permitindo um período mínimo de sobrevivência, necessário para a leitura dos sintomas originados de inoculações artificiais com *M. diffusa* em soja.

Os resultados obtidos, estabelecendo a idade das folhas destacadas reforçam a validade do uso deste Método da Folha Destacada, como meio de avaliação do grau de resistência das plantas de soja à *M. diffusa*, em condições de laboratório, desde que as condições ambientais sejam favoráveis ao desenvolvimento da doença.

Na Tabela 6 são apresentadas as porcentagens de enraizamento após 7, 14, 21 e 30 dias de acondicionamento e as porcentagens de folhas apodrecidas após 30 dias de acondicionamento, das folhas destacadas com diferentes estádios de desenvolvimento.

Tabela 6 - Influência do estágio de desenvolvimento da soja cv. FT - Estrela, no enraizamento e durabilidade das folhas destacadas. Ponta Grossa, PR. 1998.

% de folhas	Dias após o acondicionamento	Estádio de desenvolvimento <sup>(c)</sup>				
		V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>3</sub>	V <sub>4</sub>	V <sub>5</sub>
Enraizadas <sup>(a)</sup>	7	66,67	58,33	50,00	16,67	0,00
	14	100,0	91,67	83,33	25,00	0,00
	21	100,0	100,0	100,0	41,67	16,67
	30	100,0	100,0	100,0	58,33	25,00
Apodrecidas <sup>(b)</sup>	30	0,00	0,00	0,00	33,33	66,67

<sup>(a)</sup> Total de 12 folhas, 6 inoculadas e 6 não inoculadas, para cada estágio de desenvolvimento.

<sup>(b)</sup> Apodrecimento das folhas destacadas não atribuído às necroses causadas pela infecção por *M. diffusa*.

<sup>(c)</sup> (V1) = Primeiro nó; folhas unifoliadas abertas de soja; (V2) = Segundo nó; primeiro trifólio aberto; (V3) = Terceiro nó; segundo trifólio aberto; (V4) = Quarto nó; terceiro trifólio aberto; (V5) = Quinto nó; quarto trifólio aberto.

Pelos resultados apresentados na Tabela 6 pode-se observar que a duração das folhas está relacionada ao seu enraizamento (Figura 8 e 9) e que as folhas mais novas enraízam melhor e mais rapidamente.



Figura 8 – Enraizamento de folhas destacadas de plantas de soja, com 30 dias de incubação.



Figura 9 – Sintomas de senescência de folhas destacadas de soja, sem enraizamento, após 30 dias de incubação.

Aos 14 dias após as folhas serem destacadas e acondicionadas em placas de Petri, notou-se que as folhas mais novas apresentavam uma capacidade de enraizamento da ordem de 90 a 100% e que a maior duração das folhas estava diretamente correlacionada ao seu estágio de desenvolvimento. Este fato pode ser observado nas folhas inoculadas independentemente de estarem ou não com o patógeno. As folhas mais velhas que não enraizaram ou apresentaram pouco enraizamento, logo se tornavam cloróticas, murchavam ou apodreciam, confirmando a relação citada por YARWOOD (1946), HOOKER e YARWOOD (1966), REIS e KIMATI (1974) RIBEIRO *et al.* (1976), MIGNUCCI (1978) e MORAES (1981), entre o enraizamento ou formação de calos e a duração das folhas destacadas de várias plantas.

Segundo NSUMBU e BOUHARMONT (1977) o maior enraizamento natural das folhas mais novas, em água, pode ser atribuído à existência de hormônios estimuladores da formação de raízes (provavelmente auxinas) nesta parte apical das plantas de soja, num equilíbrio mais preciso, necessário para a diferenciação de meristemas radiculares.

A diferença na manifestação quantitativa dos sintomas entre folhas de diferentes estádios de desenvolvimento (Tabela 6) está intimamente relacionada com a sua condição de sobrevivência e não à incapacidade do patógeno parasitar os tecidos das folhas nos estádios testados, o que pode ser comprovado no campo, onde a infecção por *M. diffusa* ocorre em qualquer estágio de desenvolvimento da soja, porém, é mais visível por ocasião do início da floração, segundo YORINORI (1997c).

Deste modo, o enraizamento das folhas mais jovens, estádios V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> e V<sub>3</sub> apresentam um importante papel na manutenção dessas folhas em condições viáveis de serem infectadas por este fungo, em experimentos conduzidos em laboratório.

#### 4.3 INFLUÊNCIA DA TÉCNICA DE INOCULAÇÃO NA MANIFESTAÇÃO DOS SINTOMAS DE *M. diffusa*, EM FOLHAS DESTACADAS DE SOJA

Os experimentos 1 e 2 foram realizados respectivamente no ano de 1998 e 1999, testando-se apenas duas técnicas de inoculação e o experimento 3 foi realizado no ano de 2000/01 acrescentando-se mais duas técnicas de inoculação.

Nas Tabelas 22, 25 e 28 do Anexo são apresentados respectivamente os dados originais dos três experimentos realizados. Para as análises de variância os resultados obtidos foram transformados para  $\sqrt{x + 0,5}$ , os quais são apresentados nas Tabelas 23, 26 e 29 do Anexo, para os experimentos 1, 2 e 3, respectivamente. As análises da variância

dos experimentos 1, 2 e 3 com dados transformados, são apresentados respectivamente nas Tabelas 24, 27 e 30 do Anexo.

As comparações entre as médias dos dados transformados obtidos nos ensaios sobre influência da técnica de inoculação na manifestação dos sintomas de *M. diffusa* estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Influência da técnica de inoculação na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*, em folhas destacadas de soja cv. FT - Estrela. Ponta Grossa, PR. 1998, 1999 e 2000/01.

Técnica de Inoculação <sup>(b)</sup>	Área foliar infectada <sup>(a)</sup>		
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
Pulverização	2,27 <sup>n.s.</sup>	2,23 <sup>n.s.</sup>	2,23 a**
Gotejamento	2,23 <sup>n.s.</sup>	2,16 <sup>n.s.</sup>	2,20 a
Pincelamento	–	–	1,68 b
Polvilhamento	–	–	1,46 b

<sup>(a)</sup> Média de 6 repetições dos dados originais de nível de infecção da área foliar, que varia de 0 = sem sintoma a 5 = mais de 76% da área foliar infectada.

<sup>(b)</sup> Pulverização de suspensão líquida; Gotejamento de suspensão líquida; Pincelamento de suspensão líquida; Agitação de folhas infectadas (polvilhamento).

\*\* Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

(–) não testado

(n.s.) = não significativo; CV = 6,29% (Experimento 1)

CV = 4,55% (Experimento 2)

DMS Tukey 1% = 0,30; CV = 7,48% (Experimento 3)

Nos experimentos 1 e 2 observamos que não houve diferença estatística entre as médias dos níveis de infecção apresentados pelas folhas inoculadas pelas técnicas de pulverização e gotejamento, entretanto demonstraram bons resultados quanto a manifestação dos sintomas do patógeno em todas as folhas inoculadas, comprovando a eficiência de ambas as técnicas de inoculação.

No experimento 3, o teste de Tukey, revelou diferença significativa das técnicas pulverização e gotejamento com relação as outras duas técnicas. As comparações entre as médias dos dados transformados, para as técnicas de pulverização e gotejamento, não diferiram significativamente entre si, mas pode-se observar nitidamente a eficiência de ambas as técnicas, na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*.

Da mesma maneira as médias das avaliações dos níveis de infecção apresentados pelas folhas inoculadas pelas técnicas de pincelamento e polvilhamento, não diferiram significativamente entre si, mas foram significativamente menores do que as médias das outras duas técnicas.

Os experimentos para determinação da técnica de inoculação na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*, em folhas destacadas, apresentados na tabela 7, comprovam a eficiência da técnica usual de inoculação de suspensão de patógenos foliares por pulverização. Apesar deste método de inoculação apresentar a desvantagem de não possibilitar um controle exato da quantidade de suspensão de conídios depositada sobre cada folha, quando comparada às técnicas de pincelamento e de gotas, sua utilização mostrou ser mais simples, prática e rápida, principalmente para a inoculação de um grande número de folhas destacadas, cujo enraizamento nos três experimentos foi de 100%.

O problema da quantidade de inóculo depositado sobre cada folha, também pode ser observada na técnica de inoculação por polvilhamento. Na pulverização, onde a concentração de conídios é conhecida, este problema pode ser parcialmente resolvido padronizando-se o número de pulverizações por folíolo, ou seja, o volume de inóculo gasto para pulverizar cada folha e, a distância da folha ao bico do pulverizador, procurando assim, uniformizar a inoculação de todas as folhas em um determinado experimento.

A técnica de gotas padroniza a quantidade de inóculo depositada por folha, porém é muito trabalhosa e demorada; além disso, concentra os conídios do fungo em uma gota levando a uma maior dificuldade em distribuir bem o inóculo por toda a superfície dos folíolos sem provocar o escorrimento.

A técnica de pincelamento de conídios, apresentou nível de infecção mais baixo do que a técnica de gotas e mostrou maior dificuldade de distribuição do inóculo devido à pilosidade apresentada pelas folhas, e deste modo tendia a acumular-se nos bordos dos folíolos dificultando a avaliação dos sintomas.

Segundo DUNLEAVY (1977), MIGNUCCI e CHAMBERLAIN (1977), BUZZELL e HASS (1978) e LOHNES e NICKELL (1994) a técnica de inoculação por agitação de folhas (polvilhamento) de cultivar suscetível infectadas com *M. diffusa* é muito utilizada em seus experimentos de campo, em inoculações de plantas jovens com o primeiro trifólio expandido. Esta técnica, não mostrou ser muito eficiente em folhas destacadas de soja por apresentar baixo nível de infecção, pela má distribuição do inóculo seco sobre as folhas destacadas e pela impossibilidade de se quantificar o número aproximado de conídios inoculados.

Considerando-se as ressalvas apresentadas anteriormente, pode-se concluir que através da inoculação por pulverização, com inóculo devidamente padronizado, de forma a uniformizar a inoculação de todas as folhas, é possível comparar a reação de plantas com diferentes níveis de resistência, principalmente em trabalhos com grande quantidade de folhas destacadas de soja.

#### 4.4. INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NA OCORRÊNCIA DA FASE PERFEITA DO FUNGO *M. diffusa*

As folhas destacadas de soja inoculadas com o patógeno, submetidas à incubação em temperaturas variando de 5°C a 35°C, com intervalos de 5°C, apresentaram níveis de infecção variáveis. Nas temperaturas extremas de 5°C e 35°C o desenvolvimento micelial praticamente paralizou, ao passo que nas temperaturas de 10 a 30°C o seu desenvolvimento micelial aumentou. Entretanto, em nenhuma das folhas nas placas submetidas à variação de temperatura ocorreu a fase perfeita do fungo, durante todo o período de observação, que se encerrou com a senescência da folha.

Nos trabalhos relativos à incubação das placas com folhas destacadas em condições de fotoperíodos variando de 12, 10 e 8 horas, não foi observada a formação de cleistotécio de *M. diffusa*, ocorrendo apenas as estruturas vegetativas do fungo.

A redução da umidade relativa com o uso de sílica gel não afetou o desenvolvimento micelial e também não houve a formação das estruturas de reprodução sexual do fungo. As folhas destacadas, submetidas a este processo, sofreram uma necrose mais rápida do que as folhas destacadas submetidas à variação de temperatura e fotoperíodo.

Segundo LILLY e BARNET (1951) não há um conjunto universal de condições externas que permitam a frutificação de todos os fungos. No entanto, é conhecida a importância da luz, temperatura, aeração e umidade na reprodução de muitos fungos (TUIE, 1969).

Embora, durante a condução do experimento, o patógeno tenha sido submetido a diferentes variações nas condições ambientais, não se observou a formação das estruturas de reprodução sexual de *M. diffusa*. Assim sendo, pode-se admitir a possibilidade do patógeno necessitar de outras condições que não as testadas, para desenvolver a fase perfeita.

Paralelamente às observações realizadas em casa de vegetação com alta população de soja FT – Estrela infectada com o patógeno foram realizados levantamentos a campo em várias regiões dos Campos Gerais, tanto nos períodos normais de cultivo como no período de outono/inverno não tendo sido observada a ocorrência da fase perfeita do fungo nas safras de 1998/99, 1999/00 e 2000/01.

Segundo comunicação verbal dos pesquisadores, José Tadashi Yorinori (EMBRAPA – Londrina) e Erlei Melo Reis (Universidade de Passo Fundo) o desenvolvimento de cleistotécio para este patógeno é um fenômeno relativamente raro. Alguns relatos de sua ocorrência em casa de vegetação foram encontrados nos trabalhos de PAXTON e ROGERS

(1974), DEMSKI e PHILLIPS (1974) e McLAUGHLIN *et al.* (1976). No Brasil, o trabalho desenvolvido por TANAKA *et al.* (1993) em casa de vegetação, relata a presença de cleistotécio do fungo *M. diffusa*, sendo este o único relato publicado, da ocorrência do processo sexual.

#### 4.5 COMPARAÇÃO DA REAÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA À *M. diffusa*, ATRAVÉS DA INOCULAÇÃO DE FOLHAS DESTACADAS E DE FOLHAS ADERIDAS ÀS PLANTAS

Os dados obtidos nas avaliações de 10 cultivares de soja quanto ao nível de infecção de *M. diffusa*, pelo método da folha destacada, em condições de casa de vegetação e condições de campo são apresentados na Tabela 8.

TABELA 8 - Reações de 10 cultivares de soja avaliadas quanto ao nível de infecção ao oídio em diferentes condições de desenvolvimento. Ponta Grossa – PR. Ano Agrícola 2000/01.

Cultivares	Área Foliar Infectada <sup>(a)</sup>			Média Geral			Reação <sup>(b)</sup>
	MFDM	C.Veg.	Campo				
BR - 16	4,75	4,75	4,25	4,58	a**	2,25	AS
FT - Estrela	4,75	4,75	4,25	4,58	a	2,25	AS
COODETEC - 201	4,50	4,25	4,00	4,25	a	2,18	AS
EMBRAPA 48	3,50	3,25	2,75	3,17	b	1,91	S
BRS 133	2,67	2,75	2,25	2,54	bc	1,74	MR
FT - Jatobá	2,75	2,75	1,50	2,33	c	1,67	MR
FT - 10	1,75	1,50	0,50	1,25	d	1,29	R
FT - 5	1,50	1,50	0,25	1,08	de	1,21	R
IAC - 100	1,25	0,75	0,25	0,75	de	1,08	R
MG/BR-46 (CONQUISTA)	1,25	0,50	0,25	0,67	e	1,04	R

<sup>(a)</sup> Médias das 4 repetições dos dados originais de nível de infecção da área foliar, que varia de 0 = sem sintoma a 5 = mais de 76% da área foliar infectada onde, MFDM = Método da folha destacada modificada; C.Veg. = Casa de vegetação.

\*\* Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade

<sup>(b)</sup> Reação: R = Resistente; MR = Moderadamente resistente; S = Suscetível; AS = Altamente suscetível.

DMS Tukey 1% = 3,37; CV = 10,92 %

Com base nos resultados obtidos na avaliação das reações das dez cultivares de soja quanto ao nível de infecção ao oídio (*M. diffusa*), observamos que as cultivares BR - 16, FT - Estrela e COODETEC - 201 se comportaram como altamente suscetíveis, EMBRAPA 48 como suscetível, BRS 133 e FT - Jatobá como moderadamente resistentes, FT - 10, FT - 5, IAC - 100 e MG/BR - 46 (CONQUISTA) como resistentes, independentemente das condições de desenvolvimento as quais foram submetidas.

As avaliações realizadas pelo método da folha destacada e em casa de vegetação, ambas realizando avaliações em plântulas de soja, após 17 dias de inoculação, mostraram resultados bastante semelhantes.

A seleção de cultivares de soja para a resistência à *M. diffusa*, quando realizadas pelo método da folha destacada é facilitada por permitir o manuseio de um grande número de amostras em espaço físico limitado além de ser tão eficiente quanto os métodos utilizando plantas em casa de vegetação ou em campo. A metodologia, em casa de vegetação, onde as plantas ficam continuamente expostas ao inóculo, em condições favoráveis ao desenvolvimento da doença, garante a eficiência do método. No entanto devem ser levados em conta os cuidados necessários na manutenção das plantas para que não haja interferência de pragas ou outros patógenos aliados ao uso de substrato nos vasos que promova o crescimento adequado das plantas uma vez que o efeito nutricional pode interferir na expressão dos sintomas.

Ao passo que, as avaliações realizadas ao nível de campo, são influenciadas pelas variações condições ambientais e dependem das infecções naturais que atacam os hospedeiros suscetíveis. Nestas condições, a doença geralmente atinge o seu máximo quando as plantas testemunhas ficam adultas.

Os dados contendo as variações térmicas e pluviométricas ocorridas durante o desenvolvimento das cultivares no campo, se encontram na Tabela 40 e Figuras 18 e 19 do Anexo.

As maiores taxas de área foliar infectada de oídio em todas as cultivares de soja analisadas foram verificadas nas avaliações realizadas em folhas destacadas e nas avaliações realizadas na casa de vegetação, o que indica que as condições ambientais controlados favoreceram o desenvolvimento da doença.

A temperatura na casa de vegetação oscilou entre 22 a 30°C. Segundo MIGNUCCI *et al.* (1977) o fungo *M. diffusa* é sensível à altas temperaturas, requerendo um controle muito grande quando se realiza trabalhos de seleções de cultivares em casa de vegetação. Neste trabalho o oídio desenvolveu-se abundantemente na temperatura de 18 e 24°C, mas na temperatura de 30°C, em cultivares suscetíveis o crescimento foi prejudicado. As cultivares resistentes não permitiram ou não são as melhores para avaliações destes parâmetros por serem pouco infectadas pelo patógeno.

As cultivares que apresentaram pouco sintoma da doença nas folhas destacadas e na casa de vegetação, se apresentaram como resistentes no campo, desenvolvendo pouco ou nenhum sintoma da doença, mesmo estando próximas a níveis elevados de inóculo, proporcionados pelas plantas da cultivar FT – Estrela infectadas de oídio. Dados

semelhantes foram obtidos por DEMISKI e PHILLIPS (1974) em seus trabalhos, onde observaram que as reações das cultivares que pareciam ser imunes no campo eram medianamente suscetíveis na casa de vegetação e as cultivares que eram suscetíveis no campo foram altamente suscetíveis na casa de vegetação.

Segundo MIGNUCCI e LIM (1980) as cultivares de soja que sustentam baixas populações do patógeno no estágio de plântula, mas detém o desenvolvimento do patógeno até os estádios mais tardios (chamada resistência de planta adulta) são tão valiosos quanto as cultivares que são resistentes em todos os estádios de desenvolvimento, especialmente em áreas onde o fungo chega tardiamente no campo. Esta preocupação deve ser levada em conta quando as cultivares de soja são avaliadas em estádios de plântula como ocorre no método da folha destacada e teste em casa de vegetação.

Os estudos comparativos sobre o desenvolvimento de patógenos em folhas destacadas e em plantas inteiras têm mostrado que na maioria dos casos os dois métodos dão resultados semelhantes em relação à suscetibilidade dos hospedeiros e virulência dos patógenos (YARWOOD, 1946; HOYMAN, 1957; WARD,1959). Algumas diferenças, no entanto, tem sido observadas com relação à intensidade de doença registrada nestes dois métodos de inoculação de patógenos foliares (YARWOOD, 1946).

Foram realizados estudos de correlação envolvendo as três metodologias, obedecendo os procedimentos relatados por KEMPTHORNE (1969) e FALCONER (1977). Os resultados obtidos mostraram que as estimativas de correlação entre as metodologias empregadas apresentaram valores positivos e de alta magnitude, indicando que para quaisquer uma das metodologias utilizadas os resultados alcançados serão semelhantes (Figuras 10, 11 e 12).

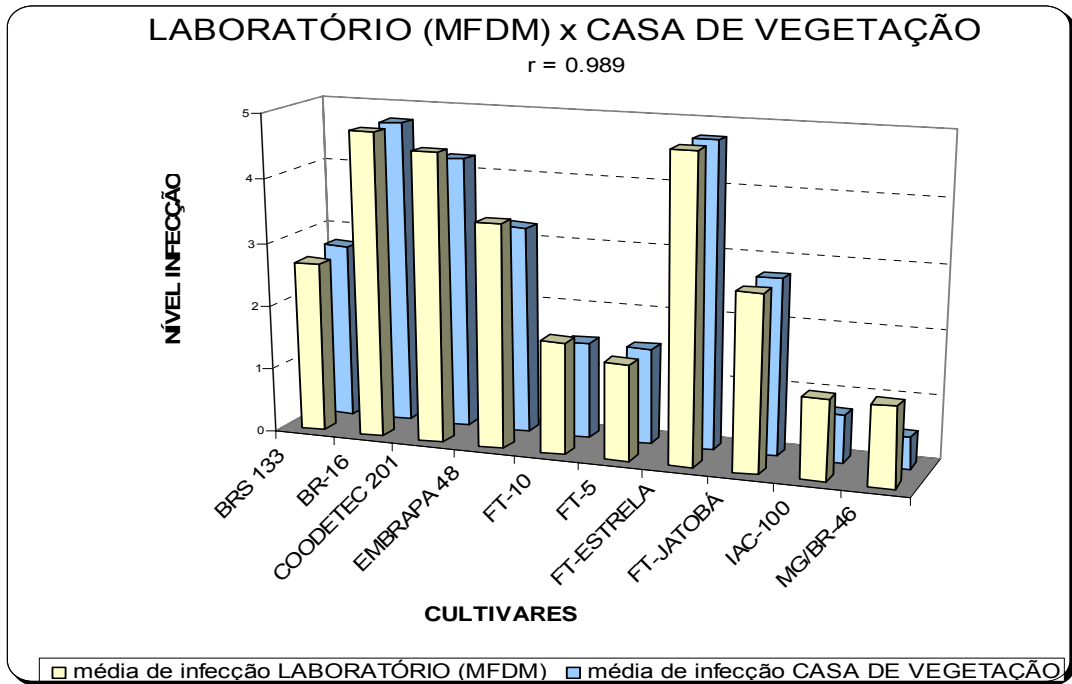
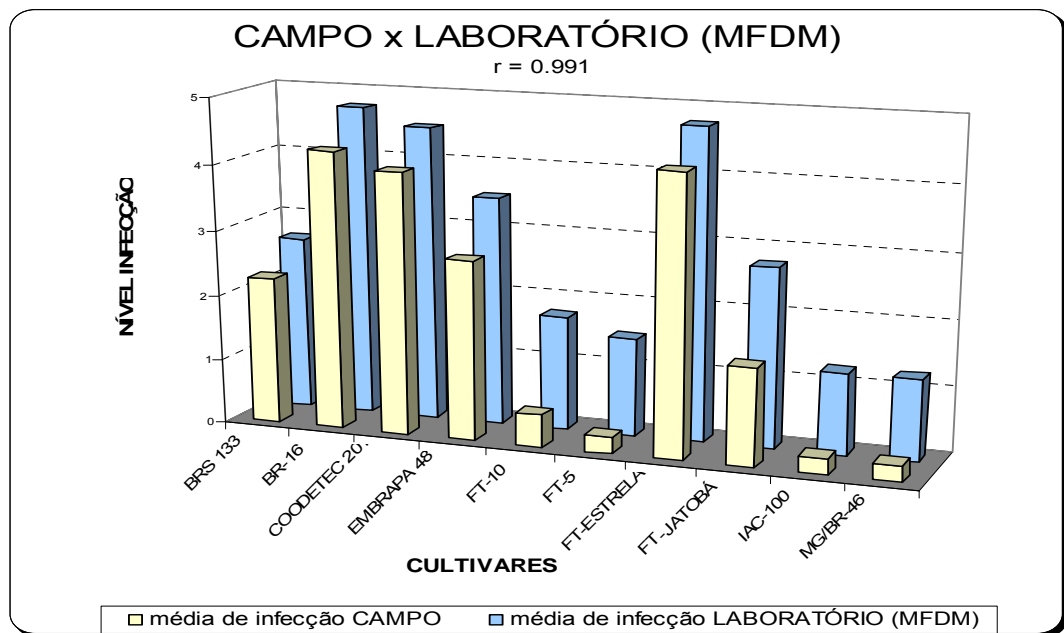


Figura 10 – Níveis de infecção de *M. diffusa* em 10 cultivares de soja avaliados na casa de vegetação e em folhas destacadas no laboratório.

Fig



V

eis de infecção de *M. diffusa* em 10 cultivares de soja avaliados no campo e em folhas destacadas no laboratório.

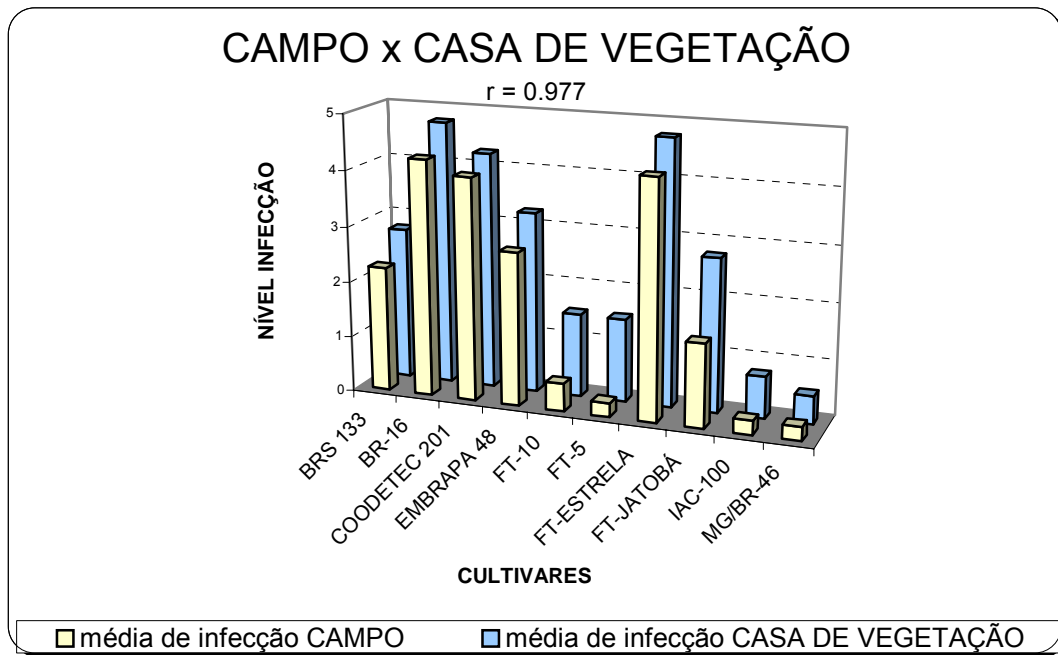


Figura 12 – Níveis de infecção de *M. diffusa* em 10 cultivares de soja avaliados no campo e casa de vegetação.

A avaliação do tipo de resistência de *M. diffusa* em cultura de soja pelo método da folha destacada em laboratório ou no estágio de plântulas em condições de casa de vegetação ou no estágio de planta adulta em condições de campo, mostraram uma boa correspondência, revelando que o método da folha destacada apresenta vantagem principalmente sob o ponto de vista prático.

Os estudos relacionados com a identificação de populações autógamias resistentes e/ou tolerantes a uma modalidade de doença fúngica são sempre de grande importância. Além da identificação de novas fontes de resistência, é necessário, no futuro, conhecer o mecanismo de resistência envolvidos nas relações patógeno-hospedeiro.

#### 4.6 AVALIAÇÃO DA REAÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA À *M. diffusa*, ATRAVÉS DA METODOLOGIA DA FOLHA DESTACADA MODIFICADA

A avaliação do nível de infecção através da quantificação visual da porcentagem de área foliar infectada, mostrou ser variável para detectar diferenças na infecção devida a *M. diffusa*, entre as cultivares de soja avaliadas, o que permitiu separar em grupos bastante distintos (resistente, moderadamente resistente, suscetível e altamente suscetível).

Os dados originais dos dois experimentos de avaliações dos níveis de infecção de *M. diffusa* em 89 cultivares de soja, realizados em maio de 1998 e em abril de 1999, pelo método da folha destacada são apresentados respectivamente, nas Tabelas 38 e 39 do Anexo.

O enraizamento natural das folhas destacadas observados após 17 dias de inoculação foi de aproximadamente 90%, com baixo índice de perda de parcela, o que não prejudicou as avaliações realizadas.

As médias dos resultados das avaliações dos níveis de infecção de *M. diffusa*, em 89 cultivares de soja, nos dois experimentos realizados, são apresentados na Tabela 9.

TABELA 9 - Reações de 89 cultivares de soja ao oídio avaliadas pelo Método da Folha Destacada Modificada, em experimentos realizados em duas épocas diferentes. Ponta Grossa – PR. 1999 e 2001

Cultivar	Experimentos <sup>(a)</sup>		Média <sup>(b)</sup>	Reação <sup>(c)</sup>
	1	2		
Bragg	2,83	2,50	2,66	MR
BR-4	3,17	3,33	3,25	S
BR-16	4,83	5,00	4,91	AS
BR-30	4,33	4,17	4,25	AS
BR-36	1,17	1,00	1,09	R
BR-37	2,17	2,40	2,28	MR
BR-38	1,00	0,83	0,91	R
BR/EMGOPA-314	0,83	1,17	1,00	R
BRS-133	2,20	2,17	2,18	MR
CAC-1	2,17	2,50	2,33	MR
Campos Gerais	3,83	3,83	3,83	S
Cobb	0,83	1,17	1,00	R
COODETEC 201	4,67	4,83	4,75	AS
COODETEC 203	4,40	4,67	4,54	AS
DAVIS	3,33	3,17	3,25	S
Doko	1,17	0,83	1,00	R
Dourados	1,00	1,17	1,09	R
EMBRAPA 1 (IAC 5 RC)	0,83	0,67	0,75	R
EMBRAPA 4 (BR 4 RC)	3,50	3,83	3,67	S
EMBRAPA 9 (Bays)	1,17	1,17	1,17	R
EMBRAPA 20 (Doko RC)	0,50	0,75	0,62	R
EMBRAPA 30	4,33	4,67	4,50	AS
EMBRAPA 48	3,33	3,67	3,50	S
EMBRAPA 58	2,80	2,83	2,82	MR
EMBRAPA 59	2,67	2,50	2,59	MR
EMBRAPA 60	2,83	2,83	2,83	MR
EMBRAPA 61	3,00	2,83	2,91	MR
EMBRAPA 62	3,80	3,67	3,74	S
EMGOPA-302	2,17	2,50	2,33	MR
EMGOPA-307	0,67	0,83	0,75	R
EMGOPA-308	3,83	3,40	3,62	S
EMGOPA-315	1,00	1,00	1,00	R
FT-5 (Formosa)	0,83	1,17	1,00	R
FT-7 (Tarobá)	3,17	3,33	3,25	S
FT-9 (Inaê)	3,33	3,17	3,25	S
FT-10 (Princesa)	1,17	1,17	1,17	R
FT-12 (Nissei)	1,00	0,83	0,91	R
FT-18 (Xavante)	1,17	1,17	1,17	R
FT-101	0,83	0,67	0,75	R
FT-102	4,17	4,33	4,25	AS
FT-103	2,33	2,67	2,50	MR
FT-104	0,83	1,00	0,91	R
FT-106	3,20	3,40	3,30	S
FT-107	0,67	0,83	0,75	R

continua

Tabela 9 – continuação

Cultivar	Experimentos <sup>(a)</sup>		Média <sup>(b)</sup>	Reação <sup>(c)</sup>
	1	2		
FT-108	3,33	3,83	3,58	S
FT-2000	2,00	1,67	1,84	R
FT-2005	4,17	4,17	4,17	AS
FT-Abyara	4,83	4,50	4,67	AS
FT-Cometa	2,33	2,17	2,25	MR
FT-Cristalina	4,33	4,40	4,36	AS
FT-Estrela	4,83	4,67	4,75	AS
FT-Guaira	4,50	4,67	4,58	AS
FT-Iramaia	3,33	3,17	3,25	S
FT-Jatobá	2,17	2,33	2,25	MR
FT-Líder	4,33	4,67	4,50	AS
FT-Manacá	3,50	3,33	3,42	S
FT-Saray	4,33	4,50	4,41	AS
FT-Seriema	3,20	3,17	3,18	<b>S</b>
IAC-8	0,83	1,00	0,91	R
IAC-12	1,00	1,40	1,20	R
IAC-15	0,67	0,83	0,75	R
IAC-16	2,33	2,50	2,41	MR
IAC-17	1,00	1,17	1,09	R
IAC-18	1,00	1,00	1,00	R
IAC-19	0,83	0,67	0,75	R
IAC-100	0,67	0,50	0,59	R
IPAGRO 21	2,17	2,33	2,25	MR
KI-S 801	1,17	1,17	1,17	R
MG/BR-42	0,67	1,20	0,94	R
MG/BR-46 (Conquista)	0,67	0,83	0,75	R
MS/BR-19 (Pequi)	0,80	0,83	0,82	R
M-SOY 6302	3,83	3,67	3,75	S
M-SOY 7101	0,83	1,00	0,91	R
M-SOY 7701	1,00	1,00	1,00	R
OCEPAR 4-Iguaçu	3,50	3,33	3,41	S
OCEPAR 6	2,17	2,50	2,33	MR
OCEPAR 7-Brilhante	1,00	1,17	1,09	R
OCEPAR 8	0,67	0,75	0,71	R
OCEPAR 13	3,20	3,67	3,44	S
OCEPAR 14	4,67	4,33	4,50	AS
OCEPAR 16	2,83	2,67	2,75	MR
OCEPAR 17	4,17	4,33	4,25	AS
OCEPAR 18	4,33	4,00	4,16	AS
Paraná	4,60	4,50	4,55	AS
RS 5-Esmeralda	1,17	0,83	1,00	R
RS 7-Jacuí	3,33	3,17	3,25	S
Santa Rosa	3,50	3,33	3,41	S
UFV-9	2,67	2,50	2,59	MR
UFV-15	2,20	2,33	2,26	MR

<sup>(a)</sup> Média dos dados originais de nível de infecção da área foliar, que varia de 0 = sem sintoma a 5 = mais de 76% da área foliar infectada.

<sup>(b)</sup> Média de 2 experimentos, cada experimento com 6 repetições, totalizando 12 folhas destacadas avaliadas para cada tipo de cultivar.

<sup>(c)</sup> Reação: R = Resistente; MR = Moderadamente resistente; S = Suscetível; AS = Altamente suscetível.

Segundo os resultados apresentados na Tabela 9, foram encontrados 35 cultivares resistentes, 18 moderadamente resistentes, 19 suscetíveis e 17 altamente suscetíveis.

A metodologia de folhas destacadas de soja, citada inicialmente por REIS e KIMATI (1974) e utilizada neste trabalho com modificações, mostrou ser simples, prática, em geral, apresentaram longo tempo de sobrevivência e enraizamento natural rápido, sem a necessidade da utilização de materiais mais sofisticados, soluções nutritivas, cinetina ou hormônios para forçar o enraizamento e aumentar a longevidade das folhas destacadas.

Além disso, possibilitou a obtenção de resultados em um espaço de tempo curto e permitiu a utilização de grande número de plantas em espaço relativamente pequeno. O controle do ambiente sendo mais fácil do que no caso de plantas adultas, permitiu a obtenção da sintomatologia desejável, o que facilitou a separação de plantas resistentes de suscetíveis de maneira bastante criteriosa, comprovando todas as vantagens da utilização desta técnica, enumeradas por YARWOOD (1946).

Com a utilização da metodologia padronizada para as folhas destacadas de soja, foi possível testar o comportamento das 89 cultivares de soja em relação a *M. diffusa* e verificar que as reações de resistência ou suscetibilidade foram semelhantes às observadas por YORINORI (1997b,c), EMBRAPA (1999 e 2000) em condições de casa de vegetação e de campo e por TANAKA *et al.* (1993 e 1997) sob condições de casa de vegetação.

A maior concordância obtida com este método de avaliação deve-se principalmente ao fato das avaliações serem realizadas através de um índice de doença que foi considerado a área visível da planta afetada pelo patógeno.

#### 4.7. REAÇÕES DE PLANTAS INVASORAS À INOCULAÇÃO DE *M. diffusa* EM CASA DE VEGETAÇÃO

A gama de hospedeiros de *M. diffusa* que incluía a *Glycine max*, *Glycine falcata*, *Lespedeza stipulacea*, *Lespedeza striata*, *Lupinus angustifolius*, *Psoralea tenax*, *Cyamopsis tetragonaloba*, *Phaseolus vulgares* (Ky. "Wonder-Wax-Pale", KY "Bush Bountiful", "Pale Ky wonder"), *Phaseolus perennis*, *Pisum sativum* Ky. "Burpee", *Vigna unguiculata* Ky. "Black cowpea" e "*Vigna unguiculata* Ky. "Prima", quatro espécies de *Caprifoliaceae*, *Solanaceae*, três espécies de *Desmodium* spp., pode ser ampliada com a inclusão de *Galinsoga parviflora* (Figura 13), *Physalis angulata* (Figura 14) e *Sonchus oleraceus* (Figura 15), visto que neste experimento, essas espécies testadas permitiram a colonização do fungo e foram confirmados através dos Postulados de Koch.

Além destas espécies, foram verificados também a colonização de *M. diffusa* em *Desmodium adscendens* (Figura 16) e *Desmodium tortuosum* (Figura 17), conforme já relatado por BURRILL e EARLE (1987).

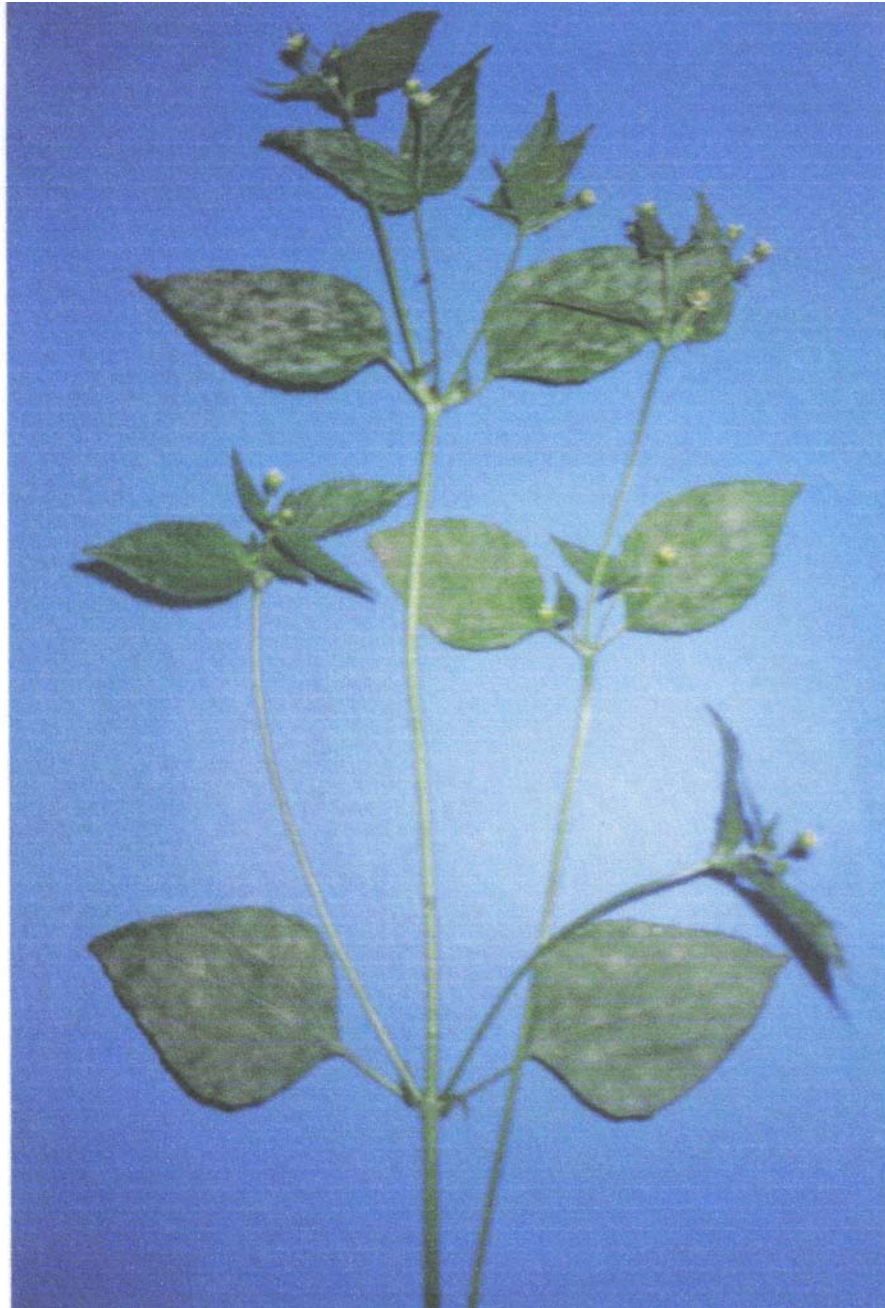


Figura 13 – Sintomas de oídio em *Galinsoga parviflora* inoculados com conídios de *M. diffusa*.



Figura 14 – Sintomas de oídio em *Physalis angulata* inoculados com conídios de *M. diffusa*.



Figura 15 – Sintomas de oídio em *Sonchus oleraceus* inoculados com conídios de *M. diffusa*.



Figura 16 – Sintoma de oídio em *Desmodium adscendens* inoculados com conídios de *M. diffusa*



Figura 17 – Sintomas de oídio em *Desmodium tortuosum* inoculados com conídios de *M. diffusa*.

THOMPSON (1951) em seu experimento relata a colonização do fungo *M. diffusa* em tremoço azul (blue lupine), mas neste experimento, não foi possível observar o seu desenvolvimento, sendo provável que tenha ocorrido uma infecção latente, como observada por PEREIRA e VALLE (1997), em seus trabalhos com plantas hospedeiras de *Phomopsis phaseoli* f.sp. *meridionalis*.

HARTMAN *et al.* (1986) citam que plantas invasoras podem ser hospedeiros alternativos, contribuindo para aumentar o inóculo, permitindo a sobrevivência do patógeno em sistema de rotação e proporcionando uma base para variação patogênica. Estudos realizados por BLACK *et al.* (1996) reforçam essa idéia, pois ressaltam que espécies daninhas que foram infectadas por *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* (causador do cancro da haste no norte dos E. U. A.) podem funcionar como reservatórios do patógeno, o que teria sérias implicações do ponto de vista epidemiológico.

O método de inoculação utilizado neste estudo foi bastante severo e, provavelmente proporcionou uma maior colonização do que ocorreria no campo, sob condições naturais. Por esse motivo, espera-se que a frequência de infecção em condições de campo, onde a infecção ocorre principalmente a partir de conídios, seja inferior à observada experimentalmente, mas ainda assim poderá ser suficiente para a sobrevivência do patógeno, na ausência do hospedeiro principal. Estudos adicionais em condições de campo poderão fornecer informações mais precisas.

As espécies de plantas invasoras que foram colonizadas por *M. diffusa*, começaram a apresentar os sinais do patógeno próximo à fase de florescimento se estendendo até a fase de produção de sementes.

Durante os trabalhos para a realização do Postulado de Koch, foi observado que o fungo se desenvolveu mais acentuadamente na face adaxial da folha das plantas invasoras, dado este também observado quando o fungo foi inoculado na soja, independente da concentração de inóculo pulverizada.

Os isolados obtidos das plantas invasoras colonizadas mantiveram as características de patogenicidade à soja. Estas plantas invasoras podem ser consideradas como mantenedoras do inóculo na entre safra e fonte de inóculo na safra.

A constatação da infecção latente não é uma prova definitiva de que essas plantas comportar-se-ão como hospedeiras eficientes do patógeno no campo, mas sim que estas podem favorecer a sobrevivência de *M. diffusa* se utilizadas em rotação com a soja.

Há necessidade de mais estudos com relação a *M. diffusa* quer usando isolados de origens diversas, quer utilizando hospedeiros diferentes, a fim de melhor conhecer-se o efeito do hospedeiro na patogenicidade do fungo, principalmente no sentido de pesquisar,

ou o tipo de adaptação ou a modificação que possa ocorrer no complexo patógeno-hospedeiro, pois trata-se de um fungo parasita obrigatório.

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem as seguintes conclusões:

1 A metodologia da folha destacada modificada mostrou-se prática e eficiente na avaliação de reações de cultivares de soja à *M. diffusa* e recomenda-se seu uso em testes preliminares de avaliação de resistência.

2 As concentrações de inóculo de  $1,5 \times 10^7$  e  $1,5 \times 10^8$  conídios por mililitro foram as mais eficientes para obtenção de níveis mais elevados de infecção foliar, em folhas destacadas.

3 A inoculação de *M. diffusa* na superfície adaxial das folhas possibilitou um desenvolvimento mais expressivo, independente da concentração de conídios utilizada.

4 A utilização das folhas de soja nos estádios  $V_2$  e  $V_3$ , permitiram a melhor avaliação dos níveis de infecção causados pelo *M. diffusa*.

5 As folhas de soja nos estádios  $V_1$ ,  $V_2$  e  $V_3$  apresentaram maior longevidade associada a um rápido enraizamento natural.

6 A inoculação das folhas destacadas através de pulverização do inóculo mostrou ser mais prática e eficiente do que as inoculações por gotejamento, pincelamento e polvilhamento.

7 As plantas-daninhas picão branco (*Galinsoga parviflora*), bucho-de-rã (*Physalis angulata*) e serralha (*Sonchus oleraceus*) são relatadas pela primeira vez como hospedeiras de *M. diffusa*.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do Método da Folha Destacada Modificado (MFDM) pela sua eficiência e praticidade na triagem de resistência de cultivares de soja a *Microsphaera diffusa* poderá ser uma ferramenta bastante útil ao fitopatologista e melhorista. Em função dos resultados do MFDM, que não diferiram estatisticamente dos obtidos em casa de vegetação e campo sugere-se que novos experimentos sejam realizados avaliando-se a possibilidade de eliminar, em alguns casos, os testes de casa de vegetação. Vê-se, como bastante promissor, o MFDM para o estudo de raças do patógeno, onde as condições “in vitro” permitem uma melhor assepsia do que em casa de vegetação, portanto com menores chances de contaminações, permitindo o manuseio simultâneo de um grande número de isolados, com maior segurança.

A constatação de *M. diffusa* em plantas da vegetação espontânea justifica a instalação de ensaios regionais nos locais de produção da soja, no sentido de se avaliar a importância das espécies, sua prevalência e periodicidade o que evidenciaria o seu papel como fonte de inóculo do patógeno na safra e sua manutenção na entre-safra. Estudos sobre a ocorrência do processo sexual do fungo nestas espécies devem prosseguir, para que a epidemiologia deste patógeno no Brasil, possa ser bem estabelecida, contribuindo para a elaboração de medidas de controle adequadas.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ABDOU, Y. A. M. **The source and nature of resistance in *Arachis L.* species to *Mycosphaerella arachidicola* JENK. and *Mycosphaerella berkeleyii.*, fators influencing sporulation of these fungi.** Raleigh, U. S. A., 1966. 118 f. Tese (Ph. D. Thesis) North Carolina State Univ.
- 2 ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A. Doenças da soja (*Glycine max.* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.) **Manual de fitopatologia.** vol. 2: Doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda. 1997. p. 642-664.
- 3 ARANTES, N. E. e SOUZA, P. I. de M. **Cultura da Soja nos Cerrados.** Piracicaba: POTAFÓS – Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. 1993. 535 p.
- 4 ARNY, D. C.; HANSON, E. W.; WORF, G. L.; OPLINGER, E. S.; HUGHES, W. H. Powdery mildew on soybean in Wisconsin. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.59, p. 288-290. 1975.
- 5 BLACK, B. D.; PADGETT, G. B.; RUSSIN, J. S.; GRIFFIN, J. L.; SNOW, J. P.; BERGGREN Jr., G. T. Potential weed host for *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, causal agent of soybean stem canker. **Plant Disease**, n.80, p. 763 – 765. 1996.
- 6 BROWDER, L. E. A modified detached-leaf culture technique for study of cereal rusts. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.48, p. 906 - 908. 1964.
- 7 BURRILL, T. J.; EARLE, F. S. Parasitic Fungi of Illinois. In: Part II. **Erysipheae**, Lév. Bull. Illinois State Lab. Nat. Hist. V.2, p. 378 – 432. 1987.
- 8 BUSS, G. R.; CHEN, P.; ROANE, C. W. Identification of single genes controlling resistance to powdery mildew in soybean. **Soybean Genet. Newsl.**, n.15, p. 139 - 140. 1988.
- 9 BUZZELL, R. I.; HASS, J. H. Powdery mildew of soybeans. **Soybean Genet.\_Newsl.**, n.2, p. 7 - 9. 1975.
- 10 BUZZELL, R. I.; HASS, J. H. Inheritance of adult plant resistance to powdery mildew in soybeans. **Can. J. Cytol.** n.20, p. 151 - 153. 1978.
- 11 CLINTON, G. P.; McCORMICK, F. A. Rust infection of leaves in Petri dishes. **Connecticut Agric. Exp. Station**, New Haven, Conn., Bulletin n.260, p. 475 - 501. 1924.

- 12 DEMSKI, J. W.; PHILLIPS, D. V. Reactions of soybean cultivars to powdery mildew. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.58, p.723-726. 1974.
- 13 DUNLEAVY, J. M., A survey of powdery mildew of soybean in Central Iowa. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.60, p. 675-677. 1976.
- 14 DUNLEAVY, J. M. Comparison of the disease response of soybean cultivars to *Microsphaera diffusa* in the greenhouse and the field. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.61, p. 32-34. 1977.
- 15 DUNLEAVY, J. M. Soybean seed yield losses caused by powdery mildew. **Crop. Sci.** n.18, p. 337-339. 1978.
- 16 ELLET, C. W. Host range of the *Erysiphaceae* of Ohio. **Ohio J. Sci.** N.66, p. 570-581. 1966.
- 17 EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 1999/2000**. Londrina: 1999. 226p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 132).
- 18 EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 2000/01**. Londrina: 2000. 245p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 146).
- 19 FALCONER, D.S. **Introduction to quantitative genetics**. London, Longman: 1977. 365 p.
- 20 FERREIRA, L. P.; LEHMAN, P. S.; ALMEIDA, A. M. R. **Doenças de soja no Brasil**. Londrina: EMBRAPA/CNPSo, 1979. 41 p. (Circular Técnica, 01).
- 21 GARRIDO, L. da R.; DHINGRA, O. D. Weed species as potential reservoir hosts of *Diaporthe phaseolorum* f.sp. *meridionalis*. **Fitopatologia Brasileira**, n.22, p. 108-110. 1997.
- 22 GRAU, C. R.; LAURENCE, J. A. Observations on resistance and heritability of resistance to powdery mildew of soybean. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.59, p. 458-460. 1975.
- 23 HARTMAN, G. L.; MANANDHAR, J. B.; SINCLAIR, J. B. Incidence of *Colletotrichum* spp. on soybeans and weeds in Illinois and pathogenicity of *Colletotrichum truncatum*. **Plant Disease**, N.70, P. 780-782. 1986.
- 24 HOOKER A. L.; YARWOOD, C. E. Culture of *Puccinia sorghi* on detached leaves of corn and *Oxalis corniculata*. **Phytopathology**, St. Paul, 56, p. 536-539. 1966.
- 25 HOYMAN, W. G. Comparative reactions of attached and detached leaves to *Phytophthora infestans*. **Phytopathology**. (Abstract) St. Paul, n.47, 1957. p.17.

- 26 JOHSON, H. W.; LEFEBVRE, C. L.; AYERS, T. T. Powdery mildew of lespedeza. **Phytopathology**, St. Paul, n.30, p. 620-621. 1940.
- 27 JOHSON, H. W.; CHAMBERLAIN, D. W.; LEHMAN, S. G. Diseases of soybeans and methods of control. **U. S. Dep. Agric.** 1954. 40 p. (Circ. n.931)
- 28 JOHSON, H. W.; JONES, J. P. Other legumes prove susceptible a powdory mildew of *Psoralea tenax*. **Plant Disease Reporter**, Belstville, 45, p. 542-543. 1961.
- 29 KEMPTHORNE, O. **Na introduction to genectic statistics**. Ames: Iowa States University Press, 1969. 545 p.
- 30 LEHMAN, S. G. Powdery mildew of soybean. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* n.46, p. 190-195. 1931.
- 31 LEHMAN, S. G. Powdery mildew of soybean. Phytopathology, (Abstract). St. Paul, n.37, 1947. p. 434.
- 32 LILLY, V. G.; BARNET, H. L. **Physiological of the fungi**. Toronto and London, New Yersey; McGraw Hill Bock Company Inc. 1951. 464 p.
- 33 LOHNES, D. G.; BERNARD, R. L. Inheritance of resistance to powdery mildew in soybeans. **Plant Disease**, v. 76, n.9, p. 964-965. 1992.
- 34 LOHNES, D. G.; NICKELL, R. L. Effects of Powdery mildew Alleles *Rmd-c*, *Rmd e* *rmd* on yield and other characteristics in soybean. **Plant Disease**, v. 78, n.3, p. 299-301. 1994.
- 35 LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. São Paulo: Editora Plantarum Ltda, 1982. 425 p.
- 36 LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas**. Quarta edição. São Paulo: Editora Plantarum Ltda, 1994. 299 p.
- 37 McLAUGHLIN, M. R.; MIGNUCCI, J. S.; MILBRATH, G. M. *Microsphaera diffusa*, the perfect stage of the soybean powdery mildew pathogen. **Phytopathology**, St. Paul, n.67, p. 726-729. 1976.
- 38 MIGNUCCI, J. S. **Powdery mildew of soybeans**. Urbana. 1975. 46f. (M. S. Thesis) - Univ. of Illinois.
- 39 MIGNUCCI, J. S.; CHAMBERLAIN, D. W. Interactions of *Microsphaera diffusa* with soybean and other legumes. **Phytopathology**, St. Paul, n.68, p. 169-173. 1977.
- 40 MIGNUCCI, J. S.; LIM, S. M.; HEPPELY, P. R. Effects of temperature on reactions of soybean seedlings to powdery mildew. **Plant Disease Reporter**, Belstville, n.61, p. 122-124. 1977.
- 41 MIGNUCCI, J. S., Development of soybean leaf cultures for maintenance and study of *Microsphaera diffusa*. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.62, p. 271-273. 1978.

- 42 MIGNUCCI, J. S.; BOYER, J. S. Inhibition of photosynthesis and transpiration in soybean infected by *Microsphaera diffusa*. **Phytopathology**, St. Paul, n.69, p. 227-230. 1979.
- 43 MIGNUCCI, J. S.; LIM, S. M. Powdery mildew development on soybean with adult-plant resistance. **Phytopathology**, St. Paul, n.70, p. 919-921. 1980.
- 44 MISRA, A. K.; MISRA, A.P. Groundnut in Bihar-varietal reaction. *Indian Phytopathology*. Índia, n.28, p. 557-559. 1976.
- 45 MORAES, S. A. **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, 1981. 107 f. (Doutorado em Agronomia, Fitopatologia). Departamento de Fitopatologia, ESALQ/USP.
- 46 NSUMBU, N.; BOUHARMONT, J. Différenciation de racines et tiges feuillées à partir de feuilles de *Coffea canephora*. **Café, Cacao, Thé**, Paris, v. XXI (1), p. 3-8. 1977.
- 47 PAXTON, J. D.; ROGERS, D. P. Powdery mildew of soybean. **Mycologia** n.66, p. 894-896. 1974.
- 48 PEREIRA, J.; do VALLE, L. A. C. Plantas hospedeiras de *Phomopsis phaseoli* f.sp. *meridionalis*, agente causal do cancro da haste da soja. **Fitopatologia Brasileira**, n.22, p. 553-554. 1997.
- 49 PHILLIPS, D. V. Stability of *Microsphaera diffusa* and the effect of powdery mildew on yield of soybean. **Plant Disease**, n.68, p. 953-956. 1984.
- 50 REIS, E. M.; KIMATI, H. Cultivo de folhas de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) destacadas, para testes fitopatológicos. In: **Reunião Conjunta de Pesquisa**, Resumo. Porto Alegre: p. 140 1974.
- 51 RIBEIRO, I. J. A.; MORAES, S. A.; PARADELA Fº. O.; SUGIMORI, M. H.; SOAVE, J. **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. Resumo. Campinas: n.9, p. 20. 1976.
- 52 RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; THOMPSON, H. E. How a soybean plant develops. Iowa State University of Science and Technology/Cooperative Extension Service. **Special Report**, n.53, Revised Sept. 20 p. 1982.
- 53 ROBERTS, D. A. Use of detached-leaf technique for testing leguminous forage plants for resistance to foliage diseases. **Phytopathology**. (Abstract). St. Paul, n.46, p. 24. 1956.
- 54 ROTH, J. N.; SCHAFER, J. F. Response of barley seedling to some foliage organisms. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.52, p. 215-217. 1968.

- 55 SILVERMAN, W. B. The development of *Puccinia graminis* var. *tritici* on detached leaves of wheat as influenced by nutrients and metabolite antagonist. **Phytopathology**, (Abstract). St. Paul, n.47, p. 31-31. 1957.
- 56 SINCLAIR, J. B. Soybean seed pathology. IN: YORINORI, J. T.; J. B. SINCLAIR; Y. R. MEHTA; S. K. MOHAN, eds. **Seed Pathology Problems and Progress**, Londrina, IAPAR, p. 161-172. 1979.
- 57 SINCLAIR, J. B. (Ed.), **Compendium of soybean diseases**. St. Paul; American Phytopathological Society. 2nd. ed.1982. 104 p.
- 58 SUBRAHMANYAM, P.; GIBBONS, R. W.; NIGAN, S. N.; RAO, V. R. Screening methods and further sources of resistance to peanut rust. **Peanut Science**. Raleigh, n.7, p. 10-12. 1980.
- 59 TANAKA, M. A. S.; ITO, M. F.; MASCARENHAS, H. A.; DUDIENAS, C.; MIRANDA, M. A. C. Desenvolvimento do oídio da soja em casa de vegetação. **Summa Phytopathologica** n.19, p. 125-126. 1993.
- 60 TANAKA, M. A. S.; MASCARENHAS, H. A. A.; ITO, M. F. Reações de cultivares de soja ao oídio (*Microsphaera diffusa*). **Fitopatologia Brasileira**. (Resumo). Campinas, v.22, p. 476. 1997.
- 61 THOMPSON, G. E. *Microsphaera diffusa* on blue lupine. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.35, p. 221. 1951.
- 62 TUIITE, J. **Plant Pathological Methods: fungi and bacteria**. Minneapolis, Minn.: Burgess Publishing Company, 1969. 239 p.
- 63 UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Index of Plant Disease in United States**. Agriculture Handbook, n.165, 1960. 531 p.
- 64 WARD, C. H. The detached-leaf technique for testing alfalfa clones for resistance to black stem. **Phytopathology**, St. Paul, n.49, p. 690-696. 1959.
- 65 WILCOXSON, R. D.; ATIF, A. H.; SKOVMAND, B. Slow rusting of wheat varieties in the field correlated with stem rust severity on detached leaves in the greenhouse. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.58, p. 1085-1087. 1974.
- 66 YARWOOD, C. E. Detached leaf culture. **The Botanical Review**, Lancaster, n.12, p. 1-56. 1946.
- 67 YARWOOD, C. E. *Pyrenomycetes: Erysiphales*. P. 71 – 86. IN: G. C. AINSWORTH et. al. (Eds.) **The fungi: an advanced treatise**, New York and London: Academic Press, v. IV-A. 1973. 621 p.
- 68 YORINORI, J. T. Doenças da soja no Brasil. In: **A soja no Brasil Central**, Campinas: Fundação Cargill, 2ª. ed 1982. p. 300-364.

- 69 YORINORI, J. T. Soja (*Glycine max* (L.) Merrill) - Controle de doenças. In: RIBEIRO DO VALE, F. X.; ZAMBOLIM, L. **Controle de doenças de plantas: grandes culturas**. Viçosa: vol. II, p. 1997a. p. 953-1023.
- 70 YORINORI, J. T. Cultivares de soja resistentes ao oídio (*Microsphaera diffusa*). **Revista da Soc. Bras. de Fitopatologia**, (Resumo). Londrina, v.22, 515 p. 1997b.
- 71 YORINORI, J.T. 1997c. Oídio da soja. **EMBRAPA – CNPSo. Comunicado Técnico**, Londrina, n. 59, p. 1-5.

## **Anexos**

Tabela 10 - Influência da concentração de conídios de *M. diffusa*, na manifestação dos sintomas, em folhas destacadas de soja. Ponta Grossa,PR. Dezembro/1997 (dados originais dos níveis de infecção).

Concentração (conídios/ml)	Repetições						Média
	I	II	III	IV	V	VI	
testemunha	0	0	0	0	0	0	0,00
1,5 x 10 <sup>4</sup>	0	1	1	0	1	1	0,67
1,5 x 10 <sup>5</sup>	2	2	1	2	1	1	1,50
1,5 x 10 <sup>6</sup>	2	2	2	3	2	2	2,17
1,5 x 10 <sup>7</sup>	4	4	5	4	5	4	4,33
1,5 x 10 <sup>8</sup>	5	5	5	4	5	5	4,83

Tabela 11 - Influência da concentração de conídios de *M. diffusa*, na manifestação dos sintomas, em folhas destacadas de soja. Ponta Grossa,PR. Dezembro/1997 (dados de nível de infecção transformados em  $\sqrt{x+0,5}$  ).

Concentração (conídios/ml)	Repetições						Média
	I	II	III	IV	V	VI	
testemunha	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71
1,5 x 10 <sup>4</sup>	0,71	1,22	1,22	0,71	1,22	1,22	1,05
1,5 x 10 <sup>5</sup>	1,58	1,58	1,22	1,58	1,22	1,22	1,40
1,5 x 10 <sup>6</sup>	1,58	1,58	1,58	1,87	1,58	1,58	1,63
1,5 x 10 <sup>7</sup>	2,12	2,12	2,35	2,12	2,35	2,12	2,20
1,5 x 10 <sup>8</sup>	2,35	2,35	2,35	2,12	2,35	2,35	2,31





Tabela 16 - Nível de infecção de *M. diffusa* por folíolo em folhas destacadas de soja em diferentes estádios de desenvolvimento. Ponta Grossa, PR. Fevereiro/1998 (dados originais dos níveis de infecção).

Estádio de Desenvolvimento <sup>(a)</sup>	Repetições						Média
	I	II	III	IV	V	VI	
V <sub>1</sub>	5	5	4	3	5	5	4,50
V <sub>2</sub>	4	4	4	5	4	5	4,33
V <sub>3</sub>	4	4	4	5	4	4	4,17
V <sub>4</sub>	3	2	3	3	2	2	2,50
V <sub>5</sub>	2	2	2	2	2	0	1,67

<sup>(a)</sup> (V<sub>1</sub>) = Primeiro nó; folhas unifoliadas abertas de soja cv. FT – Estrela; (V<sub>2</sub>) = Segundo nó; primeiro trifólio aberto; (V<sub>3</sub>) = Terceiro nó; segundo trifólio aberto; (V<sub>4</sub>) = Quarto nó; terceiro trifólio aberto; (V<sub>5</sub>) = Quinto nó; quarto trifólio aberto.

Tabela 17 - Nível de infecção de *M. diffusa* por folíolo em folhas destacadas de soja em diferentes estádios de desenvolvimento. Ponta Grossa, PR. Fevereiro/1998 (dados de nível de infecção transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$  ).

Estádio de Desenvolvimento <sup>(a)</sup>	Repetições						Média
	I	II	III	IV	V	VI	
V <sub>1</sub>	2,35	2,35	2,12	1,87	2,35	2,35	2,23 a
V <sub>2</sub>	2,12	2,12	2,12	2,35	2,12	2,35	2,20 a
V <sub>3</sub>	2,12	2,12	2,12	2,35	2,12	2,12	2,16 a
V <sub>4</sub>	1,87	1,58	1,87	1,87	1,58	1,58	1,73 b
V <sub>5</sub>	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58	0,71	1,44 b

<sup>(a)</sup> (V<sub>1</sub>) = Primeiro nó; folhas unifoliadas abertas de soja cv. FT – Estrela; (V<sub>2</sub>) = Segundo nó; primeiro trifólio aberto; (V<sub>3</sub>) = Terceiro nó; segundo trifólio aberto; (V<sub>4</sub>) = Quarto nó; terceiro trifólio aberto; (V<sub>5</sub>) = Quinto nó; quarto trifólio aberto.





Tabela 22 - Influência da técnica de inoculação de folhas destacadas de soja na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*. Ponta Grossa, PR. Fevereiro/1998 (dados originais dos níveis de infecção).

Técnica de Inoculação <sup>(a)</sup>	Repetições						Média
	I	II	III	IV	V	VI	
A	5	4	5	5	4	5	4,67
B	4	5	5	4	4	5	4,50

<sup>(a)</sup> (A) = Pulverização de suspensão líquida; (B) = Gotejamento de suspensão líquida.

Tabela 23 - Influência da técnica de inoculação de folhas destacadas de soja na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*. Ponta Grossa, PR. Fevereiro/1998 (dados de nível de infecção transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ ).

Técnica de Inoculação <sup>(a)</sup>	Repetições						Média
	I	II	III	IV	V	VI	
A	2,35	2,12	2,35	2,35	2,12	2,35	2,27
B	2,12	2,35	2,35	2,12	2,12	2,35	2,23

<sup>(a)</sup> (A) = Pulverização de suspensão líquida; (B) = Gotejamento de suspensão líquida.

Tabela 24 - Análise da variância da influência da técnica de inoculação de folhas destacadas de soja na manifestação dos sintomas de *M. diffusa*. Ponta Grossa, PR. Fevereiro/1998.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	1	0,01	0,01	0,5 <sup>n.s.</sup>
Resíduo	10	0,15	0,02	
Total	11	0,16		

CV = 6,29 %

média = 2,25

(n.s.) = não significativo

Tabela 25 - Influência da técnica de inoculação de folhas destacadas de soja na manifestação dos sintomas *de M. diffusa*. Ponta Grossa, PR. Fevereiro/1999 (dados originais dos níveis de infecção).

Técnica de Inoculação <sup>(a)</sup>	Repetições						Média
	I	II	III	IV	V	VI	
A	4	5	4	4	5	5	4,50
B	5	4	4	4	4	4	4,17

<sup>(a)</sup> (A) = Pulverização de suspensão líquida; (B) = Gotejamento de suspensão líquida.

Tabela 26 - Influência da técnica de inoculação de folhas destacadas de soja na manifestação dos sintomas *de M. diffusa*. Ponta Grossa, PR. Fevereiro/1999 (dados de nível de infecção transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ ).

Técnica de Inoculação <sup>(a)</sup>	Repetições						Média
	I	II	III	IV	V	VI	
A	2,12	2,35	2,12	2,12	2,35	2,35	2,23
B	2,35	2,12	2,12	2,12	2,12	2,12	2,16

<sup>(a)</sup> (A) = Pulverização de suspensão líquida; (B) = Gotejamento de suspensão líquida.

Tabela 27 - Análise da variância da influência da técnica de inoculação de folhas destacadas de soja na manifestação dos sintomas *de M. diffusa*. Ponta Grossa, PR. Fevereiro/1999.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	1	0,02	0,02	2 <sup>n.s.</sup>
Resíduo	10	0,13	0,01	
Total	11			

CV = 4,55 %

média = 2,20

(n.s.) = não significativo



Tabela 31 - Reação de 10 cultivares de soja ao oídio (*M. diffusa*) avaliadas pelo método da folha destacada. Ponta Grossa – PR. Ano Agrícola 2000/01 (dados originais de nível de infecção).

Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>				Média
	1	2	3	4	
BR-16	5	4	5	5	4,75
BRS-133	2	3	3	-	2,67
COODETEC 201	4	5	5	4	4,50
EMBRAPA 48	3	3	4	4	3,50
FT-5 (Formosa)	1	2	1	2	1,50
FT-10 (Princesa)	1	2	2	2	1,75
FT-Estrela	5	5	4	5	4,75
FT-Jatobá	3	2	3	3	2,75
IAC-100	1	1	2	1	1,25
MG/BR-46 (Conquista)	1	1	1	2	1,25

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

Tabela 32 - Reação de 10 cultivares de soja ao oídio (*M. diffusa*) avaliadas pelo método da folha destacada. Ponta Grossa – PR. Ano Agrícola 2000/01 (dados de nível de infecção transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ ).

Amostra	Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>				Média
		1	2	3	4	
1	BR-16	2,35	2,12	2,35	2,35	2,29
2	BRS-133	1,58	1,87	1,87	-	1,77
3	COODETEC 201	2,12	2,35	2,35	2,12	2,24
4	EMBRAPA 48	1,87	1,87	2,12	2,12	2,00
5	FT-5 (Formosa)	1,22	1,58	1,22	1,58	1,40
6	FT-10 (Princesa)	1,22	1,58	1,58	1,58	1,49
7	FT-Estrela	2,35	2,35	2,12	2,35	2,29
8	FT-Jatobá	1,87	1,58	1,87	1,87	1,80
9	IAC-100	1,22	1,22	1,58	1,22	1,31
10	MG/BR-46 (Conquista)	1,22	1,22	1,22	1,58	1,31

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

Tabela 33 - Reação de 10 cultivares de soja ao oídio (*M. diffusa*) avaliadas na casa de vegetação. Ponta Grossa – PR. Ano Agrícola 2000/01 (dados originais de nível de infecção).

Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>				Média
	1	2	3	4	
BR-16	4	5	5	5	4,75
BRS-133	3	2	3	3	2,75
COODETEC 201	4	5	4	4	4,25
EMBRAPA 48	3	3	3	4	3,25
FT-5 (Formosa)	1	2	2	1	1,50
FT-10 (Princesa)	1	2	2	1	1,50
FT-Estrela	4	5	5	5	4,75
FT-Jatobá	3	2	3	3	2,75
IAC-100	1	1	1	0	0,75
MG/BR-46 (Conquista)	1	0	0	1	0,50

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

Tabela 34 - Reação de 10 cultivares de soja ao oídio (*M. diffusa*) avaliadas na casa de vegetação. Ponta Grossa – PR. Ano Agrícola 2000/01 (dados de nível de infecção transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ ).

Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>				Média
	1	2	3	4	
BR-16	2,12	2,35	2,35	2,35	2,29
BRS-133	1,87	1,58	1,87	1,87	1,80
COODETEC 201	2,12	2,35	2,12	2,12	2,18
EMBRAPA 48	1,87	1,87	1,87	2,12	1,93
FT-5 (Formosa)	1,22	1,58	1,58	1,22	1,40
FT-10 (Princesa)	1,22	1,58	1,58	1,22	1,40
FT-Estrela	2,12	2,35	2,35	2,35	2,29
FT-Jatobá	1,87	1,58	1,87	1,87	1,80
IAC-100	1,22	1,22	1,22	0,71	1,09
MG/BR-46 (Conquista)	1,22	0,71	0,71	1,22	0,96

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

Tabela 35 - Reação de 10 cultivares de soja ao oídio (*M. diffusa*) avaliadas no campo. Ponta Grossa – PR. Ano Agrícola 2000/01 (dados originais de nível de infecção).

Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>				Média
	1	2	3	4	
BR-16	4	4	4	5	4,25
BRS-133	2	3	2	2	2,25
COODETEC 201	4	4	4	4	4,00
EMBRAPA 48	3	3	2	3	2,75
FT-5 (Formosa)	0	1	0	0	0,25
FT-10 (Princesa)	0	1	1	0	0,50
FT-Estrela	4	5	4	4	4,25
FT-Jatobá	2	1	1	2	1,50
IAC-100	0	0	1	0	0,25
MG/BR-46 (Conquista)	1	0	0	0	0,25

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

Tabela 36 - Reação de 10 cultivares de soja ao oídio (*M. diffusa*) avaliadas no campo. Ponta Grossa – PR. Ano Agrícola 2000/01 (dados de nível de infecção transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ ).

Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>				Média
	1	2	3	4	
BR-16	2,12	2,12	2,12	2,35	2,18
BRS-133	1,58	1,87	1,58	1,58	1,65
COODETEC 201	2,12	2,12	2,12	2,12	2,12
EMBRAPA 48	1,87	1,87	1,58	1,87	1,80
FT-5 (Formosa)	0,71	1,22	0,71	0,71	0,84
FT-10 (Princesa)	0,71	1,22	1,22	0,71	0,96
FT-Estrela	2,12	2,35	2,12	2,12	2,18
FT-Jatobá	1,58	1,22	1,22	1,58	1,40
IAC-100	0,71	0,71	1,22	0,71	0,84
MG/BR-46 (Conquista)	1,22	0,71	0,71	0,71	0,84

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

Tabela 37 - Análise da variância de reações de dez cultivares de soja avaliadas quanto ao nível de infecção ao oídio (*M. diffusa*) em diferentes condições de desenvolvimento. Ponta Grossa – PR. Ano Agrícola 2000/01.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Ambiente (A)	2	2,07	1,03	31,42**
Cultivar (C)	9	25,14	2,79	84,91**
Interação (A x C)	18	0,97	0,05	1,65 <sup>n.s.</sup>
(Tratamentos)	(29)	(28,18)		
Resíduo	89	2,93	0,03	
Total	118	31,13		

CV = 10,92%

DMS Tukey 1% = 3,37

(\*\*) = significativo a 1% de probabilidade

(<sup>n.s.</sup>) = não significativo

Tabela 38 - Reação das cultivares de soja ao oídio (*M. diffusa*) avaliadas pelo método da folha destacada, em experimento realiza em maio/1998. Ponta Grossa – PR.

Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>						Média
	1	2	3	4	5	6	
Bragg	2	3	2	3	3	4	2,83
BR-4	3	3	3	4	3	3	3,17
BR-16	5	5	4	5	5	5	4,83
BR-30	4	5	3	4	5	5	4,33
BR-36	2	0	1	1	2	1	1,17
BR-37	2	3	3	1	3	1	2,17
BR-38	1	1	2	1	0	1	1,00
BR/EMGOPA-314	1	1	0	1	1	1	0,83
BRS-133	3	2	3	1	2	-	2,20
CAC-1	2	2	3	2	2	2	2,17
Campos Gerais	5	4	4	3	4	3	3,83
Cobb	1	2	1	0	1	0	0,83
COODETEC 201	5	5	3	5	5	5	4,67
COODETEC 203	5	4	4	5	-	4	4,40
DAVIS	4	2	4	4	2	4	3,33
Doko	2	0	2	1	0	2	1,17
Dourados	1	0	1	1	2	1	1,00
EMBRAPA 1 (IAC 5 RC)	1	0	1	1	1	1	0,83
EMBRAPA 4 (BR 4 RC)	3	3	5	3	4	3	3,50
EMBRAPA 9 (Bays)	2	1	1	0	2	1	1,17
EMBRAPA 20 (Doko RC)	1	1	0	0	0	1	0,50
EMBRAPA 30	5	4	4	5	4	4	4,33
EMBRAPA 48	3	4	3	3	4	3	3,33
EMBRAPA 58	3	2	3	-	3	3	2,80
EMBRAPA 59	3	3	1	3	3	3	2,67
EMBRAPA 60	4	3	2	3	1	4	2,83
EMBRAPA 61	3	3	3	3	3	3	3,00
EMBRAPA 62	5	4	-	3	4	3	3,80
EMGOPA-302	2	3	2	2	2	2	2,17
EMGOPA-307	1	0	1	1	0	1	0,67

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

continua

Tabela 38 - (Continuação)

Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>						Média
	1	2	3	4	5	6	
EMGOPA-308	4	5	4	3	3	4	3,83
EMGOPA-315	2	0	1	1	2	0	1,00
FT-5 (Formosa)	1	0	1	1	1	1	0,83
FT-7 (Tarobá)	4	3	4	2	2	4	3,17
FT-9 (Inaê)	4	4	2	2	4	4	3,33
FT-10 (Princesa)	1	2	1	2	1	0	1,17
FT-12 (Nissei)	2	1	1	1	0	1	1,00
FT-18 (Xavante)	1	1	1	1	2	1	1,17
FT-101	1	1	1	1	0	1	0,83
FT-102	3	4	3	5	5	5	4,17
FT-103	3	1	3	3	3	1	2,33
FT-104	1	1	1	0	1	1	0,83
FT-106	3	4	3	-	3	3	3,20
FT-107	1	0	1	1	0	1	0,67
FT-Cristalina	4	4	5	5	4	4	4,33
FT-Estrela	5	5	5	4	5	5	4,83
FT-Guaira	4	5	5	4	5	4	4,50
FT-Iramaia	4	4	2	4	2	4	3,33
FT-Jatobá	3	2	2	1	2	3	2,17
FT-Líder	5	3	5	5	4	3	4,33
FT-Manacá	4	3	3	5	3	3	3,50
FT-Saray	5	5	3	4	4	5	4,33
FT-Seriema	3	3	2	4	4	-	3,20
IAC-8	1	2	1	1	0	0	0,83
IAC-12	1	1	1	1	1	1	1,00
IAC-15	1	0	1	1	0	1	0,67
IAC-16	3	2	2	3	2	2	2,33
IAC-17	2	1	1	0	2	0	1,00
IAC-18	2	1	1	0	1	1	1,00
IAC-19	1	0	1	1	1	1	0,83

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

continua

Tabela 38 - (Continuação)

Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>						Média
	1	2	3	4	5	6	
IAC-100	1	0	1	1	0	1	0,67
IPAGRO 21	3	2	2	1	2	3	2,17
KI-S 801	1	2	1	1	1	1	1,17
MG/BR-42	1	2	1	0	0	0	0,67
MG/BR-46 (Conquista)	1	1	0	1	1	0	0,67
MS/BR-19 (Pequi)	0	1	1	-	1	1	0,80
M-SOY 6302	4	4	3	4	4	4	3,83
M-SOY 7101	0	2	1	1	1	0	0,83
M-SOY 7701	1	1	1	1	1	1	1,00
OCEPAR 4-Iguaçu	4	3	3	3	5	3	3,50
OCEPAR 6	2	2	2	3	2	2	2,17
OCEPAR 7-Brilhante	1	0	1	1	1	2	1,00
OCEPAR 8	1	1	0	1	0	1	0,67
OCEPAR 13	-	4	2	4	2	4	3,20
OCEPAR 14	5	5	5	3	5	5	4,67
OCEPAR 16	4	3	3	2	2	3	2,83
OCEPAR 17	4	4	4	4	4	5	4,17
OCEPAR 18	3	4	5	5	5	3	4,33
Paraná	5	-	4	4	5	5	4,60
RS 5-Esmeralda	1	1	1	1	1	2	1,17
RS 7-Jacuí	4	3	3	3	3	4	3,33
Santa Rosa	4	4	4	4	3	2	3,50
UFV-9	3	4	3	2	2	2	2,67
UFV-15	2	-	3	2	2	2	2,20

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

Tabela 39 - Reação das cultivares de soja ao oídio (*M. diffusa*) avaliadas pelo método da folha destacada, em experimento realizado em abril/1999. Ponta Prosa-PR.

Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>						Média
	1	2	3	4	5	6	
Bragg	1	3	3	2	3	3	2,50
BR-4	4	3	3	2	4	4	3,33
BR-16	5	5	5	5	5	5	5,00
BR-30	3	4	5	5	4	4	4,17
BR-36	1	1	2	1	0	1	1,00
BR-37	3	3	-	2	1	3	2,40
BR-38	1	0	1	1	1	1	0,83
BR/EMGOPA-314	1	1	2	1	1	1	1,17
BRS-133	3	1	2	3	2	2	2,17
CAC-1	3	3	2	3	1	3	2,50
Campos Gerais	3	5	4	4	4	3	3,83
Cobb	1	2	2	1	1	0	1,17
COODETEC 201	5	5	4	5	5	5	4,83
COODETEC 203	4	5	5	5	4	5	4,67
DAVIS	4	2	3	2	4	4	3,17
Doko	1	0	1	1	1	1	0,83
Dourados	1	0	0	2	2	2	1,17
EMBRAPA 1 (IAC 5 RC)	1	0	1	1	1	0	0,67
EMBRAPA 4 (BR 4 RC)	3	4	4	5	3	4	3,83
EMBRAPA 9 (Bays)	1	1	1	2	1	1	1,17
EMBRAPA 20 (Doko RC)	1	0	1	1	-	-	0,75
EMBRAPA 30	4	5	5	5	4	5	4,67
EMBRAPA 48	4	4	4	3	3	4	3,67
EMBRAPA 58	2	3	2	3	3	4	2,83
EMBRAPA 59	3	2	1	3	3	3	2,50
EMBRAPA 60	2	3	4	3	2	3	2,83
EMBRAPA 61	4	3	3	2	2	3	2,83
EMBRAPA 62	4	4	4	3	4	3	3,67
EMGOPA-302	2	3	3	3	3	1	2,50
EMGOPA-307	1	0	1	1	1	1	0,83

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar  
continua

Tabela 39 - (Continuação)

Cultivar	Repetições <sup>(a)</sup>						Média
	1	2	3	4	5	6	
EMGOPA-308	-	4	3	2	4	4	3,40
EMGOPA-315	0	1	1	2	1	1	1,00
FT-5 (Formosa)	1	1	1	1	2	1	1,17
FT-7 (Tarobá)	3	2	4	4	4	4	3,33
FT-9 (Inaê)	4	4	2	3	3	3	3,17
FT-10 (Princesa)	2	1	0	0	2	2	1,17
FT-12 (Nissei)	1	2	1	1	0	0	0,83
FT-18 (Xavante)	2	1	1	1	1	1	1,17
FT-101	0	1	1	0	1	1	0,67
FT-102	4	3	5	4	5	5	4,33
FT-103	3	4	3	2	2	2	2,67
FT-104	1	2	1	1	0	1	1,00
FT-106	3	4	4	3	3	-	3,40
FT-107	1	1	0	1	1	1	0,83
FT-108	4	5	4	3	3	4	3,83
FT-2000	2	1	1	2	2	2	1,67
FT-2005	4	5	4	4	4	4	4,17
FT-Abyara	4	5	5	4	5	4	4,50
FT-Cometa	2	2	3	2	2	2	2,17
FT-Cristalina	5	4	4	-	4	5	4,40
FT-Estrela	5	5	5	4	4	5	4,67
FT-Guaira	5	4	5	5	5	4	4,67
FT-Iramaia	4	2	3	2	4	4	3,17
FT-Jatobá	2	2	1	3	3	3	2,33
FT-Líder	5	4	4	5	5	5	4,67
FT-Manacá	3	2	3	4	4	4	3,33
FT-Saray	5	4	4	4	5	5	4,50
FT-Seriema	4	3	3	3	3	3	3,17
IAC-8	0	1	1	1	1	2	1,00

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

continua

Tabela 39 - (Continuação)

Cultivar	Repetições*						Média
	1	2	3	4	5	6	
IAC-12	2	1	1	2	-	1	1,40
IAC-15	0	1	1	2	0	1	0,83
IAC-16	3	1	3	2	3	3	2,50
IAC-17	1	1	1	1	1	2	1,17
IAC-18	1	1	1	1	1	1	1,00
IAC-19	1	0	0	1	1	1	0,67
IAC-100	0	1	1	1	0	1	0,50
IPAGRO 21	3	2	3	3	2	1	2,33
KI-S 801	1	1	1	1	2	1	1,17
MG/BR-42	2	2	-	1	0	1	1,20
MG/BR-46 (Conquista)	1	0	1	1	1	1	0,83
MS/BR-19 (Pequi)	0	0	1	1	2	1	0,83
M-SOY 6302	4	3	4	3	4	4	3,67
M-SOY 7101	1	0	1	1	1	2	1,00
M-SOY 7701	1	1	1	-	1	1	1,00
OCEPAR 4-Iguaçu	3	4	3	3	3	4	3,33
OCEPAR 6	1	3	3	2	3	3	2,50
OCEPAR 7-Brilhante	1	1	1	1	2	1	1,17
OCEPAR 8	0	1	-	-	1	1	0,75
OCEPAR 13	4	3	3	4	4	4	3,67
OCEPAR 14	5	5	4	4	4	4	4,33
OCEPAR 16	3	3	4	2	2	2	2,67
OCEPAR 17	5	4	4	4	5	4	4,33
OCEPAR 18	4	5	-	4	3	4	4,00
Paraná	5	5	4	4	4	5	4,50
RS 5-Esmeralda	1	0	1	1	1	1	0,83
RS 7-Jacuí	3	4	3	3	3	3	3,17
Santa Rosa	4	3	3	3	4	3	3,33
UFV-9	1	2	3	3	3	3	2,50
UFV-15	1	2	3	3	2	3	2,33

<sup>(a)</sup> Nível de infecção (NI) da área foliar

Tabela 40 – Observações metereológicas diárias, em Ponta Grossa-PR, no período de Setembro/2000 a Abril/2001. Ponta Grossa-PR, 2001

DIA	SETEMBRO			OUTUBRO			NOVEMBRO			DEZEMBRO		
	Máx. °C	Mín. °C	Prec. mm	Máx. °C	Mín. °C	Prec. mm	Máx. °C	Mín. °C	Prec. mm	Máx. °C	Mín. °C	Prec. mm
1	18.2	12.2	1.0	26.0	15.4	3.2	28.2	16.4	0.0	18.2	13.8	27.6
2	12.8	9.6	33.2	28.8	15.2	0.0	25.8	15.6	0.0	26.2	13.2	0.0
3	13.2	10.6	1.6	29.8	16.6	0.0	29.0	16.4	4.2	29.0	15.8	0.0
4	14.4	9.6	0.0	26.2	17.0	0.0	27.2	16.4	0.0	23.4	17.8	5.2
5	17.8	9.2	0.0	22.4	16.2	40.0	24.2	16.0	0.0	26.8	15.2	3.0
6	19.6	8.0	0.0	23.0	7.8	2.9	26.7	17.0	0.0	26.8	14.6	0.0
7	20.0	10.2	0.0	24.8	10.0	0.0	26.2	16.2	0.0	27.4	15.6	0.0
8	17.4	11.0	0.0	24.2	12.2	0.0	26.4	15.4	0.0	29.8	15.0	0.0
9	22.6	13.4	0.0	29.4	13.4	0.0	28.8	15.2	0.0	30.6	19.0	0.0
10	25.4	15.6	0.0	22.0	16.8	22.1	27.4	16.6	17.8	30.8	18.6	0.0
11	27.4	16.2	26.2	25.4	16.8	10.0	26.0	16.4	16.6	29.2	15.6	1.0
12	22.2	14.5	56.8	30.2	16.8	48.2	24.4	16.6	2.0	31.4	19.2	0.0
13	19.2	14.6	23.6	19.6	16.4	31.2	26.0	16.4	1.2	25.0	18.8	9.2
14	19.4	17.2	13.0	23.0	15.4	29.8	26.0	14.2	3.0	24.8	18.8	22.0
15	17.8	16.2	6.0	21.8	17.2	0.6	24.0	13.8	0.0	24.6	19.4	24.0
16	16.2	12.0	19.4	24.6	15.6	0.0	25.2	13.4	0.0	28.8	16.0	22.0
17	15.6	11.6	20.0	26.2	18.4	0.0	26.0	14.8	0.0	20.4	13.2	0.0
18	21.0	12.8	13.4	29.4	16.2	3.8	21.8	15.0	13.8	24.6	10.6	0.0
19	18.4	14.8	0.0	29.8	18.6	1.2	28.0	13.4	17.8	27.6	13.1	0.0
20	27.4	15.4	22.6	28.0	17.4	0.0	27.6	16.6	0.0	29.2	17.2	0.0
21	28.4	17.4	0.0	28.6	16.2	7.3	18.6	15.4	6.4	28.4	18.1	0.0
22	23.0	13.2	0.0	31.0	16.2	0.0	25.6	14.2	8.8	26.6	18.6	1.4
23	23.4	11.4	1.1	32.0	18.6	0.0	29.4	17.6	0.0	29.6	14.2	0.3
24	22.0	12.8	0.0	27.2	18.6	0.0	28.2	16.8	0.0	24.8	20.0	0.0
25	16.8	7.1	12.0	24.4	17.6	53.2	24.2	16.1	4.4	26.0	20.0	17.8
26	14.8	5.4	0.0	26.6	18.0	0.0	23.4	14.6	20.4	31.0	17.7	1.6
27	18.6	8.6	0.0	25.6	17.4	32.6	29.6	16.0	0.0	29.0	17.8	19.6
28	23.8	11.2	0.0	26.0	13.8	0.0	30.4	18.4	2.2	26.4	20.0	12.6
29	26.2	14.0	0.0	23.2	13.4	0.0	25.4	18.4	0.0	25.4	17.8	27.6
30	26.4	15.0	0.0	26.2	12.0	0.0	21.0	15.4	0.3	26.2	17.8	29.8
31				27.6	15.6	0.0				26.4	15.6	0.0
	20.3	12.4	249.9	26.2	15.7	286.1	26.0	15.8	118.9	26.9	16.7	224.7

continua

Tabela 40 – (continuação)

DIA	JANEIRO			FEVEREIRO			MARÇO			ABRIL		
	Máx. °C	Mín. °C	Prec. mm	Máx. °C	Mín. °C	Prec. mm	Máx. °C	Mín. °C	Prec. mm	Máx. °C	Mín. °C	Prec. mm
1	27.2	16.6	0.0	27.2	18.6	18.0	28.2	16.9	2.6	25.8	14.6	1.8
2	28.4	15.8	0.0	28.4	19.0	9.6	28.3	17.2	0.0	27.0	12.6	6.2
3	29.0	17.0	0.0	28.8	19.6	21.8	29.4	17.8	0.0	27.4	16.6	0.0
4	28.0	14.4	0.0	26.6	19.2	21.2	29.2	18.8	0.0	27.4	17.6	0.0
5	29.8	18.6	0.0	28.0	19.7	2.9	27.2	18.6	18.0	27.4	16.8	0.0
6	28.0	17.8	0.0	27.2	19.2	14.6	28.4	19.0	5.2	29.0	17.6	0.0
7	30.2	17.8	2.4	29.8	20.6	1.0	28.8	18.6	27.4	24.6	18.6	0.0
8	29.2	19.2	0.0	29.6	19.7	0.0	26.8	18.6	1.4	26.6	18.6	0.0
9	29.6	18.7	0.0	29.4	20.2	0.0	27.2	20.0	0.2	20.8	17.9	1.6
10	28.8	19.8	0.1	29.6	18.8	0.0	28.0	18.2	25.4	27.6	18.0	2.0
11	21.2	17.8	3.0	29.0	19.0	6.8	27.6	17.0	0.0	27.6	15.2	0.0
12	18.6	15.4	60.6	30.0	19.8	0.0	24.8	15.0	0.0	26.0	18.2	0.0
13	23.6	16.6	31.2	27.0	18.8	1.4	28.6	18.2	0.3	25.2	14.6	0.0
14	26.2	17.6	0.0	24.8	19.4	35.4	29.6	19.2	0.0	24.6	12.4	0.0
15	27.8	18.8	16.0	25.4	18.4	28.2	30.6	19.4	34.4	25.8	14.0	0.0
16	29.0	18.0	2.8	27.8	17.6	40.6	30.4	19.6	1.6	25.0	15.8	0.0
17	28.9	18.6	3.4	26.4	17.8	0.0	29.6	17.2	0.0	23.2	15.2	0.0
18	31.4	20.2	0.0	26.0	19.0	22.6	24.4	17.6	24.4	24.4	16.6	0.0
19	31.8	18.6	2.0	25.4	19.2	0.0	27.2	17.7	2.2	27.0	15.0	0.0
20	27.0	17.5	15.6	23.8	18.0	14.2	28.8	18.6	0.0	28.4	12.4	0.0
21	24.6	18.0	6.0	28.4	17.0	37.4	27.6	19.0	0.0	19.6	16.2	6.2
22	27.2	17.2	0.0	29.4	19.6	33.8	30.8	20.0	11.0	21.2	16.2	6.0
23	28.6	19.6	0.0	28.4	18.6	0.6	29.8	18.6	0.0	24.8	18.0	15.0
24	28.4	19.6	3.2	28.8	15.9	22.8	31.2	16.6	0.0	25.2	19.2	15.0
25	29.0	19.6	0.0	28.6	17.4	0.4	30.6	18.6	0.0	22.6	18.2	13.4
26	28.2	19.2	0.0	29.4	19.2	3.0	28.0	19.0	12.6	27.9	18.8	0.0
27	30.2	20.1	0.0	28.0	17.2	0.0	24.4	18.0	0.0	27.6	15.9	0.0
28	29.4	20.2	4.4	27.6	16.2	0.0	25.0	18.4	4.8	28.8	16.6	0.0
29	26.4	19.6	0.0				26.8	17.4	0.4	26.0	15.0	0.0
30	28.8	17.4	0.2				26.0	16.8	0.0	24.0	17.6	0.0
31	27.2	19.8	24.2				27.2	17.6	0.0			
	27.8	18.2	175.1	27.8	18.7	336.3	28.1	18.2	171.9	25.6	16.3	67.2

Fonte Estações Meteorológicas IAPAR/INEMET