

Influência da temperatura no desenvolvimento de teliosporos de *Phakopsora pachyrhizi* em folíolos de soja

Patrícia Ferreira Cunha Sousa¹, Eduardo Alves¹, Hilário Antônio de Castro¹

¹Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Fitopatologia CP 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG. Parte da dissertação do primeiro autor apresentada ao curso de Mestrado em Agronomia/Fitopatologia, UFLA, MG. Bolsista CNPq.

Autor para correspondência: Eduardo Alves. E-mail: ealves@ufla.br

Data de chegada: 04/04/2005. Aceito para publicação: 16/11/2005

1192

ABSTRACT

Sousa, P. F. C., Alves, E., Castro, H. A. Effect of temperature on teliospores development of *Phakopsora pachyrhizi* in soybean leaflets. *Summa Phytopathologica*, v.32, n.3, p.227-231, 2006.

The soybean rust can be caused by two fungus species of the genus *Phakopsora*: *P. meibomiae* and *P. pachyrhizi*. The safest method to separate the both species is based on morphologic characteristics of the teliospores. This study was carried out to determine the effect of temperature in telia formation and to observe both telia and teliospore morphometry present in leaflets of soybean plants. Seeds from two soybean cultivars, 'Uirapuru' and 'Pintado', were sowed in pots with 3 kg of substrate. Thirty days after sowing, plants on the growth stage V3 were inoculated with urediniospores of *P. pachyrhizi* and kept in glasshouse for disease development. Upon the appearance of disease symptoms (seven days after inoculation), plants were moved to growth chambers at the temperatures of 10, 15 and 20°C. At fifteen days later, leaflets were observed for the presence of telia and teliospores. Typical pustules containing telia were observed under

stereomicroscope on leaflets from plants of the cultivar 'Uirapuru' and 'Pintado' growing at 15°C at the 25th and 30th days, respectively. The presence of telia was confirmed by fine sections from fresh material and observations of the sections in light microscope and scanning electron microscope. Two types of telia were observed: one round-elliptical with width of 35.25 µm and length of 77 µm, on cultivar 'Uirapuru' and other type measuring 41.33 µm width and 127.33 µm length on cultivar 'Pintado'. The shape of the teliospore also varied between the cultivars. Oblong spores were more frequent on the cultivar 'Pintado' and subglobose on cultivar 'Uirapuru'. The dimensions of the teliosporos were of 6.87 µm of width for 14.91 µm of length and distal wall of the apical cell of 1.90 µm on cultivar 'Pintado' and 7.02 µm of width for 10.02 µm and distal wall of the apical cell of 1.43 µm on cultivar 'Uirapuru'.

Additional Keywords: soybean rust, morphometry.

RESUMO

Sousa, P. F. C., Alves, E., Castro, H. A. Influência da temperatura no desenvolvimento de teliosporos de *Phakopsora pachyrhizi* em folíolos de soja. *Summa Phytopathologica*, v.32, n.3, p.227-231, 2006.

A ferrugem da soja pode ser causada pelas espécies *Phakopsora meibomiae* e *P. pachyrhizi*. A distinção dessas espécies pode ser feita de forma segura por meio das características morfológicas dos teliosporos. Este estudo teve como objetivo determinar o efeito da temperatura na formação de teliosporos em folíolos de plantas de soja e realizar um estudo morfométrico dos soros teliais e teliosporos. Para o desenvolvimento do experimento sementes dos cultivares Uirapuru e Pintado foram semeadas em vasos para 3 kg de substrato. Trinta dias após, no estágio V3, estas plantas foram inoculadas com urediniósporos de *P. pachyrhizi*. Os sintomas iniciais da doença foram observados 7 dias após a inoculação, quando as plantas foram transferidas para câmaras de crescimento vegetal do DFP/UFLA sob

temperaturas de 10°C, 15°C e 20°C. O monitoramento da presença de soros teliais teve início 15 dias após a transferência das plantas. Lesões típicas com soros teliais foram observadas com estereomicroscópio em folíolos do cultivar Uirapuru crescendo a 15°C no 25º dia, após a transferência das plantas, e no cultivar Pintado no 30º dia. A presença de soros teliais foi confirmada com cortes finos do material fresco e observação em microscópio de luz e microscópio eletrônico de varredura (MEV). Foram observados dois tipos de soros teliais: os arredondados a elípticos com altura média de 35,25 µm e largura de 77 µm, predominante no cultivar Uirapuru e o alongado com altura média de 41,33 µm e largura de 127,33 µm predominante no cultivar Pintado. A forma e dimensões

dos teliósporos também variaram entre os cultivares. No cultivar Pintado as células oblongas predominaram, enquanto que, no cultivar Uirapuru as sub-globosas. Quanto às dimensões o cultivar Pintado apresentou células com medidas de 6,87 µm de largura por 14,91 µm

de comprimento e 1,9 µm de espessura da parede distal da célula apical, enquanto que, o cultivar Uirapuru apresentou células com 7,02 µm de largura por 10,02 µm de comprimento e 1,43 µm de espessura da parede distal da célula apical.

Palavras-chave adicionais: ferrugem da soja, morfometria.

A ferrugem da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) causada por *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & P. Sydow ocorre no hemisfério ocidental desde as primeiras décadas do século XX, causando enormes perdas (2, 14). O fungo foi relatado também em Uganda na África em 2003 (9), no Hawaii, na América do Norte por Killgore & Heu (11) em 1994, e no Paraguai e Brasil em 2001 na América do Sul (13). Entretanto, o trabalho de Akamatsu et al. (1) confirmou através de técnicas moleculares que amostras coletadas no Estado de Minas Gerais em 1979 por Deslandes (6) e armazenadas no Instituto Biológico eram de *P. pachyrhizi*, o que evidencia a presença desta espécie já há mais tempo na América do Sul. Nas Américas Central e do Sul há uma outra espécie também causadora da ferrugem na soja menos agressiva, a *Phakopsora meibomia* (Arthur) Arthur (15). Ambas espécies possuem sintomatologia, soros urediniais e urediniósporos semelhantes, distinguindo-se apenas nas características de soros teliais e teliósporos (4), e geneticamente pelas regiões ITS 1 e 4, utilizando *primers* específicos (8). Entretanto, a formação de soros teliais é rara na maioria dos hospedeiros nas regiões tropicais, por não ocorrer condições favoráveis, como umidade e temperatura (22).

Os soros urediniais são marrons-avermelhados, sub-epidérmicos e irrompentes, variam de 100-200 µm de diâmetro na face abaxial dos folíolos de soja. Os urediniósporos são globosos e nascem sobre pedicelos curtos nos soros urediniais. Os soros teliais ocorrem entre os soros urediniais, separadamente, na superfície abaxial dos folíolos de soja, são sub-epidérmicos, não irrompentes (5) e variam de 150-250 µm de diâmetro, possuindo de duas a sete camadas de teliósporos (15). Os teliósporos possuem uma célula, são oblongos a elípticos ou sub-globosos (15) e germinam por um único poro apical formando basídia (10, 16).

O conhecimento das condições necessárias para a formação de teliósporos permite a identificação correta das espécies de ferrugens e também especular sobre a forma de sobrevivência do fungo entre as estações de cultivo. Na China trabalho realizado em condições de campo mostrou que os teliósporos foram incapazes de germinar e gerar infecções iniciais em soja (18). A produção de teliósporos também tem sido pesquisada em condições controladas em soja e outras leguminosas (7, 22), porém nenhuma informação sobre a produção de teliósporos e sua importância para o ciclo da doença foi pesquisada no Brasil até o momento.

Considerando estes fatos os objetivos deste trabalho foram verificar a temperatura e o tempo necessários para a formação de soros teliais nos cultivares de soja, Uirapuru e Pintado, bem como avaliar a morfometria dos soros e teliósporos de *P. pachyrhizi* presente no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Manutenção do inóculo, condições experimentais e inoculação

Urediniósporos de *P. pachyrhizi* presentes em soros urediniais de folíolos frescos, obtidos de plantas do cultivar Conquista

mantidas em casa-de-vegetação na EMBRAPA-SOJA e procedente de regiões produtoras de soja do Mato Grosso do Sul foram multiplicados em plantas de soja dos cultivares Uirapuru e Pintado, e, também em hospedeiros alternativos de acordo com a metodologia descrita por Yeh et. al. (22) e Dufresne et. al. (7) em casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras - MG (DFP-UFLA), com temperatura variando de 25°C a 30°C, umidade relativa de 80% a 95% e regime de luz natural (primavera de 2003). Para o desenvolvimento do experimento de indução de soros teliais, sementes dos cultivares de soja Uirapuru e Pintado foram semeadas em vasos de 3 litros de terra. Foram conduzidas três plantas por vaso, num total 30 vasos, sendo 15 para cada cultivar. Quando as plantas de soja estavam no estágio V3, dois trifólios completamente expandidos, aproximadamente 30 dias de idade, estas foram inoculadas. Para a inoculação urediniósporos foram coletados de folíolos com soros urediniais, proveniente das plantas fontes de inóculo descritas acima, utilizando-se pincel nº 6 (Tigre), em água destilada e em seguida adicionou-se uma gota de Tween 20 (vol/vol) para melhor homogeneização da suspensão do inóculo. Esta foi então ajustada para uma concentração de 2×10^5 urediniósporos por mL e aplicada sobre as plantas com pulverizador manual de um litro. Depois de inoculadas as plantas foram mantidas nas mesmas condições descritas acima para multiplicação do inóculo, por mais 7 dias até o aparecimento dos sintomas de pústulas. Então os vasos foram distribuídos em três câmaras de crescimento com 10°C, 15°C e 20°C de temperatura, umidade relativa na faixa de 65% a 92%, fotoperíodo de 12 horas e luminosidade de 200 lux, para a indução da formação de soros teliais. Após 15 dias da transferência das plantas para as câmaras climatizadas iniciaram-se as avaliações, realizadas a cada cinco dias. Avaliou-se a presença de soros teliais em cada planta por meio de observação em estereomicroscópio. Quando havia suspeita da presença de teliósporos eram realizados cortes histológicos dos folíolos feitos a mão ou em micrótomo manual para a preparação de lâminas semipermanentes e observação em microscópio de luz. Para um melhor detalhamento das estruturas observadas em microscópio de luz e para medição das dimensões dos soros teliais, dos teliósporos e da espessura da parede distal da célula apical amostras foram, também, preparadas para a MEV.

Preparação de amostras para MEV

Após a constatação da presença de soros urediniais e teliais foram coletados cinco folíolos de cada tratamento. Estes folíolos foram levados para o Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural da UFLA (LME) onde se procedeu à preparação. Depois de coletados, pedaços dos folíolos com 0,5 cm² foram cortados e imersos em solução fixativa (Karnovsky's modificado), pH 7,2 por um período de 24 h. Em seguida, estes foram transferidos para líquido crio-protetor (glicerol 30%) por 30 minutos e cortados transversalmente em nitrogênio líquido. As secções obtidas foram transferidas para solução de tetróxido de

ósmio 1% em água por 1 hora e subsequentemente desidratadas em uma série de acetona (30, 50, 70, 90 e 100% por três vezes) e depois levadas para o aparelho de ponto crítico. Os espécimes obtidos foram montados em suportes de alumínio *stubs*, utilizando fita de carbono dupla face colocada sobre película de papel alumínio, cobertos com ouro e observados em microscópio eletrônico de varredura LEO Evo 40XVP®. Foram geradas e registradas digitalmente, a aumentos variáveis, diversas imagens para cada amostra, nas condições de trabalho de 20 Kv e distância de trabalho de 14 mm. Com estas imagens, utilizando-se o programa *Leo User Interface*® procedeu-se à medição das dimensões de 20 soros teliais de cada cultivar e de 10 teliósporos por soro (num total de 200 teliósporos), além da espessura da parede distal da camada apical dos teliósporos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito da temperatura na produção de soros teliais e teliósporos.

Aos 25 e 30 dias após a transferência das plantas para a câmara climatizada a 15°C houve o aparecimento de lesões típicas com teliósporos de *P. pachyrhizi* nos cultivares Uirapuru e Pintado, respectivamente. A presença destas foi confirmada por meio de observações das pústulas em estereomicroscópio (Figura 1), cortes finos do material fresco em microscópio de luz e observação em microscópio eletrônico de varredura (Figura 2B, D, E e F). Na Figura 2A e 2B também pode ser verificada a diferença dos soros teliais para os urediniais. Nas demais temperaturas não foi possível observar a produção de teliósporos. Yeh et. al. (22) estudaram a indução na formação de teliósporos em soja e em mais nove hospedeiros em temperaturas máxima de 24°C e mínima de 15°C. Estes autores observaram que aos 35 dias após incubação houve o aparecimento de soros teliais e teliósporos em *Glycine wightii*, *G. canescens* e *G. javanica*, e 30 dias após inoculação em *G. max* e *Phaseolus erosus*, e entre 50 e 60 dias em *Cajanus cajan*, *P. lunatus*, *P. vulgaris*, *Rhynchosia minima* e *Vigna unguiculata*. Estes resultados confirmaram que temperaturas baixas, entre 15°C e 20°C, induzem a produção de soros teliais e que o período necessário para o aparecimento dos mesmos pode variar com a espécie da planta. Associados a estes resultados os autores verificaram em experimentos feitos na mesma época, em campo e com temperatura acima de 25°C, que a produção de teliósporos não foi observada. Teliósporos de *P. pachyrhizi* foram relatados ocorrendo naturalmente em muitas localidades em diferentes hospedeiros, como em soja na Argentina (3) e no Japão (12) e em *Lab-lab purpureus* e *Canavalia villosa* em Porto Rico (20). Porém é importante considerar que nas duas primeiras regiões foi verificada a ocorrência de temperaturas abaixo de 15°C durante o período avaliado. Estes resultados comprovam que em regiões com temperaturas médias acima de 20°C no período de cultivo em condições naturais, a ocorrência de teliósporos é pouco provável, justificando assim o emprego de metodologias utilizando temperaturas controladas para a indução dos mesmos.

Waters (21), ao desenvolver uma metodologia para a produção de teliósporos verificou que o desenvolvimento telial está ligado diretamente às condições climáticas de umidade, temperatura, resistência do hospedeiro e ainda aos fatores intrínsecos ao fungo. Caso as condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento de soros urediniais não sejam predominantes, provavelmente se verificará a produção de estruturas de sobrevivência, os teliósporos. Kitani & Inoue (12) foram os primeiros a empregar a técnica de

Waters (21), na indução de teliósporos de *P. pachyrhizi* pela manipulação da temperatura. Estes autores testaram as temperaturas de 20°C, 15°C, 10°C e 5°C. Nenhum soro telial foi formado a 20°C, entretanto, após 10, 14 e 20 dias de incubação houve o aparecimento de teliósporos nas temperaturas de 15°C, 10°C e 5°C, respectivamente.

Dufresne et. al. (7) observaram que além da temperatura e da intensidade de luz, os fatores genéticos do hospedeiro e do patógeno também influenciaram na produção de teliósporos. Estes autores verificaram que o isolado de *P. pachyrhizi* proveniente de Taiwan, mais agressivo, produziu soros teliais aos 23 dias após a inoculação, enquanto que o isolado de *P. pachyrhizi* de Porto Rico, menos agressivo, aos 38 dias após inoculação. As condições que induziram a formação de soros teliais foram baixa intensidade de luz (3,9 μ E/m²) e temperatura de 10°C. Resultados semelhantes foram observados neste estudo, onde foram verificadas diferenças de comportamento entre os cultivares Pintado e Uirapuru em relação à produção de teliósporos a 15°C. No cultivar Uirapuru os soros teliais foram verificados 5 dias mais cedo em relação ao cultivar Pintado. Outro estudo realizado por Tan-YuJun et. al. (18), sobre a formação de teliósporos de *P. pachyrhizi* a partir de 4 cultivares de soja no campo e em câmaras de crescimento, resultaram no aparecimento de teliósporos nos dois ambientes avaliados. Segundo estes autores os fatores que influenciaram na formação das estruturas foram o genótipo do cultivar, temperatura, umidade relativa e intensidade de luz. Entretanto, os fatores genótipo do cultivar e a temperatura foram os mais importantes e determinantes na formação das estruturas de resistência. A condição básica requerida para a formação de teliósporos foi temperaturas médias diurnas acima de 20°C, com mínima diária de 16°C. O maior número de soros teliais foi verificado em plantas expostas a maiores flutuações de temperatura. Teliósporos de menor tamanho foram formados mais cedo em genótipos suscetíveis, comparados a genótipos mais resistentes. Estes resultados corroboram com os obtidos no presente trabalho onde um maior número de soros teliais foi formado a 15°C e 200 lux sob condições artificiais (câmara

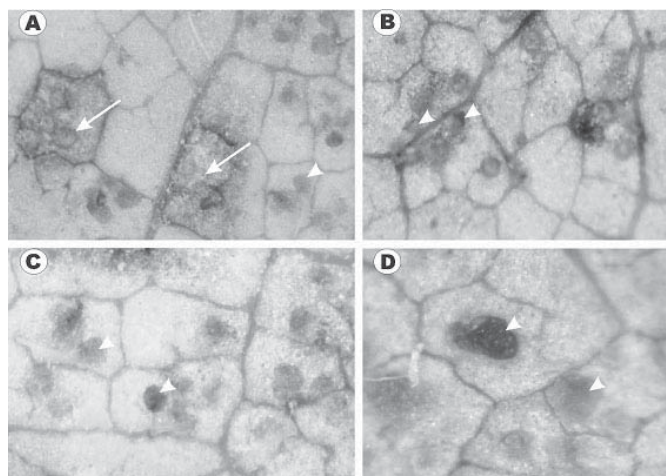


Figura 1. Observações de folíolos de soja em estereomicroscópio aos 30 dias após a transferência de plantas inoculadas com *P. pachyrhizi* para as câmaras climatizadas cv. Pintado (A e C) e cv. Uirapuru (B e D), 25 dias após transferência. (Seta em A indica soro uredinial (irrompentes e com o orifício de abertura)) e cabeças de seta em A – D indicam soros teliais (sem a presença de orifício de abertura, sub-epidérmicas e não irrompentes).

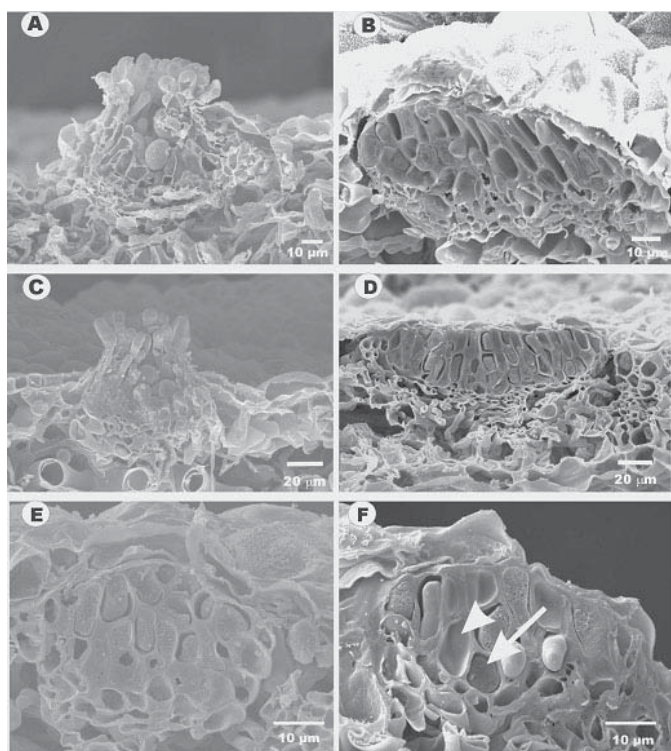


Figura 2. Eletromicrografias de varredura de folíolos de soja inoculados com *P. pachyrhizi* (A-B) - Folíolos do cv. Uirapuru aos 25 dias após a transferência das plantas para as câmaras climatizadas (A) Corte longitudinal de um soro uredinial; (B) Corte longitudinal de um soro telial em formato alongado; (C-D) - Folíolos do cv. Pintado aos 30 dias após transferência. (C) Corte longitudinal de soro uredinial; (D) Corte longitudinal de um soro telial em formato alongado; (E) Formato de soro telial arredondado do cv. Uirapuru aos 25 dias após transferência e (F) Formato soro telial arredondado do cv. Pintado aos 30 dias após transferência para a câmara climatizada em 15°C. Seta indica teliósporos do tipo sub-globoso e cabeça de seta do tipo oblongo. Os folíolos colocados em glicerol por 30 min para e cortados em nitrogênio líquido.

de crescimento).

O papel dos teliósporos no ciclo de infecção de *P. pachyrhizi*, não é ainda bem esclarecido. Tan-YuJun et. al. (19), realizaram experimentos na tentativa de elucidar a função biológica dos teliósporos na sobrevivência do fungo e observaram que teliósporos formados sob condições naturais foram incapazes de germinar e não causaram ferrugem na cultura subsequente de soja no campo. Estes autores então concluíram que *P. pachyrhizi* na China é capaz de produzir teliósporos sob condições naturais, porém não constituem fonte de infecção primária para plantas de soja.

Avaliação do formato e dimensões dos soros teliais e teliósporos.

Por meio da microscopia eletrônica de varredura verificaram-se dois tipos de soros teliais (Tabela 1). Aqueles mais arredondados com altura média de 35,25 µm e largura de 77 µm predominante no cultivar Uirapuru após 25 dias de incubação a 15°C e os mais alongados com altura média de 41,33 µm e largura de 127,33 µm predominante no cultivar Pintado após 30 dias de incubação a 15°C (Figuras 2B e 2D). O número médio de camadas de teliósporos

variou de três no cultivar Uirapuru a cinco no cultivar Pintado (Tabela 1). A forma e dimensões dos teliósporos também variaram entre os cultivares. No cultivar Pintado as células oblongas predominaram, enquanto que, no cultivar Uirapuru as sub-globosas. Quanto às dimensões o cultivar Pintado apresentou células com medidas de 6,87 µm de largura por 14,91 µm de comprimento e 1,9 µm de espessura da parede distal da célula apical, enquanto que, o cultivar Uirapuru apresentou células com 7,02 µm de largura por 10,02 µm de comprimento e 1,43 µm de espessura da parede distal da célula apical (Tabela 2).

Tabela 1. Média das dimensões dos soros teliais formados em folíolos de soja infectados com *P. pachyrhizi* nos cultivares Uirapuru, aos 25 dias após a transferência das plantas para a câmara climatizada a 15 °C, e Pintado aos 30 dias após transferência.

Medida (µm)	cv. Pintado	cv. Uirapuru
Largura*	127,33	77,00
Altura	41,33	35,25
Nº camadas	5	3

* Média de 20 soros teliais por cultivar

Tabela 2. Média das dimensões dos teliósporos formados em folíolos de soja infectados com *P. pachyrhizi* nos cultivares Uirapuru, aos 25 dias após a transferência das plantas para a câmara climatizada a 15 °C, e Pintado aos 30 dias após transferência.

Medida (µm)	cv. Pintado	cv. Uirapuru
Largura*	6,87	7,02
Altura	14,91	10,02
Camada apical	1,90	1,43

* Média de 200 teliósporos

As principais diferenças entre as duas espécies de ferrugem já citadas estão nos teliósporos (4, 15). Na espécie *P. pachyrhizi* o número de camadas de teliósporos no soro telial varia de duas a sete e as células da camada apical são de no máximo 3mm. *P. meibomia* apresenta de uma a quatro camadas, sendo as células da camada apical de até 6mm. Considerando estes parâmetros a espécie estudada se confirma como *P. pachyrhizi*, reforçando os dados de PCR obtidos em outro estudo com amostras da mesma fonte de inóculo como sendo *P. pachyrhizi* (17).

Quanto às dimensões dos soros teliais a literatura é escassa sobre o assunto, não tendo sido encontrado nenhum dado que possa ser discutido. Dufresne et al. (7) fez algumas medidas de soros teliais porém apenas no sentido da área que os mesmos ocupavam na superfície dos folíolos e não em cortes longitudinais. Neste estudo foi possível observar que soros teliais formados nos folíolos do cultivar Pintado apresentaram maiores dimensões do que, nos do cultivar Uirapuru. As dimensões destas estruturas podem estar relacionadas com uma maior ou menor resistência dos cultivares. Outro fator a ser observado é quanto ao tempo após indução em que os cultivares apresentaram soros teliais. Porém segundo Dufresne et al. (7) o fator tempo não influencia nas dimensões dos soros teliais.

Quanto aos teliósporos as dimensões no que se refere à largura estão de acordo com o descrito na literatura (15), porém a altura dos mesmos são inferiores as já descritas que variaram de 15 a 26 µm, enquanto que neste estudo os valores verificados foram de 10

µm a 14 µm. Estas diferenças podem ser devidas à procedência do fungo e/ou as características dos cultivares utilizados em ambos os estudos.

Além das contribuições já destacadas no texto este estudo trouxe informações importantes sobre a variação do formato dos teliosporos e do tamanho e formato dos soros teliais em função do hospedeiro, que não são destacados em trabalhos anteriores. O estudo também pode contribuir para o desenvolvimento de investigações que procurem entender melhor o papel dos teliosporos para a espécie *P. pachyrhizi* nas condições tropicais já que a metodologia foi padronizada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), na pessoa da Dra. Cláudia V. Godoy pelo valioso treinamento sobre a metodologia de inoculação da ferrugem da soja e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. Akamatsu, M. A.; Figueiredo, M. B.; Harakava, R. Detecção e Distinção de *Phakopsora pachyrhizi* e *P. meibomiae* em Amostras do Herbário Uredinológico do Instituto Biológico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, supl., p.277-278, 2004. (Resumo).
02. Bromfield, K. R. **Soybean rust**. St. Paul: American Phytopathological Society 1984.
03. Carmona, M.; Gally, M.; Lopez, S. E. Roya asiática de la soja: patometria de epidemias en Argentina y caracterización morfológica de *Phakopsora pachyrhizi* (Uredosporas y teleutosporas). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, supl., p.279-279, 2004. (Resumo).
04. Carvalho Júnior, A. A.; Figueiredo, M. B. A verdadeira identidade da ferrugem da soja no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.26, n.2, p.197-200, 2000.
05. Cummins, G. B.; Hiratsuka, Y. **Illustrated genera of rust fungi**. 3. ed. St. Paul: APS, 2003. 225p.
06. Deslandes, J. A. Ferrugem da soja e de outras leguminosas causadas por *Phakopsora pachyrhizi* no Estado de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.4, n.2, p. 337-339, 1979.
07. Dufresne, L. A.; Bean, G. A.; Bonde, M. R.; Goth, R. W. Effects of temperature and light intensity on telia development by Puerto Rico and Taiwan isolates of *Phakopsora pachyrhizi*, the soybean rust fungi. **Plant Disease**, St. Paul, v.71, n.7, p.629-631, 1987.
08. Frederick, R.D.; Snyder, C.L.; Peterson, G.L.; Bonde, M.R. Polymerase chain reaction assays for the detection and discrimination of the soybean rust pathogens *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomiae*. **Phytopathology**, St. Paul, v.92, n.2, p.217-227, 2002.
09. Kawuki, R. S.; Adipala, E.; Tukamuhabwa, P. Yield Loss Associated with Soya Bean Rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) in Uganda. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.151, n.1, p.7-12, 2003.
10. Koch, E.; Hoppe, E. E. Germination of the Teliospores of *Phakopsora pachyrhizi*. **Soybean Rust Newsletter**, Taipei, v.8, n.1, p.3-4, 1987
11. Killgore, E.; Heu, R. First report of soybean rust in Hawaii. **Plant Disease**, St. Paul, v.78, p.1216. 1994.
12. Kitani, K.; Inoue, Y. Studies on the soybean rust and its control measure. I. Studies on the soybean rust. **Shikoku Agriculture Experimental Station Bulletin** (Zentsuji, Japan), v.5, n.3, p.319-342. 1960.
13. Morel, W.; Yorinori, J. T. Situación de la roya de la soja en el Paraguay. **Bol de Divulgacion**. Centro Regional de Investigacion Agricola, Ministerio de Agricultura y Granaderia, Capitan Miranda, n.44, 2002.
14. Ogle, H. J.; Byth, D. E.; Mclean, R. Effect of rust (*Phakopsora pachyrhizi*) on soybean yield and quality in southeastern Queensland. **Australian Journal Agricultural Research**, Melbourne, v.30, n.8, p.883-893, 1979.
15. Ono, Y.; Buritica, P.; Hennen, J. F. Delimitation of *Phakopsora*, *Physopella* and *Cerotelium* and their species on Leguminosae. **Mycological Research**, London, v.96, n.10, p.825-850, 1992.
16. Saksirirat, W.; Hoppe, H. H. Teliospore germination of soybean rust fungus (*Phakopsora pachyrhizi*). **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.132, n.2, p.339-342, 1991.
17. Sousa, P. F. C. **Identificação molecular e indução de telia no patossistema *Phakopsora pachyrhizi* – soja**. 2005. 56f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
18. Tan-Yujun; Fei-Fuhua; Shan-Zhihui; Zhou-Lecong; Shen-Migzhen; Li-Song; Tan-Yj; Fei-Fh; Shan-Zh; Zhou-Lc; Shen-Mz; Li-S. Study on teliospore formation of *Phakopsora pachyrhizi* Sydow. **Chinese Journal of Oil Crop Sciences**, Wuhan, v.23, n.1, p.57-59, 2001.
19. Tan-Yujun; Fei-Fuhua; Shan-Zhihui; Zhou-Lecong; Shen-Migzhen; Li-Song; Tan-Yj; Fei-Fh; Shan-Zh; Zhou-Lc; Shen-Mz; Li-S. The role of teliospore of soybean rust pathogen (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow) in the infection cycle. **Chinese Journal of Oil Crop Sciences**, Wuhan, v.23, n.1, p.49-51, 2001.
20. Vakili, N. G. Field survey of endemic leguminous hosts of *Phakopsora pachyrhizi* in Puerto Rico. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v.63, n.8, p.931-935, 1979.
21. Waters, C. W. The control of teliospore and urediniospore formation by experimental methods. **Phytopathology**, St. Paul, v.18, n.2, p.157-213, 1928.
22. Yeh, C. C.; Tschanz, A. T.; Sinclair, J. B. Induced teliospore formation by *Phakopsora pachyrhizi* on soybeans and other hosts. **Phytopathology**, St. Paul, v.71, n.10, p.1111-1112, 1981.