

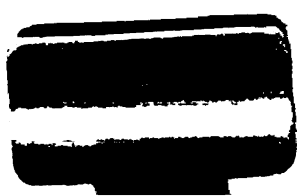
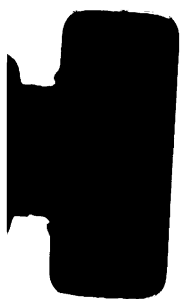
**PROGRAMA COOPERATIVO PARA LA PROTECCION Y
MODERNIZACION DE LA CAFICULTURA EN
MEXICO, CENTRO AMERICA Y PANAMA**

PROMECAFE

IICA CIDIW

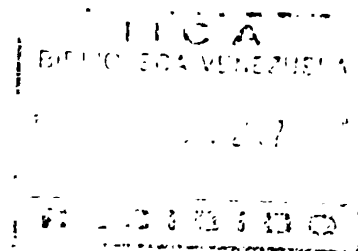
**INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y DE LA LUZ EN LA GERMINACION,
INFECTIVIDAD Y PERIODO DE GENERACION DE
Hemileia vastatrix Berk & Br.**

**Ramón Montoya
Geraldo M. Chaves**



**PROGRAMA COOPERATIVO PARA LA PROTECCION Y
MODERNIZACION DE LA CAFICULTURA EN
MEXICO, CENTRO AMERICA Y PANAMA**

PROMECAFE



**INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y DE LA LUZ EN LA GERMINACION,
INFECTIVIDAD Y PERIODO DE GENERACION DE
Hemileia vastatrix Berk & Br.**

**Ramón Montoya
Geraldo M. Chaves**



**ZONA NORTE
1981**

00000388

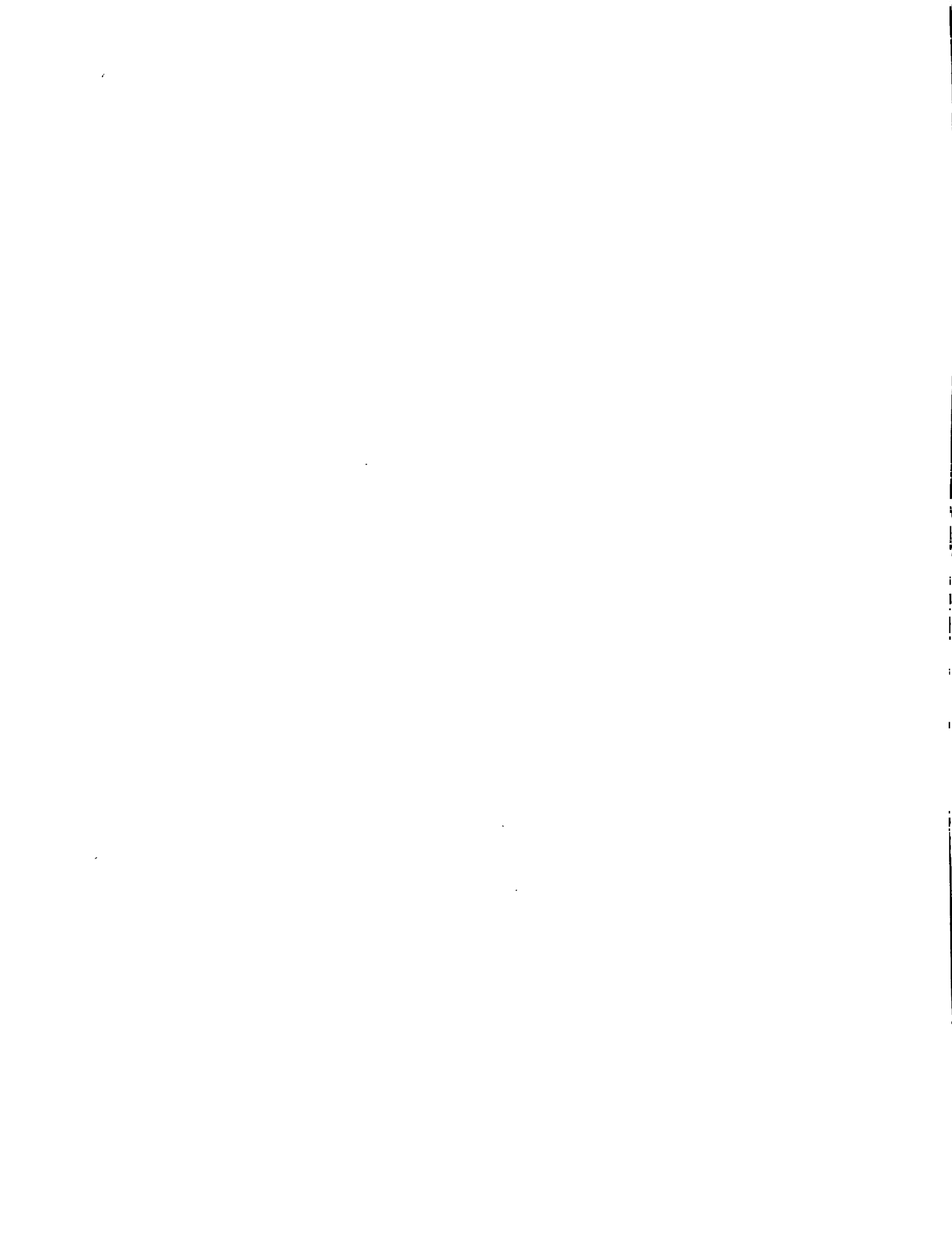
PRESENTACION

El combate eficaz de un organismo patógeno, requiere de un conocimiento profundo del organismo y de su comportamiento. Es por eso que los estudios epidemiológicos serios sobre la roya (Hemileia vastatrix Berk et Br.) han cobrado importancia entre nosotros, ahora que la enfermedad se ha extendido a varios países del área de PROMECAFE.

El trabajo que se presenta, fue realizado por el Ing. Montoya, bajo la supervisión del Dr. Chaves, como tesis, previo a optar el título de M.S. de la Universidad Federal de Vicosa, MG, Brasil. Se publicó en portugués y ha tenido poca circulación. Por esa razón, y continuando con nuestra política de dar a conocer a los técnicos de esta área los trabajos importantes que no les son accesibles, publicamos en esta oportunidad en español el resumen de esa tesis, seguros de que proporcionará mucha información útil, especialmente para aquellos directamente responsables del control de la roya.

Carlos Enrique Fernández
Jefe de PROMECAFE

San José, Costa Rica
Marzo, 1981



INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y DE LA LUZ EN LA GERMI-
NACION, INFECTIVIDAD Y PERIODO DE GENERACION DE Hemileia
vastatrix Berk & Br^{1/}

Ramón Montoya
Geraldo M. Chaves ^{2/}

1. INTRODUCCION

Conocida desde hace mucho tiempo en Asia y en Africa como una de las enfermedades más limitantes de los cultivos tropicales, la Roya del Cafeto (Hemileia vastatrix Berk & Br) fue constatada en el Brasil, por primera vez, en 1970 (18, 19). Su aparición despertó la atención no sólo en este país, como consecuencia de las graves pérdidas económicas que está causando, sino también en los demás países latinoamericanos cuya economía se fundamenta en la producción y exportación de café y que, ahora, se ve amenazada por la posible introducción de esta enfermedad en sus cafetales.

El conocimiento de los factores que gobiernan la epidemiología de la Roya constituye uno de los aspectos más importantes, ya que los factores climáticos envueltos, condicionan la distribución de la enfermedad, su incidencia y severidad de ataque. En muchos casos, las condiciones epidemiológicas son específicas para cada región. Por consiguiente, el estudio del comportamiento del patógeno con respecto a esas condiciones puede auxiliar en la comprensión de la ocurrencia de epifitias, en la eva-

^{1/} Parte de la tesis presentada por el primer autor a la Universidad Federal de Viçosa, como uno de los requisitos para la obtención del grado de "Magister Scientiae" en Microbiología Agrícola (Fitopatología).

^{2/} Ing. Agr. del Instituto Colombiano Agropecuario y Profesor Titular de la Universidad Federal de Viçosa.

luación del potencial de inóculo y, consecuentemente, permitir la aplicación de medidas de control más adecuadas.

La luz, la temperatura y la humedad son factores que desempeñan papel fundamental sobre el desarrollo del patógeno y la ocurrencia de la enfermedad, debido a que las alteraciones en las condiciones ecológicas afectan decisivamente el proceso de germinación, infección y período de generación (3, 4, 5, 9).

En el presente trabajo, se estudiaron los efectos de la luz y de la temperatura en el proceso de germinación y penetración del hospedero por el hongo, en un período de 24 horas, y su posterior influencia en el período de generación e infectividad. En el laboratorio se determinó la influencia de estos mismos factores en la terminación y alargamiento del tubo germinativo.

2. REVISION DE LITERATURA

Desde el siglo pasado se vienen publicando importantes trabajos sobre la biología de Hemileia vastatrix, aumentando considerablemente el conocimiento de aspectos relacionados con el proceso germinativo de los uredosporos, su período de generación y el grado de infección.

Ward, en 1882, citado por Chaves et al (2), publicó los primeros estudios sobre la biología del patógeno al investigar la influencia de condiciones ambientales en la germinación e infectividad de uredosporos sobre hojas de café. Observó que los esporos formados durante la estación húmeda germinaban completamente en 12-24 horas, mientras que aquellos formados al principio de la época seca necesitaban de varios días para ello, cuando se colocaban en contacto con gotas de agua. Constató, también, que el desarrollo de la enfermedad fue máximo al final del período lluvioso. Encontró asimismo que el período de generación variaba entre 10-16 días, siendo de 14 días el intervalo más frecuente. La esporulación comenzaba 1-4 días más tarde y podía continuar durante 7-16 semanas.

En 1889, Burk, citado por Saccas y Charpentier (16), afirmó por primera vez, que la luz fuerte inhibe la terminación "in vitro", y que los uredosporos necesitaban por lo menos de 2 1/2 horas en contacto con el agua para iniciar el proceso germinativo.

Mayne (5), en trabajos iniciados en 1930, relató que la luz natural inhibía la germinación de los uredosporos, no sólo "in vitro" sino también en hojas de cafeto. A pesar de todo, cuando la luz es débil y difusa no inhibe completamente la germinación. Ese autor enfatizó la importancia de la oscuridad nocturna en la máxima germinación. Mayne también determinó el período de incubación en hojas destacadas de cafeto, y observó que en la variedad 'Coorg' los síntomas iniciales de la enfermedad surgían 7-12 días después de la inoculación y, en la variedad 'Robusta', 20 días después. Los datos anteriores fueron confirmados por Roger (14), en 1951, cuando dijo además que el "período de incubación" variaba con la temperatura, la especie de hospedero y con la edad de las hojas.

Rayner (12, 13) profundizó en las investigaciones sobre efectos de la luz, la temperatura y la humedad en el proceso de germinación. Afirmó que los uredosporos requieren agua en estado líquido para la germinación, que ésta ocurre en un período medio de 2,6 - 4,7 horas a 23° C, sobre hojas de cafeto; a 25° C en 2,3 - 3,5 horas, habiendo sido nula la germinación a 26° C. La formación de apresorio se produjo en un período medio de 6,5 - 8,5 horas. La luz inhibió la germinación en condiciones de laboratorio y de campo; en este caso, el proceso es principalmente afectado por la rápida evaporación de las gotas de agua de la parte dorsal de la hoja durante el día. El autor concluyó que la germinación debe iniciarse casi inmediatamente después que los esporos entran en contacto con el agua y que, en la práctica, puede considerarse que el proceso se completa en 7-10 horas a 22° C.

Con relación a la influencia de las variaciones estacionales en el proceso de infección y en el "período de incubación", se notó que el intervalo más probable de que se produzca la infección es de las 22 horas hasta las 8 horas del día siguiente, si los árboles son mojados al anochecer, o, entonces, cuando llueve antes de la media noche. El "período de incubación" varió de 24-45 días, de acuerdo con la época del año, aumentando bajo condiciones de baja temperatura y períodos secos. Al contrario de otros investigadores que lo precedieron, Rayner no encontró evidencia de que la infección y el "período de incubación" fuesen afectados por la edad de las hojas, pero sí por la raza del patógeno y la variedad del cafeto.

Nutman y Roberts (8, 9) realizaron varios ensayos sobre la influencia de la luz y la temperatura en la germinación y "período de incubación". Observaron que la germinación sólo ocurre en la presencia del agua en estado líquido, tanto en la oscuridad como bajo la luz de baja intensidad. En condiciones de laboratorio sobre medio de agar al 2%, la germinación fue óptima a 22° C, y mínima a las temperaturas extremas de 15,5 y 28° C. Por primera vez determinaron que a 10 lux (baja intensidad luminosa) ocurría considerable germinación; con todo, siempre menor que en la completa ausencia de luz. Constataron que condiciones de baja iluminación pueden estimular el inicio de la germinación a temperatura por debajo de la óptima. En discos de hojas, la temperatura óptima para la germinación y formación de apresorio fue de 21° C. Demostraron que las relaciones entre la temperatura y la germinación, y entre la temperatura y la formación de apresorio, mostraban tendencia bimodal. De este modo, la proporción de esporos viables que forman apresorios aumentó de forma lineal en relación al tiempo y fue afectada de manera bimodal; a temperaturas próximas de 24° C, la germinación de esporos, formación de apresorios y proporción de esporos viables que formaron apresorios decrecían en discos de hojas pero no en agar. Parece, por lo tanto, que la temperatura debe afectar la hoja estimulando la germinación de esporos a dos temperaturas (21° C y 25,5° C) o, más probablemente, inhibiéndola a 24° C. Pre-exposiciones de los uredosporos a bajas temperaturas de 15 a 17° C por varios períodos, antes de llevarlos a temperatura óptima, estimularon la germinación, y ese estímulo fue proporcional al tiempo de pre-exposición.

Otro factor estudiado fue la concentración de esporos viables que causaban infección mediante la formación de apresorio y penetración directa. Con 150 esporos por gota de inoculación, obtuvieron 90% de infección, siendo mínima o nula con 10-20 esporos por gota. A 22° C, durante 24 horas, el 24% de los esporos germinados formaron apresorio sobre los estomas, y 14% penetraron directamente.

El período de incubación varió con el tiempo de exposición a la temperatura óptima. En algunos casos, obtuvieron lesiones sobre hojas con exposiciones de 3 1/2 horas, a temperatura de 22° C, y la frecuencia

aumentó con exposiciones de 12 horas. Con períodos de exposición a la temperatura óptima, a la oscuridad, durante 5 horas, el porcentaje de infección fue ligeramente más bajo que en luz difusa (10 lux). Sin embargo, con 12 horas de permanencia en oscuro, la infección se incrementó casi al doble.

Hocking (3), continuando los estudios sobre la influencia de la luz sobre la germinación e infección, en discos de hojas, encontró que una intensidad luminosa superior a 2,5 f.c. (21,5 lux) redujo fuertemente la germinación y el desarrollo de lesiones, aunque hubiese algunos esporos que germinaban bajo una intensidad de 10 f.c. (100,7 lux).

La duración del período de oscuridad para obtener el máximo fue de por lo menos 4 horas, sin embargo, para una infección máxima, fue necesario un período de 9 horas. Exposiciones previas de los esporos a una fuerte intensidad luminosa, por espacios superiores a dos horas, presentaron efecto inhibitorio progresivo en la germinación. Este efecto permaneció aproximadamente igual, durante 2 a 8 horas de exposición.

Saccas y Charpentier (16), en 1971, presentaron los trabajos más amplios sobre la influencia de la luz, temperatura y humedad en la germinación "in vitro", comparando las observaciones con lo que puede ocurrir en el campo. Los resultados pueden ser así resumidos:

1. Temperatura: Los uredosporos colocados tanto en gota pendiente como en contacto con una película de agua pueden germinar en un intervalo de temperatura de 20-28° C, siendo que en un intervalo entre 22-24° C se sitúa el óptimo.

2. Humedad: El porcentaje de germinación de los esporos y el vigor y desarrollo del tubo germinativo fueron mucho mayores cuando los uredosporos a la temperatura óptima, estaban en contacto con la película de agua. En gota pendiente, en algunos casos, la germinación llegó a ser interrumpida. Los autores concluyeron que, en la naturaleza, las lluvias de baja intensidad y a intervalos que humedecen las hojas durante varias horas son especialmente propicias para la germinación e infección, sobre todo si las temperaturas nocturnas y matinales varían entre 17-25° C.

3. Luz: Bajo óptimas condiciones de temperatura y humedad, la luz representa un marcado efecto inhibitorio de la germinación. Cuando se alternan la luz y la oscuridad, la germinación se efectúa sobre esta última condición. La luz inhibe la germinación, el crecimiento del tubo germinativo o ambos. En condiciones de óptima germinación, los autores observaron que la hifa de infección puede ser vista entre 12 a 14 horas, después de la inoculación de fragmentos de hojas. En el campo, el "período de incubación" fue estimado en 18 a 24 días, para la aparición de las primeras lesiones.

3. MATERIAL Y METODOS

3.1 Recolección y Almacenamiento de Inóculo

Como fuente de inóculo fueron utilizadas hojas de cafeto con pustulas uniformes, evitándose al máximo aquellas contaminadas por organismos hiperparásitos o infestadas por ácaros.

Los uredosporos fueron recogidos mediante el empleo de un colector metálico tipo "ciclón", accionado por un pequeño compresor al vacío. A fin de conseguir mejor uniformización y homogenización de inóculo y eliminar algunas impurezas provenientes de la recolección inicial, los uredosporos fueron pasados varias veces, consecutivamente, por un tamiz de 100 mesh (15). Los uredosporos, para la preservación de su viabilidad, fueron acondicionados en cápsulas de gelatina Park Davis no. 00 y éstas, en tubos de vidrio de 7 x 2 cm. Estos tubos, a su vez, fueron colocados en el interior de frascos de 10 x 5 cm, conteniendo una solución de ácido sulfúrico al 32,6% que proporcionaba humedad relativa de 50% (20). El conjunto permaneció en refrigeración a 5° C.

3.2 Evaluación de la Germinación sobre Plántulas de Cafeto

En ensayo de germinación de los uredosporos del organismo sobre hojas de cafeto se realizó en plantas de 4 meses de edad, de la variedad 'Catuaí', trasplantadas a latas de 1 litro. Se inoculó el primero o segundo par de hojas tiernas bien desarrolladas. El volumen de inóculo fue calculado de tal manera que, 1/3 de la cápsula, aproximadamente, era suficiente para inocular 24 hojas de 12 plantas, correspondientes a cada tratamiento.

Se adoptó la técnica de inoculación recomendada por Oliveira (10), que consiste en distribuir los uredosporos con un pequeño pincel en la parte inferior de las hojas. En seguida, las hojas de toda la planta fueron atomizadas con agua destilada, levemente en la superficie inferior, y abundantemente en la superior, usándose un De Vilbiss no.15. Después, se irrigó la planta y se recubrió la superficie del suelo con papel periódico humedecido. Las plantas fueron cubiertas con un saco plástico transparente apropiado sobre una estructura de alambre que evitara el contacto directo del plástico con las hojas. Finalmente, ellas fueron colocadas sobre platos con agua, incubadas, durante 24 horas, en cámaras con control de luz y temperatura.

Las cámaras utilizadas, Forma Scientific modelo 24, fueron divididas en dos compartimientos, superior e inferior, bajo las mismas condiciones de luz y temperatura y con capacidad para 6 plantas.

Después de 24 horas de incubación de cada tratamiento, las plantas fueron retiradas de la cámara y, al acaso, se tomaron 6 para evaluación del poder germinativo y 6 para evaluación del período de generación e infectividad en condiciones de estufa, con temperaturas que variaron entre 20-30° C y humedad relativa entre 60-90%.

Para evaluación del poder germinativo, se utilizó el método de celoidina descrito por Caldwell y Stone (1) y Shipton (17), con algunas modificaciones. Se empleó el Collodion Flexible U.S.P. de la J.T. Baker Chemical Co. de los EE.UU. El procedimiento consistió en depositar tres capas de 1,5 x 0,5 cm en cada mitad de la hoja. Después de 5 minutos, cada capa era sacada de la superficie de la hoja, con ayuda de aguja y pinza, y colocada en lámina de observación al microscopio con contraste de fase en el aumento de 400X. En cada mitad de la hoja, se contaron 300 esporos y el promedio de las dos mitades fue expresada en porcentaje de germinación por repetición.

3.3 Período de Generación

Para evaluar el período de generación, fue seguido el método visual, acompañado del desarrollo de los síntomas, a partir de los 14-16 días después de la inoculación. El período de generación fue expresado por el número

de días, a partir de la inoculación, necesarios para que cerca del 50% de las lesiones esporulasen.

3.4 Pruebas de Infectividad

El grado de infectividad fue evaluado por el conteo del número total de pústulas por hoja, hecha al final de los ensayos y antes de que las pústulas coalescieran.

3.5 Descripción de Tratamientos

3.5.1 Efecto de varias temperaturas, durante 24 horas en la oscuridad, sobre la germinación de uredosporos, la infectividad y el período de generación de H. vastatrix

Las temperaturas en el interior de las cámaras fueron reguladas para 18, 20, 22, 24 y 26° C. Cada temperatura fue un tratamiento, y cada hoja inoculada, una repetición. Se utilizaron 12 repeticiones por tratamiento. Para el análisis estadístico, fueron consideradas 11 repeticiones, en razón de la pérdida de una de ellas en algunos tratamientos.

El delineamiento experimental fue enteramente al acaso; los datos de germinación, para efecto del análisis estadístico, fueron transformados para $\arcsen \sqrt{\%}$, los correspondientes al período de generación transformados para raíz cuadrada de número de días, y aquellas de infectividad para raíz cuadrada de número de pústulas adicionadas de 0,5.

3.5.2 Efecto de intervalos iniciales de exposición a la oscuridad, durante 24 horas a 24° C, sobre la germinación de uredosporos, la infectividad y el período de generación de H. vastatrix

Del experimento anterior, se determinó 24° C como la temperatura óptima para germinación. Este experimento fue establecido con la finalidad de determinar cuál es el efecto de esa temperatura combinada con varios períodos iniciales de oscuridad seguidos de luz durante 24 horas, sobre la germinación y cuál es la manifestación sobre el período de generación y la infectividad.

Los períodos de permanencia de los uredosporos en la oscuridad fueron de 4, 8, 12, 16, 20 y 24 horas. Se completaron las 24 horas con exposiciones de luz. Cada binomio oscuridad-luz constituyó un tratamiento con 12 repeticiones. Para el análisis estadístico, fueron consideradas 8 repeticiones por tratamiento.

3.5.3 Efecto de exposiciones iniciales a la luz, a 24° C, durante 24 horas, sobre la germinación de uredosporos, la infectividad y el período de generación de H. vastatrix

La técnica y el análisis estadístico del ensayo fueron similares al anterior, con la diferencia de que la exposición a la luz fue hecha al principio, en cada tratamiento

3.6 Prueba y Evaluación de la Germinación sobre Agua-Agar al 2%

En el laboratorio, la prueba de germinación de uredosporos se efectuó en agua-agar al 2% contenido en placas plásticas de Petri, sobre el cual fue esparcida, con ayuda de un pincel, una suspensión de uredosporos en la concentración de 0,5 mg/ml, siguiendo el método empleado por Romeiro (15) y Zambolim (20). Cada placa fue dividida en dos mitades, siendo cada mitad una repetición. Las placas fueron incubadas en las cámaras de control de temperatura, durante 24 horas. Al término de ese período, se procedió al conteo en el microscopio bajo un aumento de 100X, de 300 uredosporos por repetición.

La evaluación de la longitud del tubo germinativo fue hecha mediante la utilización de la ocular micrométrica, calculándose el factor para un aumento de 100X. Fueron hechas 100 lecturas en cada tratamiento.

Las temperaturas utilizadas en los ensayos para evaluación en agua-agar al 2%, de la germinación y de la longitud del tubo germinativo fueron idénticas a las utilizadas para mudas de cafeto. Igualmente, los intervalos de exposición a la oscuridad y a la luz fueron también similares, sin embargo, la temperatura óptima considerada fue 22° C.

3.7 Medición de la Intensidad de la Luz

Para conocer la intensidad de la luz empleada en los experimentos anteriores, se hicieron varias determinaciones en el interior de los compartimientos de la cámara de incubación. Cada compartimiento estaba equipado con dos lámparas fluorescentes, a base de Argon y Mercurio, colocadas en la parte superior, a una distancia de 35 cm de la copa de las plantas. Las lecturas obtenidas con Luxímetro AEG Tipo UM fueron las siguientes:

Nivel 0 (Nivel del piso)	Base de la planta (15 cm de altura)	Copa de la planta (35 cm de altura)
1.550 lux	1.860 lux	2.500 lux

Cada dato es el promedio de 5 lecturas.

Los datos obtenidos en el campo fueron tomados en un cafeto de 2,20m de altura, de la colección de variedades del Departamento de Fitotecnia, ESA, a una altitud de 651 m y a una latitud de 20° 45' .

Las observaciones fueron hechas en los días 8 y 10 de marzo de 1974, correspondiendo a días nublados y de sol, respectivamente.

Los resultados obtenidos se encuentran condensados en el cuadro 1.

Cuadro 1. Intensidad luminosa, expresada en lux, medida en cafeto con 2,20 m de altura. Vixosa, MG, marzo de 1974

Hora de Lectura	Día nublado*			Día de sol*		
	Nivel del suelo	Parte media	Copa	Nivel del suelo	Parte media	Copa
9:30 a 10:00	2.940	4.250	5.662	27.250	44.400	63.000
12:30 a 13:00	1.882	2.800	3.880	18.000	49.500	74.000
15:30 a 16:00	1.750	1.995	2.950	5.800	10.500	23.500

* Representan promedios de 5 lecturas

4. RESULTADOS

4.1 Efecto de varias temperaturas, durante 24 horas, en la oscuridad, sobre la germinación de uredosporos, la infectividad y el período de generación de H. vastatrix

Los datos originales y transformados referentes a la prueba de germinación período de generación e infectividad, se encuentran en el Cuadro 2. La curva de la Figura 1 muestra la variación de la germinación con las temperaturas empleadas.

Se verifica que la germinación alcanza su punto máximo alrededor del tratamiento a 24°C; de acuerdo con la ecuación, está localizada en 23,7°C; donde el porcentaje de germinación fue de 29,2%. Del mismo modo, el punto mínimo de germinación sería encontrado a temperaturas inferiores a 18°C, esto es, fuera de los intervalos utilizados, pero que no permite una extrapolación en razón de haber peligro de no conseguir datos concretos con este tipo de polinomios.

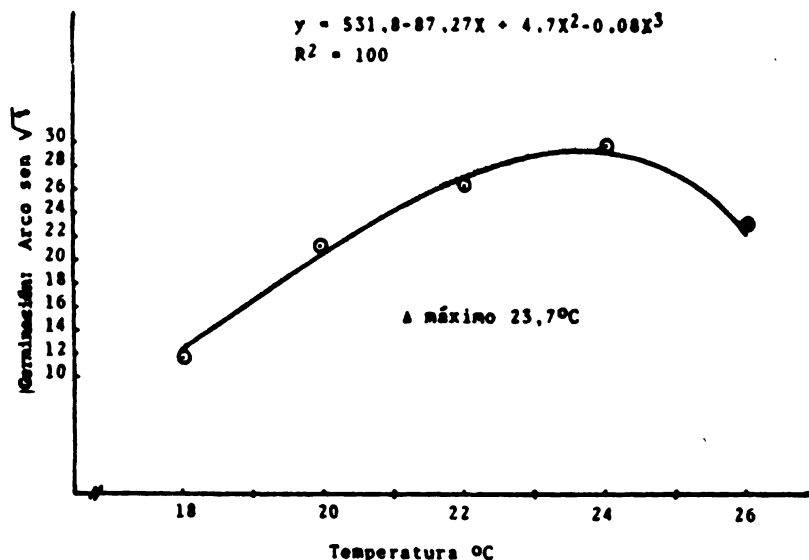


Figura 1. Efecto de la temperatura sobre la germinación de uredosporos de H. vastatrix mantenidos 24 horas, a la oscuridad, en plántulas de café.

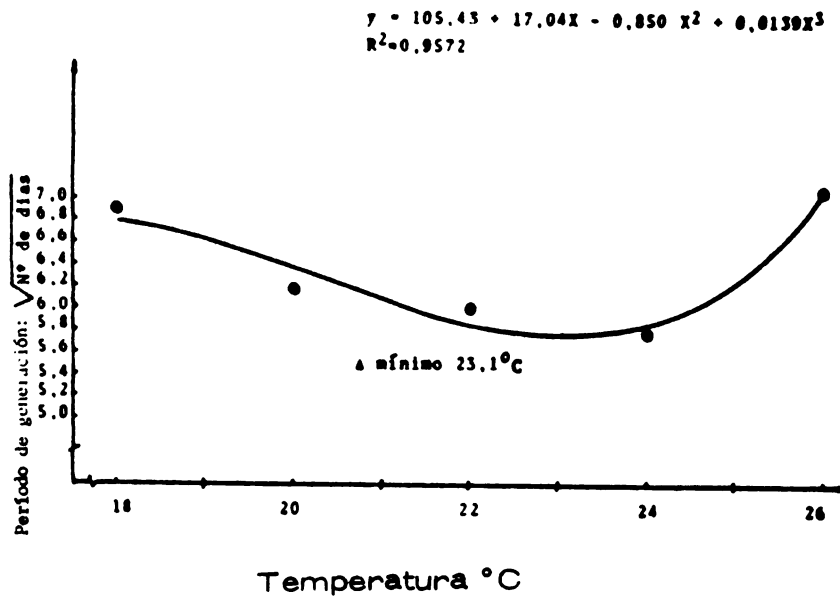


Figura 2. Correlación entre la temperatura de incubación de uredosporos en plántulas de cafeto y el período de generación de H. vastatrix. Incubación en la oscuridad durante 24 horas.

Cuadro 2. Efecto de varias temperaturas, durante un período de 24 horas en la oscuridad, sobre la germinación de uredosporos, la infectividad y el período de generación de H. vastatrix. Promedios de 11 repeticiones. Viçosa, MG, 1974.

Tempe- ratura	Germinación		Período generación días = x		Infectividad	
	%	arcsen $\sqrt{\%}$	x	\sqrt{x}	x	$\sqrt{x + 0.5}$
° C	%	arcsen $\sqrt{\%}$	x	\sqrt{x}	x	$\sqrt{x + 0.5}$
18	4,50	12,00	47,36	6,86	12,50	3,49
20	12,41	20,84	38,25	6,18	32,20	5,57
22	20,25	26,68	36,83	6,05	41,80	6,49
24	23,66	29,17	33,58	5,78	47,10	6,98
26	15,50	22,76	50,00	7,07	9,30	3,04

CV: 14,34

CV: 3,23

CV: 23,90

La Figura 2 muestra la variación del período de generación con la temperatura. La curva, a partir de los 18°C, comienza a descender lentamente, hasta un mínimo en 23°C, donde el período de generación llegó a 33,4 días. Los valores extremos muestran que cuando los esporos estuvieron durante la germinación a la temperatura de 18°C, el período de generación fue de 47 días, aproximadamente, mientras que a 26°C el período se extendió hasta 50 días.

La curva de infectividad (Figura 3) crece a partir de los 18°C, hasta un máximo en 23,1°C, que corresponde a 50 pústulas por hoja, aproximadamente. A partir del máximo, la curva baja rápidamente, alcanzando el menor valor a 26°C, donde el grado de infectividad fue de 9,3 pústulas por hoja. Se encontró un coeficiente de correlación positiva y altamente significativo entre el poder germinativo y la infectividad ($r = 0,4884$) ($P > 0,05$).

4.2 Efecto de exposiciones iniciales a la oscuridad, durante 24 horas, a 24°C, sobre la germinación de uredosporos, la infectividad y el período de generación de H. vastatrix.

El cuadro 3 relaciona los datos referentes a la germinación de los uredosporos, el período de generación y la infectividad de H. vastatrix.

La Figura 4 muestra la variación de la germinación por los diferentes intervalos de exposición utilizados. En general, la curva indica que la germinación crece rápidamente a medida que aumenta el período de exposición a la oscuridad, hasta un máximo en 13 horas donde el valor fue de 24%. Sigue una fase estacionaria, y a partir de las 17 horas de exposición el porcentaje de germinación aumenta nuevamente, alcanzando el valor más alto, 29% cuando la exposición a la oscuridad fue total.

La curva de la Figura 5 muestra la variación del período de generación con los intervalos de exposición utilizados. Así se constata que en los valores intermedios de 8 a 16 horas de oscuridad, el período de generación varió muy poco, y es precisamente en este intervalo que se encuentra el máximo y el mínimo, localizados en 11 y 12 horas, correspondientes a un período de generación de 46 y 46,6 días. Las variaciones más evidentes son mostradas en

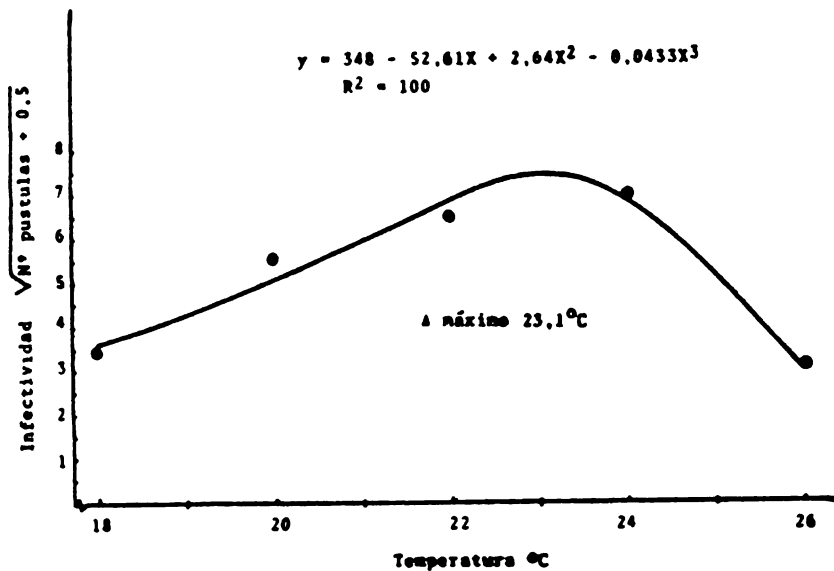


Figura 3. Correlación entre la temperatura de incubación de uredósporos en plántulas de café y el grado de infectividad de H. vastatrix. Incubación a la oscuridad durante 24 horas.

los extremos de la curva. Con pocas horas de exposición a la oscuridad, el período de generación se elevó para 49,1 días, mientras que en la oscuridad total el período fue reducido a 33,5 días. La Figura 6 muestra el efecto que varios intervalos iniciales de exposición a la oscuridad, durante el proceso de germinación tienen sobre la infectividad. Analizando la Figura 6 y el Cuadro 3, se determinó que la máxima infectividad ocurre cuando el tiempo de exposición a la oscuridad llegó a 10,3 horas y el mínimo en 15,7 horas; en este intervalo, sin embargo, la variación del grado de infectividad fue prácticamente nula, pues los valores obtenidos fueron de 16 y 15,3 pústulas, respectivamente. Los valores extremos indican mayor variación de la infectividad, ya que con 4 horas de exposición a la oscuridad, el valor fue de 9,6 pústulas y con plena oscuridad, durante 24 horas, se elevó a 47,1 pústula por hoja.

La correlación de la germinación con la infectividad fue positiva y significativa con un valor de $r = 0,872096$, ($P > 0,05$).

Cuadro 3 Efecto de exposiciones iniciales a la oscuridad, durante un período de 24 horas, a 24°C, sobre la germinación de uredosporos, la infectividad y el período de generación de H. vastatrix. Medias de 8 repeticiones. Viçosa, 1974.

Temperatura °C	Germinación		Período generación días = X		Infectividad Pústula/hoja = x	
	%	$\arcsen \sqrt{\%}$	x	\sqrt{x}	x	$\sqrt{x + 0,5}$
4	6,00	13,98	49,40	7,07	9,60	2,57
8	14,50	22,27	49,10	6,95	16,00	4,32
12	19,00	22,23	46,00	6,80	9,40	3,36
16	19,50	26,12	46,60	6,77	15,33	4,26
20	17,70	23,31	44,83	6,60	15,95	4,56
24	23,66	29,20	33,58	5,80	47,10	7,00
	CV: 12,95		CV: 3,41		CV: 35,22	

4.3 Efecto de las exposiciones a la luz, por un período de 24 horas a 24°C, sobre la germinación de uredosporos, la infectividad y el período de generación de H. vastatrix.

En el Cuadro 4, se relacionan los resultados referentes a germinación de uredosporos, el período de generación y la infectividad de H. vastatrix.

La curva de la Figura 7 muestra que la germinación de los uredosporos disminuyó a medida que aumentaba el período de exposición inicial a la luz. La pendiente negativa indica la tasa de crecimiento negativa de la germinación a lo largo de los intervalos de luz utilizados. El más alto porcentaje de germinación, 14%, fue alcanzado con un período de exposición de 4 horas de luz y 20 de oscuridad; y las más baja, 9,9%, cuando se suministraron 24 horas continuas de luz.

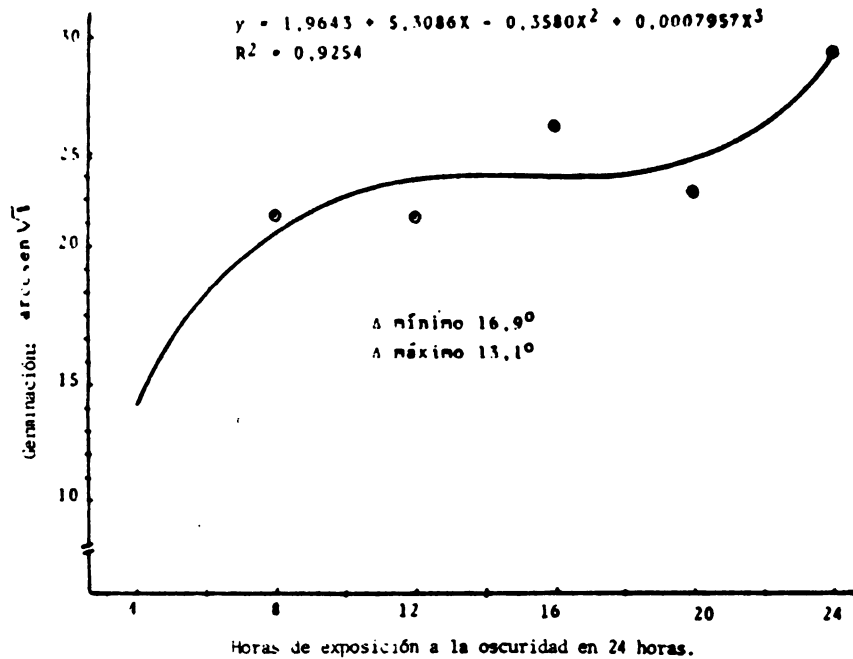


Figura 4. Efecto de la exposición inicial a la oscuridad, durante 24 horas a 24°C, sobre la germinación de uredosporos de H. vastatrix en plántulas de cafeto.

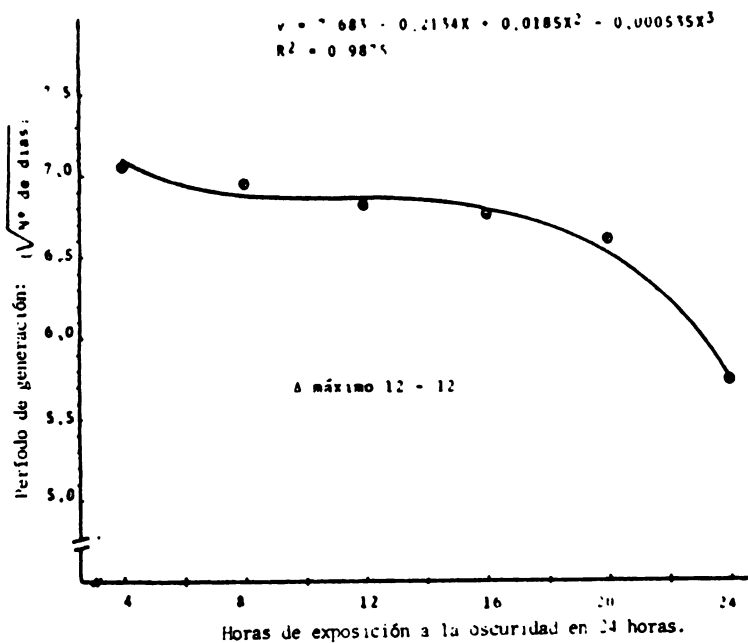


Figura 5. Efecto de la exposición inicial a la oscuridad durante 24 horas a 24°C, sobre el período de generación de H. vastatrix, en plántulas de café.

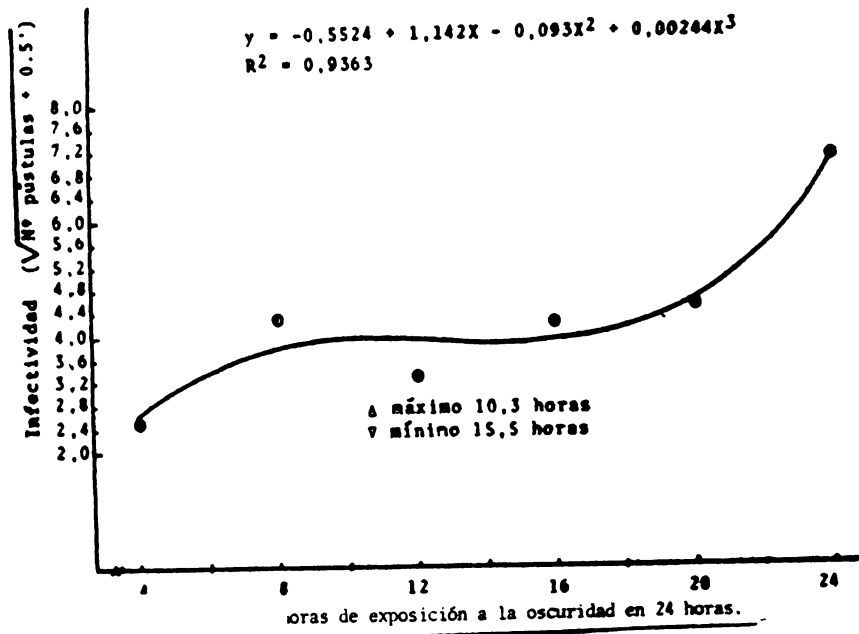


Figura 6. Efecto de exposiciones iniciales a la oscuridad, durante 24 horas, a 24°C, sobre el grado de infección de H. vastatrix en plántulas de café.

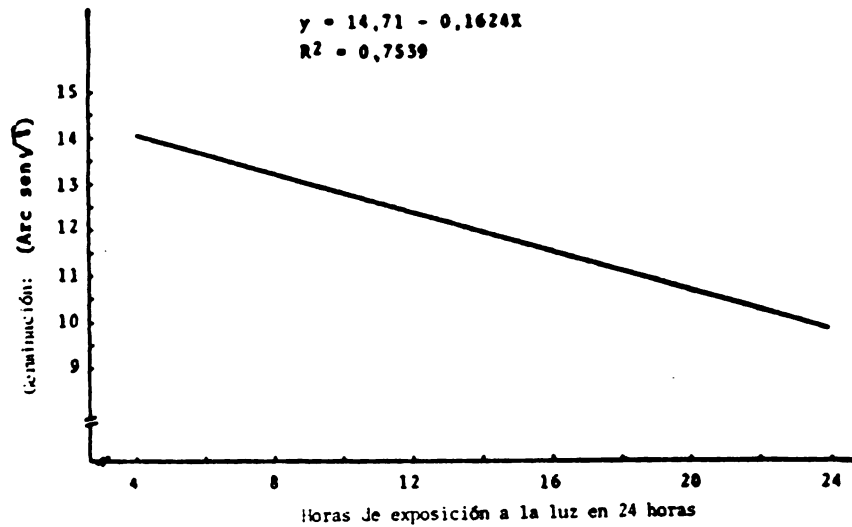


Figura 7. Efecto de exposiciones iniciales a la luz, durante 24 horas, a 24°C, sobre la germinación de uredosporos de H. vastatrix, en plántulas de café.

Cuadro 4. Efecto de exposiciones iniciales a la luz, durante 24 horas, a 24°C, sobre la germinación de uredosporos, la infectividad y el período de generación de *H. vastatrix*. Medias de 8 repeticiones. Viçosa, MG, 1974

Exposición a la luz	Germinación		Período generación Días = x		Infectividad	
	Horas	% arcsen $\sqrt{\%}$	x	\sqrt{x}	Pústula/hoja = x	
					x	$\sqrt{x + 0,5}$
4	6,00	14,10	42,10	6,49	9,30	3,30
8	6,10	13,57	48,00	6,92	9,75	2,88
12	3,92	11,18	50,60	7,11	6,92	2,75
16	5,83	13,61	44,80	6,62	9,42	3,31
20	4,83	12,25	41,73	6,46	12,40	3,81
24	3,58	9,89	47,40	6,88	12,50	3,76

CV : 24,83

CV : 4,39

El efecto de períodos iniciales de exposición a la luz, seguidos de las respectivas exposiciones a la oscuridad, durante la germinación y su influencia posterior en el período de generación, se muestra en la Figura 8.

Puede verificarse que el período de generación comienza a aumentar con el tiempo de exposición a la luz hasta un máximo en 9,5 horas de luz, donde el período llegó a 49 días aproximadamente. A partir de este punto, el período de generación desciende hasta un mínimo en 20,5 horas de exposición a la luz, donde el período alcanzó 41,8 días, aproximadamente. A partir del mínimo, el período aumenta, cuando la exposición a la luz es total. Hubo un descenso considerable del período de generación, en los intervalos entre 9,5 - 20,5 horas de exposición a la luz. Los valores extremos muestran que con 4 horas de exposición a la luz, el período de generación fue de 42 días. No hubo diferencia significativa entre los tratamientos para la

determinación del grado de infactividad. La correlación del poder germinativo con el grado de infección tuvo un valor de $r = 0,2876640$, ($P < 0.05$), negativo y no significativo.

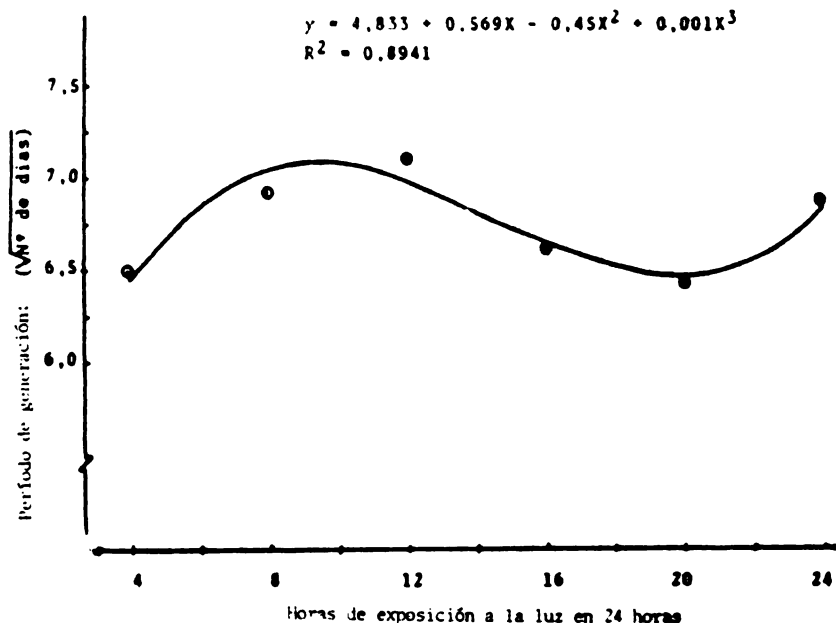


Figura 8 Efecto de exposiciones iniciales a la luz, durante 24 horas a 24 °C, sobre el período de generación de H. vastatrix, en plántulas de café.

- 4.4. Efecto de varias temperaturas durante 24 horas, a la oscuridad, sobre la germinación y longitud del tubo germinativo de uredosporos de H. vastatrix, en agar-agua al 2%.

El Cuadro 5 y la Figura 9 relacionan los valores de germinación y la longitud del tubo germinativo, con las temperaturas empleadas. Obsérvase que el más alto valor de germinación, 35%, fue obtenido a la temperatura de 22°C, y el más bajo a 18°C. Antes de los 22°C, el poder germinativo creció rápidamente. Después de 22°C, decreció lentamente hasta 24°C, para luego descender bruscamente, cuando la temperatura fue de 26° C.

Cuadro 5. Efecto de varias temperaturas, durante 24 horas a la oscuridad, sobre la germinación y la longitud del tubo germinativo de uredosporos de *H. vastatrix*, en agar-agua al 2%. Viçosa, MG, 1974.

Temperatura °C	Germinación * %	Longitud del tubo germinativo** (Micra)
18	12,21	169.03
20	17,30	250.50
22	35,00	482.70
24	28,60	565.72
26	15,80	582.90

CV: 18,90 (T: 5,20)

* Media de 12 repeticiones

** Media de 100 lecturas

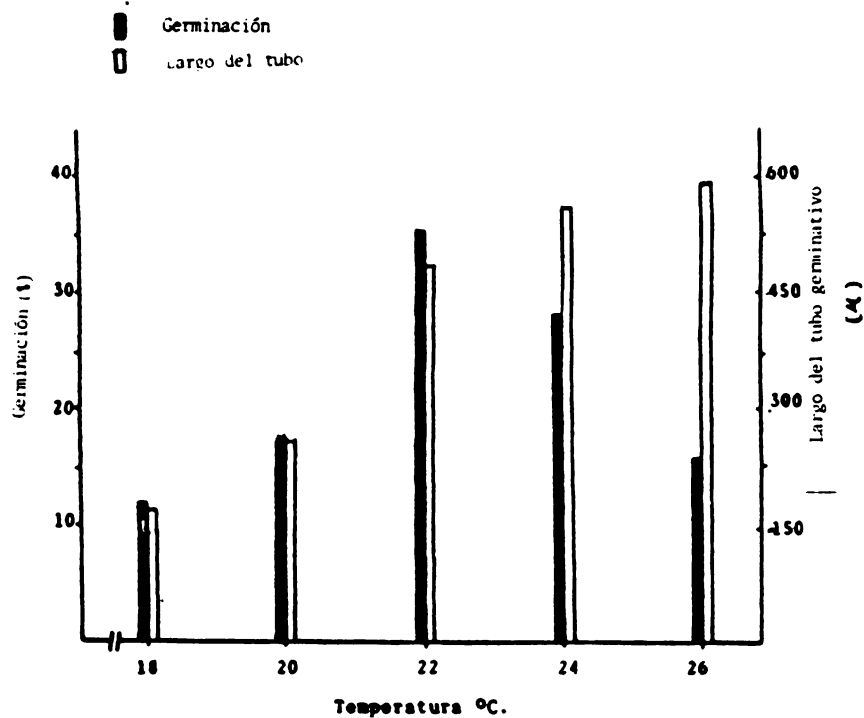


Figura 9. Efecto de la temperatura sobre la germinación y longitud del tubo germinativo de uredosporos de *H. vastatrix*, en agar-agua al 2%.

Para la longitud del tubo germinativo, la temperatura parece ejercer un efecto constante y creciente, alcanzando el más alto valor, 582,9 micra a 26°C . El menor valor, 169 micras, se encontró a 18°C.

4.5 Efecto de exposiciones iniciales a la oscuridad, durante 24 horas, a 22°C , sobre la germinación y longitud del tubo germinativo de uredosporos de H. vastatrix , en agar-agua al 2% .

El Cuadro 6 y la Figura 10 relacionan los datos referentes al porcentaje de germinación y a la longitud del tubo germinativo de los uredosporos, mantenidos a seis exposiciones iniciales a la oscuridad.

Cuadro 6 Efecto de exposiciones iniciales a la oscuridad, durante 24 horas a 22°C, sobre la germinación y longitud del tubo germinativo de uredosporos de H. vastatrix , en agar agua al 2% . Viçosa, MG, 1974

Tiempo de exposición a la oscuridad, horas	Germinación * %	Longitud del tubo germinativo**(Micra)
4	10,1	348 16
8	22,40	443,30
12	24,70	468 15
16	27,60	484,86
20	30,20	486 64
24	35,00	482 70

CV: 19,30 (T: 4,30)

* Media de 12 repeticiones ** Media de 100 lecturas

Puede observarse que la germinación aumentó a medida que aumentaron las horas de exposición a la oscuridad. El menor valor del poder germinativo ocurrió con 4 horas de exposición a la oscuridad, y el más alto en oscuridad total .

La longitud del tubo germinativo bajo el efecto de exposiciones iniciales a la oscuridad registró el mayor valor de 482 micras, en la oscuridad

total, y el menor, con exposiciones de 4 horas. En los intervalos entre 8 - 16 horas, los valores varían entre 443-484 micras, respectivamente.

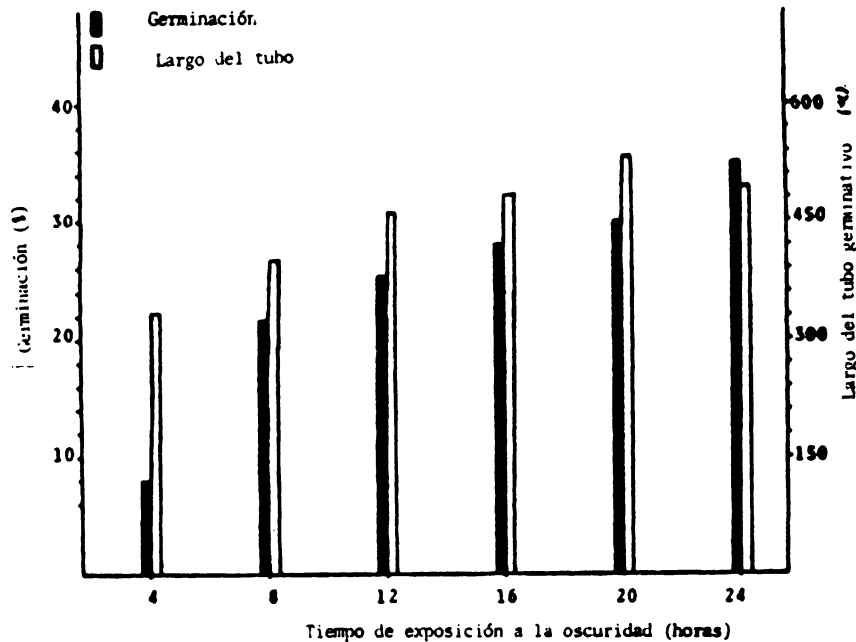


Figura 10. Efecto de exposiciones iniciales a la oscuridad durante 24 horas, a 22°C sobre la germinación y longitud del tubo germinativo de uredosporos de *H. vastatrix*, en agar-agua, al 2%.

4.6 Efecto de exposiciones iniciales a la luz, durante 24 horas a 22°C, sobre la Germinación y longitud del tubo germinativo de uredosporos de *H. vastatrix* en agar-agua al 2%.

El Cuadro 7 y la Figura 11 relacionan los datos referentes a germinación y longitud del tubo germinativo, cuando se emplearon perfiles iniciales de exposición a la luz, durante 24 horas.

Se observa que la germinación decreció siempre a medida que aumenta el tiempo de exposición a la luz. Esta disminución es aproximadamente lineal hasta una exposición de 16 horas, donde el valor fue de

Cuadro 7 Efecto de exposiciones iniciales a la luz, durante 24 horas, a 22°C , sobre la germinación y longitud del tubo germinativo de uredosporos de H. vastatrix en agar al 2%, Viçosa, MG, 1974.

Tiempo de exposición a la luz , horas	Germinación* %	Longitud del tubo germinativo ** (Micra)
4	17,00	473.70
8	14,20	403.00
12	13,80	398.73
16	9,30	397,80
20	9,10	368,80
24	9,10	368,80
24	8,40	304,50

CV: 56,30 (T : 3,20)

* Media de 12 repeticiones

** Media de 100 lecturas

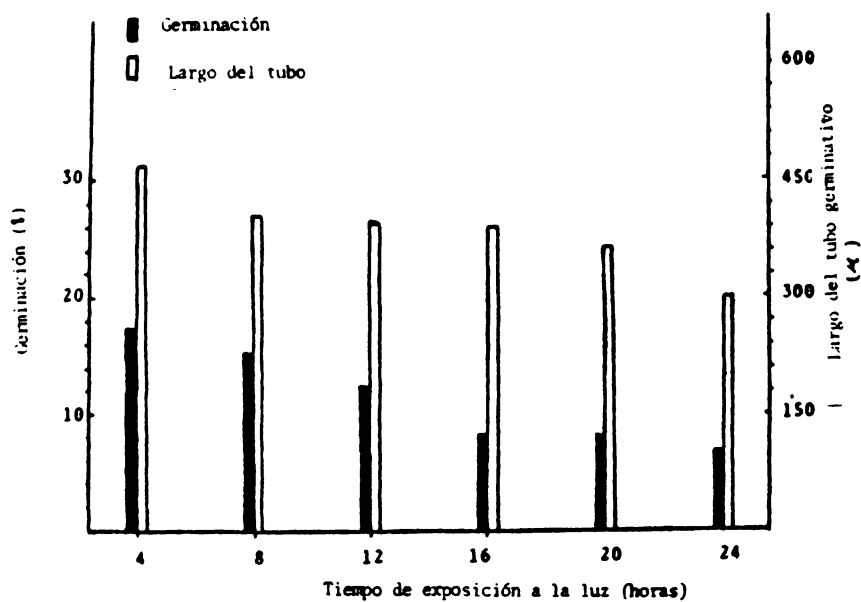


Figura 11. Efecto de exposiciones iniciales a la luz, durante 24 horas, a 22°C sobre la germinación y longitud del tubo germinativo de uredosporos de H. vastatrix en agar-agua al 2%.

9,3%. Período iniciales de exposición a la luz, superiores, no produjeron descensos significativos en el porcentaje de germinación.

Como la germinación, el alargamiento del tubo germinativo también decreció linealmente, a medida que aumentaron los períodos de exposición inicial a la luz. El mayor valor, 473 micras, se obtuvo con exposiciones de 4 horas, y el menor, 304 micras, a plena luz

5. DISCUSION

5.1 Ocurrieron diferencias significativas cuando se estudió el efecto ejercido por la temperatura sobre la germinación (Cuadro 2). La Figura 1 indica que las temperaturas por encima de la óptima (23,7°C) afectan más severamente la germinación que las temperaturas abajo del punto óptimo. Estas diferencias pueden ser explicadas en términos de velocidad del metabolismo relacionado con el proceso germinativo; esto es, a bajas temperaturas, como 18°C, el metabolismo fue lento, la temperatura óptima alcanzó el valor máximo, y a temperaturas comparativamente altas, como 26°C, las alteraciones metabólicas disminuyeron el poder germinativo.

La temperatura óptima de germinación (23.7°C) que se obtuvo está muy próxima de aquella relatada por Rayner (13) quien indicó que 23°C era la mejor temperatura para la germinación de los uredosporos sobre tejido vegetal. Por otro lado, la relación bimodal encontrada por Nutman y Roberts (8), quienes obtuvieron valores máximos en 21 y 25°C y un descenso en la germinación a 24°C, no fue registrada en este trabajo, como se ve por la disminución continua del porcentaje de germinación a partir del punto óptimo.

El intervalo de 33 a 50 días, encontrado para el período de generación concuerda con el que fue registrado por Rayner (12) que en condiciones de campo, observó intervalos de 32 a 45 días, siendo mayor cuando predominaban las bajas temperaturas.

La correlación entre el poder germinativo y el grado de infección fue positiva y altamente significativa (Figuras 1 y 3), coincidiendo con los resultados obtenidos por Zambolín (20), Nutman y Roberts (9) encontraron mayor número de lesiones en discos de hojas inoculadas con uredosporos expuestos a 23°C, durante la fase de germinación, y correlacionaron la infectividad con la proporción de esporas viables. Llegaron a la conclusión de que la penetración a través del estoma se efectúa principalmente previa formación del apresorio. Las observaciones hechas en este trabajo, sin embargo, son de que la formación de apresorio no es un requisito indispensable para la penetración, pues (a) puede aparecer en cualquier lugar de la epidermis y (b) la penetración por la abertura del estoma, en general, fue inmediata.

Existe una correspondencia entre las Figuras 1 y 3, que relacionan respectivamente, temperatura con el porcentaje de germinación e infectividad de uredosporos en plántulas de cafeto, y la Figura 2 que relaciona el efecto de la temperatura de incubación en el período de generación. Esto parece indicar que las condiciones que afectan el proceso germinativo, además de determinar un mayor o menor porcentaje de germinación, también ejercen influencia en el desarrollo del hongo en el tejido vegetal. Una explicación de cómo esos datos se relacionan es suministrada en el aparte 5.2. Sin embargo, esa dependencia del período de generación en relación al poder germinativo puede también tener relación con el vigor de la germinación. Las esporas que en condiciones óptimas de germinación desarrollan tubos germinativos vigorosos y bien ramificados, tendrán mejores oportunidades de penetración y colonización que los germinados en condiciones inadecuadas.

5.2 Las Figuras 4 y 7 confirmaron el efecto negativo de la luz y el efecto favorable de la oscuridad sobre la germinación de los uredosporos, como habían encontrado Nutman y Roberts (8) y Hocking (3). Además de esto, estos resultados mostraron que la ausencia de luz, como estimulante de la germinación, solamente fue efectiva cuando ocurrió al comienzo del proceso germinativo.

El estímulo de la germinación creció con las exposiciones iniciales de hasta 13 horas a la oscuridad (Figura 4). A partir de este punto hasta las 18 horas, hubo una fase estacionaria, para después continuar aumentando, hasta alcanzar un alto valor en la oscuridad total. Hocking (3) también encontró una fase estacionaria en la germinación con exposiciones entre 4 a 12 horas. Estos resultados indican que, en condiciones de campo, la mayor posibilidad de germinación se presenta para las esporas que alcanzan campos de infección poco antes del anochecer, permaneciendo en la oscuridad durante 10-11 horas hasta el amanecer, como fue sugerido por Mayne (5) y Rayner (13).

Como indica la Figura 6, el alto grado de infección fue obtenido con exposiciones iniciales de 8 a 12 horas a la oscuridad, concordando con los resultados de Hocking (3) que trabajando con discos de hoja, infirió que a 22°C era necesario una exposición de 13 horas para una máxima infección.

Las Figuras 5 y 6, de un lado, y la Figura 4, de otro, sugieren que a mayores porcentajes de germinación corresponden una mayor infectividad, e inversamente, un período de generación más corto. Esta relación, podría ser explicada, tal vez en términos de una colonización más completa de los tejidos foliares, como consecuencia de mejores condiciones verificadas durante la germinación. O sea, una mejor germinación resultaría en un mayor número de tubos germinativos penetrando en los tejidos. Por lo tanto, un mayor número de células es infectado más precozmente, lo que parece favorecer un período de generación más corto.

Esta hipótesis parece ser válida también para la relación verificada entre el período de generación y el grado de infectividad, con exposiciones iniciales a la luz (Figura 8). Cuando la germinación se efectuaba en condiciones adversas de luz y en bajo porcentaje, el patógeno demoraba más tiempo en colonizar y producir nueva generación (Figuras 7 y 8). Este experimento indicó también, que con la intensidad luminosa empleada durante la germinación alrededor de 1.800 lux, que corresponde, en el campo, a un día nublado (no hay luz incidiendo directamente sobre la superficie de la hoja) los uredosporos son capaces de germinar y causar algunas infecciones, aunque la aparición de las lesiones se demoraban más.

5.3 La germinación de los uredosporos en agar-agua al 2% conservó la misma tendencia encontrada sobre las plántulas de cafeto (Figuras 1 y 9). Sin embargo, los porcentajes de germinación a diferentes temperaturas fueron siempre mayores en el agar. Estas diferencias fueron más apreciables a las temperaturas alrededor del punto óptimo en agar-agua (22°C) que sobre las hojas del cafeto (23°C).

Es probable que las diferencias en la germinación sobre agar y sobre las hojas se deba a las condiciones de temperatura y humedad, pues, como factores primarios responsables de la germinación, actúan con mayor uniformidad y persistencia sobre agar que sobre las hojas. Al contrario de la germinación, el alargamiento del tubo germinativo aumentó siempre con la temperatura, dentro de los intervalos estudiados.

Saccas y Charpentier (16) determinaron la longitud del tubo germinativo a las temperaturas de 20, 22, 24 y 26°C obteniendo en promedio los valores de 140, 250 y 510 micras, respectivamente. Los resultados encontrados en estos trabajos concuerdan aproximadamente con aquellos datos.

5.4 La acción de las exposiciones iniciales de los uredosporos a la oscuridad o a la luz sobre la germinación en agar-agua, al 2%, mostró una tendencia similar a la encontrada en plántulas de cafeto (Figuras 10 y 11). En la exposición inicial a la oscuridad, la germinación creció a medida que aumentaron los períodos de oscuridad, significando que el proceso germinativo se efectúa en esta condición y que la luz los inhibe. Esa tendencia es similar para el crecimiento del tubo germinativo, sin embargo, el alargamiento prácticamente se completó con exposiciones de hasta 16 horas, ya que no hubo aumento significativo con mayores exposiciones.

Con exposiciones iniciales a la luz, este ensayo confirmó una vez más lo que se observó sobre plántulas de cafeto, hubo marcada disminución de germinación, y este efecto fue más acentuado con exposiciones más largas. El efecto negativo de la luz sobre la germinación

y sobre el crecimiento del tubo germinativo concuerdan, en parte, con los resultados obtenidos por Saccas y Charpentier (16), quienes verificaron que la luz de altas intensidades tenía efecto inhibitor sobre la germinación y el alargamiento del tubo germinativo. En este experimento, aunque no haya habido una disminución acentuada en la longitud del tubo germinativo, la reducción fue considerable (Figura 11).

6. CONCLUSIONES

1. En un período de 24 horas, exposiciones a las condiciones óptimas de temperatura y humedad, indujeron a una eficiente germinación y penetración del hongo en el susceptible y causaron alto grado de infección.

Se estimó en 23.7°C la temperatura óptima de germinación de los uredosporos sobre plántulas de cafeto de la variedad 'Catuai'. La reducción de la germinación fue más acentuada a temperaturas por encima que por debajo del punto óptimo. No se observó la relación bimodal de Nutman y Roberts (8).

2. El período de germinación y el grado de infectividad fueron efectivamente influenciados por la temperatura a que estuvieron expuestos los uredosporos en la fase de germinación. El grado de infectividad fue positivamente correlacionado con el porcentaje de germinación a las temperaturas estudiadas. Mayores porcentajes de germinación resultaron en períodos de generación más cortos.
3. A la temperatura óptima, con exposiciones a la luz o a la oscuridad, la germinación se efectuó esencialmente en esta última condición. La luz afectó negativamente el proceso germinativo, mientras que la oscuridad la estimuló, principalmente cuando se aplicó al comienzo.

4. Dentro de los intervalos estudiados, el alargamiento del tubo germinativo fue siempre creciente con el aumento de la temperatura, indicando que a algunas condiciones de temperaturas adversas a la germinación no lo son a la continuación del proceso germinativo, una vez iniciado.

7. RESUMEN

Con el fin de estudiar la influencia de la temperatura y de la luz en la germinación de uredosporos y sobre el período de generación y el grado de infección de H. vastatrix, se realizaron experimentos en invernadero y en el laboratorio de fitopatología de la Universidad Federal de Viçosa, Brasil

Para los experimentos sobre plántulas de café, se emplearon plántulas de la variedad 'Catuaí'. La inoculación se efectuó por el método de pincel sobre el par de hojas más nuevo, cuyo crecimiento ya había completado. Las plántulas se colocaron en cámaras de incubación durante 24 horas con luz y temperatura controladas.

Las temperaturas estudiadas fueron 18, 20, 22, 24 y 26 °C, y las exposiciones iniciales a la oscuridad y a la luz por 24 horas fueron 4, 8, 12, 16, 20 y 24 horas.

En la evaluación de la germinación en plántulas de café, se utilizó el método de la celoidina. Para la evaluación del período de generación y el grado de infección, las plántulas, después del tiempo de incubación, fueron transferidas a condiciones de invernadero. El período de generación fue evaluado por el tiempo necesario para que el 50% de las lesiones en la hoja esporularan. El grado de infección fue evaluado por el número de pustulas por hoja.

Los resultados mostraron que el proceso de germinación y penetración de H. vastatrix se realiza por completo en 24 horas y que la tem-

peratura y la luz que actúan en este período, afectan la infectividad y el período de generación.

Se estimó en 23,7°C la temperatura óptima de germinación sobre las plántulas de cafeto. El porcentaje de germinación disminuye continuamente a partir del punto óptimo, no habiendo sido observada la relación bimodal encontrada por Nutman y Roberts (8). El grado de infección fue positivamente correlacionada con el porcentaje de germinación, en las temperaturas estudiadas. El período de generación varió de 33 a 50 días y estuvo relacionada con el grado de infección.

A la temperatura óptima, exposiciones a la luz y a la oscuridad, mostraron que la germinación se produce principalmente en esta última condición. El grado de infección fue correlacionado positivamente con crecientes períodos de exposición inicial a la oscuridad. Dentro de los intervalos estudiados, el alargamiento del tubo germinativo siempre fue creciente con el aumento de temperatura, indicando que algunas condiciones de temperaturas adversas a la germinación no lo son a la continuación del proceso germinativo, una vez iniciado.

Sobre agar-agua al 2%, el efecto de la temperatura sobre la germinación fue semejante a lo observado en plántulas de cafeto, y la temperatura óptima fue evaluada en 22°C. Al contrario de la germinación, la del tubo germinativo aumentó con la temperatura. Los resultados confirmaron el efecto negativo de la luz sobre el proceso de germinación de los uredosporos; crecientes períodos de oscuridad estimularon la germinación sobre todo si anteceden a la exposición a la luz.

8. LITERATURA CITADA

1. CALDWELL, R.M. & STONE, G.M. Appressorium formation and penetration by leaf rust of wheat, Puccinia triticina, in relation to stomatal aperture. Phytopathology, St. Paul, Minn. 22(1): 5-6, 1932 (Abstr).
2. CHAVES, G.M.; CRUZ FILHO, J.; CARVALHO M.G.; MATSUOKA, R.; COELHO, D.T. e SHIMOYAC. A ferrugem do cafeeiro (H. vastatrix, Berk et Br.) . Revisao de literatura com observações e comentários sobre a enfermidade no Brasil. Selva, Viçosa, Edição Especial, (3):1-75. 1970.
3. HOCKING, D. Effects of light on germination and infection of coffee rust (Hemileia vastatrix). British Mycological Society, Transactions, Londres 51(1): 89-93, 1968.
4. LANCE, C.T. & KINGSOLVER, C.H. Importance of temperature control in studies of uredial infection with Puccinia graminis var. tritici on the leaf surface. Phytopathology, St. Paul, Minn. 44(9): 495. 1954. (Abstract).
5. MAYNE, W.W. Annual report of the coffee scientific officer, 1931-32 India, Mysore Coffee Experiment Station, 1932. 32 p. (Boletim N°7).
6. MEDERICK, F.M. & SACKSTON, W.E. Effects of temperature and duration of dew period on germination of rust urediospores on corn leaves. Canadian Journal of Plant Science, Ottawa, 52(4):551-7. 1972.
7. NARASINHASWAMY, R.L. La herrumbre del café (Hemileia) en la India. Café, Turrialba, 3(9): 41-9, 1961.
8. NUTMAN, F.J. & ROBERTS, F. M. Studies on the biology of Hemileia vastatrix Berk & Br. British Mycological Society, Transactions, Londres, 46(1):27-48, 1963.
9. _____ Coffee leaf rust. Pans, Londres, 16(4):606-21, 1970

10. OLIVEIRA, B. d' *As ferruções do cafeeiro*. Oeiras, Portugal: 1961. Rev. de Café Português, Separata nº 3, p. 39-61, 1958.
11. RAYNER, R.W. Spore liberation and dispersal of coffee rust (Hemileia vastatrix Berk, and Br.) *Annals of Applied Biology*, Londres, 49: 497-505, 1961.
12. _____. Germination and penetration studies on coffee rust (Hemileia vastatrix Berk, et Br.) *Annals of Applied Biology*, Londres, 49:497-505, 1961.
13. RAYNER, R.W. *Micología. historia y biología de la roya del cafeeiro*. Turrialba, IICA, 1972. 68 p. (Publicação Miscelânea N° 94).
14. ROGER, L. Phytopathologie des Pays Chauds. Paris, Paul de Chevalier, 1951, 3 v. v1.
15. ROMEIRO, Reginaldo da Silva. *Germinação e poder infectivo dos uredosporos de Hemileia vastatrix Berk, et Br. mantidos sobre diferentes productos vegetais e o susceptivel*. Viçosa, U.F.V., Imprensa Universitária, 1971. 41 p. (Tese de M.S.).
16. SACCAS, A.M. & CHARPENTIER, J. La rouille des cafeeiers due a Hemileia vastatrix Berk. et Br. Paris, 1971. I.F.C.C., 1971. (Bolletín N° 10).
17. SHIPTON, W.A. & BROWN, J.F. A whole-leaf clearing and staining technique to demonstrate host-pathogen relationships of wheat stem rust. *Phytopathology*. St. Paul, Minn. 52(12): 1313, 1962.
18. WALLER, J.M. *Coffee rust in Latin America*. Pans. Londres, 18(4): 402-8. 1972.
19. WELLMAN, F.L. The rust Hemileia vastatrix now firmly established on coffee in Brazil. *Plant Disease Reporter*, Washington (D.C.), 54(7): 539-41. 1970.

20. ZAMBOLIM, LAERCIO. Efeito de baixas temperaturas e do binómio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de H. vastatrix Berk et Br. e Uromyces phaseoli typica Arth. Viçosa, U.F.V., Imprensa Universitária, 1973. 52 p. (Tese M.S.).



**DOCUMENTO
MICROFILMADO**

Fecha: