

Estudos Histológicos de Tratamentos pelo Calor nas Expressões de Suscetibilidade e Resistência na Interacção *Coffea arabica* - *Hemileia vastatrix*¹

M. C. Silva*, L. Rijo*, C. J. Rodrigues Jr.*, M. I. Vasconcelos*

ABSTRACT

Plants of *Coffea arabica* bearing the homozygous genes SH₄SH₅, heat treated on different occasions before inoculation with virulent and avirulent races of *Hemileia vastatrix*, were studied histologically. The pre-inoculation heat treatment of coffee leaves induced an increase in the number of appressoria formed and the subsequent colonization of the fungus. This resulted in an increase of susceptibility to the compatible interaction. In the incompatible interaction, most of the infections sporulated and no lignification of the cells occurred as a response to the presence of the fungus; the resistance expression was thus reversed.

INTRODUÇÃO

O ambiente tem uma influência importante nas interacções hospedeiro-agente patogénico (2, 5, 26) podendo influenciar o processo de infecção, a taxa de crescimento do parasita e os mecanismos genéticos associados á resistência/susceptibilidade da planta hospedeira (2). Na interacção *Triticum* spp. - *P. graminis tritici*, Roelfs (26) refere que a temperatura e a luz podem afetar suficientemente o tipo de infecção, daí resultando uma inversão da dominância, sendo o genótipo heterozigótico do hospedeiro muitas vezes mais afetado pelos fatores ambientais do que o genótipo homozigótico. Também Eskes (11) na interacção cafeeiro-ferrugem alaranjada defende que o ambiente afeta a expressão do gene de resistência SH₄. Assim,

RESUMO

Estudou-se histologicamente a acção de tratamentos pelo calor em plantas de *Coffea arabica*, portadoras dos genes de resistência SH₄SH₅ (em estado homozigótico) antes da sua inoculação com uma cultura virulenta e outra avirulenta de *Hemileia vastatrix*. A acção dos tratamentos pelo calor, pré-inoculação, traduziu-se num aumento da formação de appressórios e da subsequente colonização do fungo, do que resultou, na interacção compatível, um aumento de susceptibilidade. Na interacção incompatível, a maioria das infecções conseguiu esporular, sendo também de destacar a ausência de lenhificação das células em resposta á presença do fungo, verificou-se assim uma inversão na expressão de resistência.

refere que em estufa (baixa intensidade luminosa) a acção deste gene é dominante, mas que em viveiro (alta intensidade luminosa) se observa dominância incompleta expressa por um tipo de reacção heterogénea a susceptível em plantas heterozigóticas (SH₄sh₄).

A temperatura tem sido o fator ambiental mais estudado, havendo diversas referências na literatura mostrando que tratamentos com diferentes regimes de temperatura podem alterar, quer a expressão de susceptibilidade quer a de resistência. A título de exemplo, é de referir os tratamentos com calor ("heat shock") que, quando efectuados antes da inoculação podem aumentar a susceptibilidade das plantas a microrganismos, nomeadamente a fungos patogénicos (13, 14, 18, 23, 24, 25, 36, 37) e não patogénicos (3, 4).

No presente trabalho efectuou-se também o estudo do fator temperatura em duas interacções, uma compatível e outra incompatível da associação cafeeiro-ferrugem tendo-se analisado respectivamente as modificações na resposta de susceptibilidade e na de resistência de folhas tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação, em comparação com as respectivas testemunhas. As primeiras observações incidiram sobre as fases de pré-penetração do fungo (germinação e formação de appressórios) tendo-se posteriormente estudado o processo de colonização do fungo (crescimento micelial e número de haustórios/infecção) até

1 Recebido para publicação em 11 setembro 1991.
Ao Prof. João Tiago Mexia e á En. Mo. José Silva dos Serviços de Estatística do Centro de Estudos de Produção e Tecnologia Agrícola os nossos agradecimentos pelo auxílio prestado na análise estatística dos resultados deste trabalho. Parte deste trabalho está incluído na dissertação do primeiro autor para obtenção do grau de Mestrado em Produção Vegetal (Instituto Superior de Agronomia-Universidade Técnica de Lisboa)

* Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, Quinta do Marquês, 2780 Oeiras, Portugal.

ao aparecimento dos sintomas. Quando se estudou a interação incompatível foi dada também atenção à resposta do hospedeiro, diferentes técnicas citológicas permitiram avaliar as alterações nos mecanismos de resistência resultantes do tratamento com calor.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas e ferrugem

Usaram-se plantas de *Coffea arabica* L. (CIFC 110/5-portadoras dos genes de resistência SH₄SH₅ em estado homozigótico) originárias da Etiópia e mantidas em condições de estufa. Utilizaram-se uredósporos frescos de *H. vastatrix* Berk & Br. das culturas 137a da raça X (genes de virulência v₁v₄v₅) e 1427 da raça II (gene de virulência v₅) provenientes respectivamente das Filipinas e do Quênia.

Tratamentos com calor

Em pares de folhas opostas, um dos pares foi mergulhado num banho de água quente (50°C) durante 1 min, sendo o outro par deixado como testemunha. Logo que as folhas tratadas secaram procedeu-se à sua inoculação.

Inoculação e incubação

Folhas novas e suculentas próximas do seu tamanho definitivo foram inoculadas de acordo com a técnica descrita por D'Oliveira (7) e D'Oliveira & Rodrigues (8). A quantidade de inóculo usada foi de 0.5 mg/folha.

Germinação "in vivo" e formação de apressórios

Foi seguida a técnica de moldes de verniz descrita por Silva *et al.* (28) tendo sido determinadas as percentagens de germinação e de apressórios em folhas tratadas pelo calor e nas testemunhas.

Processo de colonização do fungo

Usou-se a técnica descrita por Rijo & Rodrigues (21) que consistiu em seccionar fragmentos de folha com um micrótomo de congelação após o que esses cortes foram corados e montados numa mistura clara de azul de algodão em lactofenol.

Para observação do processo de colonização do fungo, acompanhou-se a sua evolução no interior das folhas, de cada um dos cafeeiros em estudo, a partir do 3.º dia após a inoculação. Com uma ocular micrométrica mediu-se o comprimento do conjunto das

hifas que constituem a massa micelial, em cada infecção, tendo-se também determinado o número de haustórios. Para obtenção do valor médio destes parâmetros consideraram-se no mínimo 50 infecções em cada dia de observação. Estas determinações foram também efectuadas no 6.º dia após a inoculação e não posteriormente porque, exceptuando os casos de paragem de crescimento do fungo, a ramificação cada vez maior do micélio tornou difícil a individualização das infecções.

Respostas à presença do fungo

Usaram-se os seguintes testes citológicos:

- Teste de fluorescência com azul de anilina. Cortes transversais de material fresco foram colocados em tampão fosfato (K₂HPO₄) 0.07 M, pH 8.9 durante 10 min e mergulhados, em seguida, 10-15 min numa solução de azul de anilina a 0.01% no mesmo tampão, onde foram também montados (22). Os depósitos de calose foram identificados pela sua fluorescência amarelo-brilhante (10).
- Teste de autofluorescência. Cortes transversais de fragmentos de tecido fresco foram montados em água ou tampão fosfato (K₂HPO₄) 0.07 M, pH 8.9 e observados ao microscópio de fluorescência.
- Teste com HCL- floroglucinol. Em cortes transversais de material fresco fez-se o teste com HCL-floroglucinol (15) seguindo a técnica descrita por Sherwood & Vance (27) como em trabalhos realizados anteriormente na interação cafeeiro-ferrugem alaranjada (17, 22, 34).
- Todas as observações microscópicas foram efectuadas num microscópio Leitz Dialux 20 equipado com uma lâmpada de mercúrio HBO 50W, luz ultravioleta (Excitação 340-380, filtro barreira 430).

Produção de uredósporos (na interação compatível)

Em cada folha inoculada, cerca de um mês e meio após a inoculação, colheram-se os uredósporos produzidos com uma cápsula de gelatina tendo-se então efectuado a pesagem numa balança de precisão.

Análise estatística

Efectuaram-se análises de variância, tendo sido os dados transformados quando se avaliaram as percentagens de germinação "in vivo" e de apressórios. Quando se estudou o processo de colonização do fungo nas primeiras fases do processo de infecção, para se efectuar a comparação das médias usou-se o teste de Tukey.

RESULTADOS

Inoculação de plantas 110/5 com a cultura 137a de *H. vastatrix*- interação compatível

Percentagem de germinação "in vivo" e de apressórios. Nas folhas tratadas em comparação com as testemunhas não se obtiveram diferenças significativas na percentagem de germinação. Porém, a percentagem de apressórios formados foi significativamente maior nas folhas tratadas (Quadro 1).

Processo de colonização do fungo. O valor médio do comprimento micelial/infecção (Quadro 2) foi significativamente maior nas folhas tratadas em

comparação com as testemunhas, no 3.º e 6.º dias após a inoculação.

Quando se considerou o número médio de haustórios/infecção (Quadro 3) aos 3 dias após a inoculação, as folhas tratadas não se diferenciaram das testemunhas, porém, aos 6 dias esse valor foi significativamente maior nas folhas tratadas.

Sintomas. Avaliaram-se os seguintes parâmetros:

- Aparecimento dos primeiros sintomas (cloroses): Observou-se em média aos 12.5, 16.5 dias após a inoculação respectivamente nas folhas tratadas e nas testemunhas que assim se diferenciaram entre si [(F=39.1) (P 0.001)].

Quadro 1. Percentagem de germinação e de apressórios da cultura 137a em folhas de 110/5 (interação compatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas.

Parâmetros	Folhas tratadas (50°C, 1 min)	Testemunhas	F calculado
Germinação (%)	55.10 A (0.84)	54.21 (0.83)	0.17 n.s.
Apressórios (%)	64.05 (0.93)	48.79 (0.77)	28.29 ***

A- Os valores entre parêntesis correspondem a $\arcsin \sqrt{f\%}$ e estão expressos em radianos.

Níveis de significância: n.s. (não significativo), *** (P ≤ 0.001)

Quadro 2. Comprimento micelial médio/infecção (cultura 137a) em folhas de 110/5 (interação compatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas, aos 3 e 6 dias após a inoculação.

Dias após inoc.	Comprimento micelial medio (μ m)/infecção		F calculado
	Folhas tratadas (50°C; 1 min)	Testemunhas	
3	93.15 A (24-234 ± 54.07)	61.15 (21-144 ± 36.83)	4.64*
6	215.70 (24-414 ± 109.29)	104.55 (24-390 ± 100.04)	11.33**

A: (menor e maior valores do parâmetro; ± desvio padrão)

Níveis de significância: * (P ≤ 0.05) ** (P ≤ 0.01)

Quadro 3. Número médio de haustórios/infecção (cultura 137a) em folhas de 110/5 (interação compatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas, aos 3 e 6 dias após a inoculação.

Dias após inoc.	Nº médio de haustórios/infecção		F calculado
	Folhas tratadas (50°C; 1 min)	Testemunhas	
3	1.70 A (0.5 ± 1.60)	1.00 (0.4 ± 1.34)	2.27 n.s.
6	2.75 (0.5 ± 1.33)	1.30 (0.4 ± 1.42)	11.11**

A: (menor e maior valores do parâmetro; ± desvio padrão)

Níveis de significância: n.s. (não significativo); ** ($P \leq 0.01$)

– Início da esporulação: Ocorreu também significativamente mais cedo nas folhas tratadas do que nas testemunhas, sendo os valores médios respectivamente de 24 e 27.5 dias após a inoculação [(F=41.46) (P 0.001)].

– Produção de uredósporos: Nas folhas tratadas a produção média de uredósporos (7.94 mg/folha) foi significativamente superior á que se verificou nas testemunhas (2.51 mg/folha) - [(F=52.16) (P 0.001)].

Inoculação de plantas 110/5 com a cultura 1427 de *H. vastatrix*-interação incompatível

Percentagem de germinação "in vivo" e de apressórios. Nas folhas tratadas comparativamente as testemunhas (Quadro 4) não se obtiveram diferenças

significativas na percentagem de germinação. No entanto, a percentagem de apressórios foi significativamente maior nas folhas tratadas.

Processo de colonização do fungo. O valor médio do comprimento micelial/infecção (Quadro 5) foi significativamente maior nas folhas tratadas em comparação com o observado nas testemunhas, no 3.º e no 6.º após a inoculação. O mesmo se verificou em relação ao número médio de haustórios/infecção (Quadro 6).

Nesta interação incompatível, a partir do 3.º dia após a inoculação começaram a observa-se infecções abortadas mostrando micélio com aspecto definhado ou entumescido. No entanto, é de destacar o facto de nas folhas tratadas a maioria das infecções ter evoluído com bom crescimento chegando mesmo a originar esporulação (Figs. 1, 2, 3, 4).

Quadro 4. Percentagem de germinação e de apressórios da cultura 1427 em folhas de 110/5 (interação incompatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas.

Parâmetros	Folhas tratadas (50°C, 1 min)	Testemunhas	F calculado
Germinação (%)	54.60 A (0.83)	53.60 (0.82)	0.18 n.s.
Apressórios (%)	77.70 (1.08)	42.30 (0.71)	203.86 ***

A- Os valores entre paréntesis correspondem a $\text{arc sen } \sqrt{\%}$ e estão expressos em radianos.

Quadro 5. Comprimento micelial médio/infecção (cultura 1427) em folhas de 110/5 (interação incompatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas, aos 3 e 6 dias após a inoculação.

Dias após inoc.	Comprimento micelial medio (μm)/infecção		F calculado
	Folhas tratadas (50°C; 1 min)	Testemunhas	
3	116.76 A (15-264 \pm 60.48)	61.92 (15-219 \pm 53.85)	11.46**
6	221.76 (15-693 \pm 155.46)	81.00 (10-357 \pm 74.34)	16.68***

A: (menor e maior valores do parâmetro; \pm desvio padrão)

Níveis de significância: ** ($P \leq 0.01$) *** ($P \leq 0.001$)

Quadro 6. Número médio de haustórios/infecção (cultura 1427) em folhas de 110/5 (interação incompatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas, aos 3 e 6 dias após a inoculação.

Dias após inoc.	Nº médio de haustórios/infecção		F calculado
	Folhas tratadas (50°C; 1 min)	Testemunhas	
3	2.56 A (0-4 \pm 1.16)	1.12 (0-3 \pm 1.24)	18.08***
6	3.84 (0-8 \pm 2.21)	1.48 (0-5 \pm 1.64)	18.40***

A: (menor e maior valores do parâmetro; \pm desvio padrão)

Níveis de significância: ***($P \leq 0.001$)

Sintomas. Nas folhas testemunha os sintomas traduziram-se por pountuações cloróticas com tumefacções, *flt*, que se começaram a observar aos 9-10 dias após a inoculação.

Nas folhas tratadas, raramente se observaram *flt* sendo a expressão fenotípica predominante de susceptibilidade, tendo-se registrado o "início" da esporulação aos 23-25 dias após a inoculação. A queda prematura das folhas não permitiu avaliar o montante de esporulação produzido.

Formação de lenhina e de calose. No. Quadro 7 estão indicados os resultados de testes citológicos efec-

tuados para avaliar a resposta de folhas tratadas e respectivas testemunhas á presença do fungo.

Nas testemunhas, os *flt* corresponderam a células do parênquima lacunoso com maior volume (cujas paredes apresentaram maior ou menor grau de espessamento) em redor de infecções abortadas em diferentes fases. Nesta reacção, observou-se lenhina nas células da zona estomática e nas paredes espessadas (por vezes também nos conteúdos citoplasmáticos) das células que constituíram a tumefacção. A calose foi outro composto detectado em células do hospedeiro nas zonas de contacto com a hifa abortada e em redor dos haustórios.

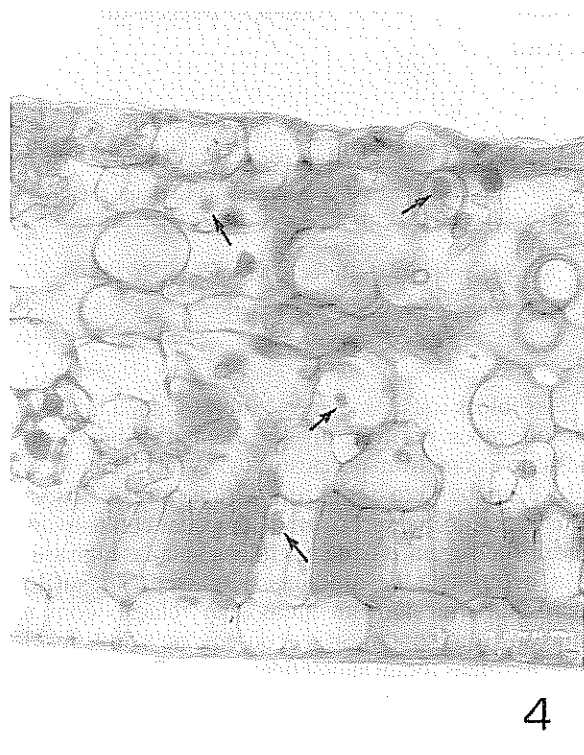
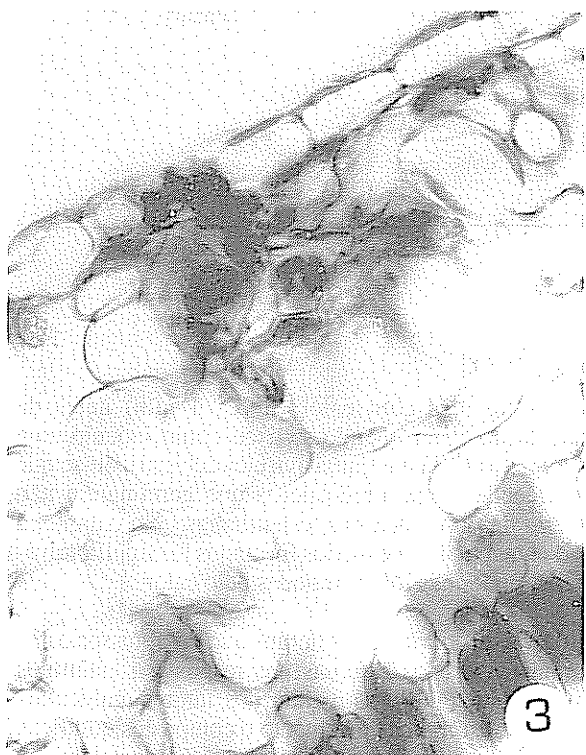
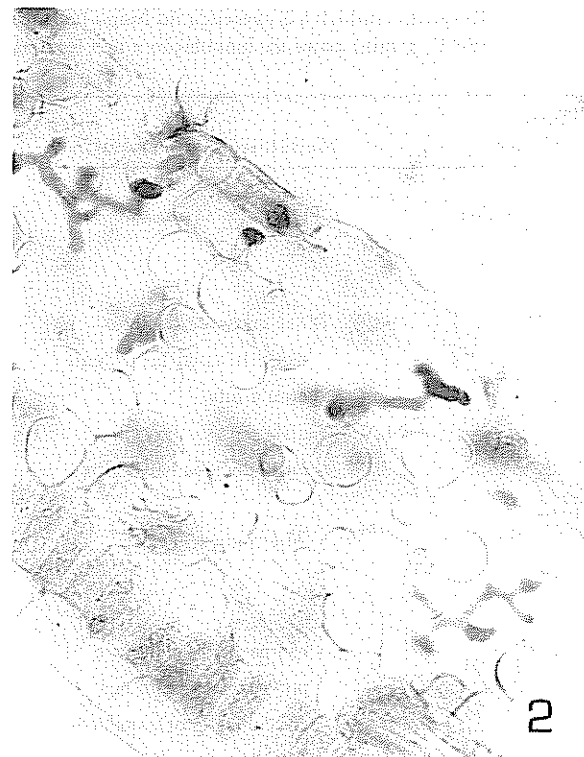
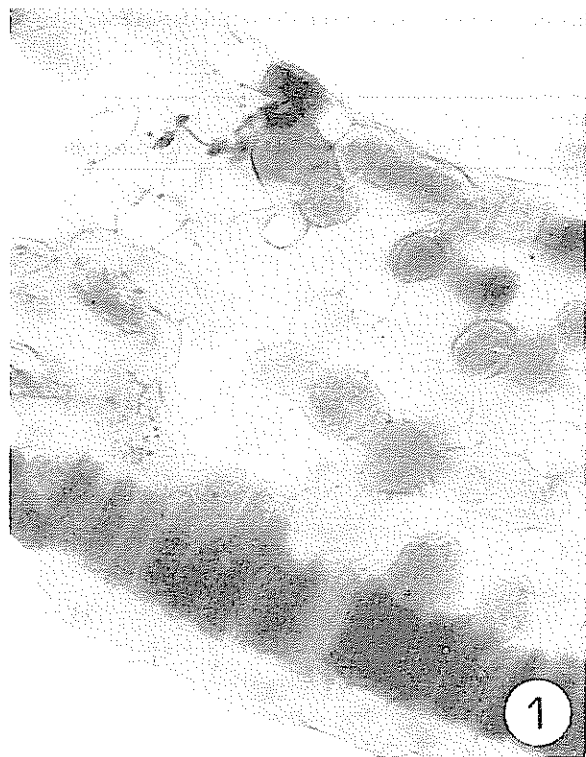


Fig. 1. Testemunha: Micélio abortado no mesófilo, 8 dias após a inoculação (x 400).

Fig. 2. Folha tratada (50°C; 1 min): Várias infecções com micélio bem distribuído. 8 dias após a inoculação (x 400).

Fig. 3. Testemunha: Micélio senescente e células em redor com paredes espessadas. 20 dias após a inoculação (x 400).

Fig. 4. Folha tratada (50°C; 1 min): Micélio bem desenvolvido em todo o mesófilo com haustórios (setas), 20 dias após a inoculação (x 400).

Quadro 7. Resposta citológica à presença do fungo (cultura 1427) em folhas de I10/5 (interação incompatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas.

Teste citológicos	Modificações observadas	Folhas tratadas (50°C; 1 min)	Testemunhas	Material detectado
Azul de anilina (luz UV)	Fluorescência amarelo-brilhante: - nas zonas de contacto das células do hospedeiro com a hifa - em redor dos haustórios	- +(a)	+ +	Calose
Fluorescência (luz UV)	- Autofluorescência: - nas paredes celulares e por vezes também nos conteúdos citoplasmáticos	-	+	Lenhina ou compostos afins
HCL-flo- roglucinol	Coloração avermelhada: - nas paredes celulares e por vezes também nos conteúdos citoplasmáticos	-	+	Lenhina

+ Reacção positiva; - Reacção negativa.

(a) apenas em redor de alguns haustórios.

Nas folhas tratadas, como já foi referido, a maioria das infecções mostrou micélio bem distribuído no mesófilo e com diversos haustórios. Aqui, detectou-se calose apenas em redor de alguns haustórios, á semelhança do que sucede em interacções compatíveis cafeeiro-ferrugem. Ainda nas folhas tratadas registou-se a ocorrência de algumas células do mesófilo necrosadas, mesmo em áreas sem relação com a infecção, o que se admitiu ser consequência do "stress" a que as folhas foram submetidas.

DISCUSSAO DOS RESULTADOS E CONCLUSOES

Quando, ao estudar o afeito do fator temperatura, se analisaram as fases de pré-penetração do fungo em

folhas tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação (quer quando se usou como inóculo uma cultura virulenta quer uma avirulenta) verificou-se que a percentagem de uredósporos que germinaram não diferiu da observada nas testemunhas. No entanto, a percentagem de apressórios formados foi significativamente maior nas folhas tratadas pelo calor.

Diversas teorias consideram que os apressórios se formam sobre os estomas em resposta a estímulos diversos incluindo, para além dos fatores ambientais externos, estímulos de contacto e compostos químicos específicos, tudo indicando que os estímulos efectivos podem variar em diferentes ferrugens (35). De acordo com Littlefield & Heath (16), para diversas ferrugens são as respostas da topografia da folha que resultam no crescimento direccionado do tubo germinativo para o

estoma e o seu subsequente "reconhecimento" de modo a que sobre ele se forme então o apressório. Também Wynn (35) defende que a formação de apressórios de *U. phaseoli* (Pers.) Wint. var. *typica* (Arth.) no hospedeiro ocorre sómente em resposta a estímulos de contacto, o mesmo sendo referido por Staples *et al.* (30) em relação à ferrugem do trigo, *P. graminis tritici*.

Por sua vez, em folhas de cana-do-açúcar Sotomayor *et al.* (29) consideram ser as células guardas ou o próprio estoma que fornecem os estímulos de contacto necessários à formação dos apressórios de *P. melanocephala* H.Syd & P. Syd. Ainda em relação à *P. graminis tritici*, Allem (1) defende que o ambiente químico em redor do estoma pode ser igualmente efectivo. Do mesmo modo Staples & Macko (31) citam uma série de trabalhos, também com *P. graminis tritici*, cujos autores demonstraram que os constituintes voláteis da folha estimulam a formação de estruturas de infecção e sugeriram que certos compostos libertados das células guardas criam o ambiente químico necessário à formação de apressórios.

Qualquer que seja a natureza do(s) estímulo(s) responsável (eis) pela diferenciação dos apressórios na associação cafeeiro-ferrugem alaranjada, tudo indica que o tratamento pelo calor actuou no sentido de ampliar esse(s) estímulo(s) na superfície das folhas.

Após a formação dos apressórios (primeira estrutura de infecção) o fungo penetra e, segundo Rijo & Rodrigues (21), na associação *C. arabica-II. vastatrix*, só a partir do 3.º dia após a inoculação se começam a observar diferenças no processo de infecção do fungo, em variedades susceptíveis e resistentes. Porém, quando se usou como inóculo quer a cultura virulenta quer a avirulenta, nas folhas previamente tratadas pelo calor verificou-se que no 3.º tal como no 6.º dia após a inoculação o comprimento micelial foi significativamente superior ao observado nas respectivas testemunhas. De uma maneira geral o mesmo se verificou em relação ao número de haustórios/infecção.

Quando se usou como inóculo a cultura virulenta (interação compatível), do maior crescimento micelial resultou que o aparecimento dos primeiros sintomas e o início da esporulação foram significativamente antecipados, por sua vez, a maior percentagem de apressórios formados esteve com certeza na razão directa do maior número de lesões cloróticas e consequentemente na maior produção de uredósporos observada nas folhas tratadas. Também Rodrigues (23, 24, 25) e Martins *et al.* (18) referem o aumento de susceptibilidade em cafeeiros tratados com calor (45°C) respectivamente durante 1.5 h e 1 h. Para Rodrigues (25) estas observações indicam que mesmo as plantas consideradas altamente susceptíveis a ferrugem pos-

suem algum grau de resistência, que é diminuído pelo tratamento com calor.

Quando se inoculou a cultura avirulenta (interação incompatível) nas folhas previamente tratadas com calor verificou-se que algumas infecções abortaram a partir do 3.º dia após a inoculação, tal como sucedeu nas testemunhas. Porém, grande parte das infecções evoluiu originando cloroses onde apenas foi possível observar o início da esporulação (aparecimento dos primeiros soros uredospóricos) devido à queda prematura das folhas, provável consequência do "stress" a que foram submetidas. Por sua vez, Rodrigues (24) faz referência à formação de pústulas em cafeeiros portadores dos genes de resistência SH₁, SH₂, SH₃, e SH₅ na condição homocigota, quando após o tratamento com calor foram inoculadas com raças avirulentas. Tudo indica assim que o calor pode alterar a expressão de resistência dos genes no cafeeiro.

Os testes citológicos realizados nas testemunhas no caso da interação incompatível permitiram detectar a formação de calose e de lenhina que se admitiu desempenhem um papel importante na restrição do crescimento do fungo, contribuindo assim para a resistência observada. Nas folhas tratadas, a grande maioria das infecções apresentou micélio ramificado, bem distribuído no mesófilo e com diversos haustórios. Aqui, a lenhificação das células do hospedeiro não teve expressão nítida, observando-se apenas calose em redor de alguns haustórios (à semelhança do que se observa em interações compatíveis cafeeiro-ferrugem).

Também Elmhirst & Heath (9), nalgumas interações com ferrugens, como efeito de tratamento com calor (50°C, 30 ou 60 s) antes da inoculação referem, por um lado, o aumento no crescimento das hifas de infecção e na formação de células-mãe de haustórios e de haustórios e, por outro, uma ausência de modificações nas paredes celulares e conteúdos citoplasmáticos no hospedeiro. Por sua vez, Stermer & Hammerschmidt (32), em variedades do pepino resistentes ao *Cladosporium cucumerinum* Ell. & Arth. (inoculadas imediatamente após o tratamento com calor-50°C, 40 s), observaram maior crescimento das hifas e menor deposição de compostos afins da lenhina nas paredes celulares do hospedeiro, em comparação com as testemunhas. Concluíram assim, que o referido tratamento atrasou as respostas dinâmicas das plantas, incluindo as actividades essenciais para a resistência à doença. Ainda na interação cafeeiro-ferrugem alaranjada, Rodrigues (23) refere que estudos efectuados ao nível enzimático com extractos de folhas de cafeeiro previamente tratadas com calor (45°C, 1.5 h) indicaram uma perda isoenzimas da peroxidase, enzima que Maxemiuc & Dietrich (19) e Guedes (12) admitem estar envolvida na resistência do cafeeiro à ferrugem.

A ação específica do tratamento com calor na resistência as doenças é desconhecida (33), embora trabalhos recentes tenham demonstrado que o tratamento pelo calor aumenta a síntese de algumas "heat shock proteins" ao mesmo tempo que causa uma inibição temporária da síntese proteica normal (6, 20). Parece assim ser possível admitir que tenham sido alterações metabólicas induzidas nas folhas pelo tratamento com calor antes da inoculação as responsáveis pelo maior desenvolvimento do fungo e pela diminuição da capacidade de defesa ao agente patogénico observados nas folhas tratadas, quer na interação compatível quer na incompatível.

LITERATURA CITADA

1. ALLEN, P.J. 1957. Properties of a volatile fraction from uredospores of *Puccinia graminis* var. *tritici* affecting their germination and development. I. Biological activity. *Plant Physiology* 32:384-389
2. BROWDER, L.E. 1985. Parasite: host: environment specificity in the cereal rusts. *Annual Review of Phytopathology* 23:201-222.
3. CHAMBERLAIN, D.W.; GERDEMANN, J.W. 1966. Heat-induced susceptibility of soybeans to *Phytophthora megasperma* var. *sojae*, *Phytophthora cactorum* and *Helmintosporium sativum*. *Phytopathology* 56:70-73
4. CHAMBERLAIN, D.W. 1972. Heat-induced susceptibility to non-pathogens and cross-protection against *Phytophthora megasperma* var. *sojae* in soybean. *Phytopathology* 62:645-646
5. COLHOUN, J. 1973. Effects of environmental factors on plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 11:343-364.
6. COOPER, P.; HO, T.D. 1983. Heat shock proteins in maize. *Plant Physiology* 71:215-222
7. D'OLIVEIRA, B. 1954. As ferrugens do cafeeiro. *Revista do Café Português* 1(4):5-13; 2(5):5-12; 2(6):5-15; 2(7):9-17; 2(8):5-22; 4(16):5-15.
8. D'OLIVEIRA, B.; RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1961. O problema das ferrugens do cafeeiro. *Revista do Café Português* 8(29):5-50.
9. ELMHIRSI, J.F.; HEATH, M.C. 1989. Interactions of the bean rust and cowpea rust fungi with species of the *Phaseolus-Vigna* plant complex. II. Histological responses to infection in heat-treated and untreated leaves. *Canadian Journal of Botany* 67:58-72.
10. ESCHRICH, W.; CURRIER, H.B. 1964. Identification of callose by its diachrome and flurochrome reactions. *Stain Technology* 39:303-304.
11. ESKES, A.B. 1983. Incomplete resistance to Coffee leaf rust *Hemileia vastatrix*. Thesis Ph.D. Wageningen, The Netherlands. 140 p.
12. GUEDES, M.E.M. 1984. Formação de fitalexinas em interações incompatíveis *Coffea arabica-Hemileia vastatrix*. In *Simpósio sobre Ferrugens do Cafeeiro* (1983, Oeiras) Comunicações p. 205-216.
13. HAZEN, B.E.; BUSHNELL, W.R. 1983. Inhibition of the hypersensitive reaction in barley to powdery mildew by heat shock and cytochalasin B. *Physiological Plant Pathology* 23: 421-438
14. IKEGAMI, H. 1968. Heat-induced susceptibility of beans to rust. *Phytopathology* 58:773-775.
15. JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill. 523 p.
16. LITTLEFIELD, L.J.; HEATH, M.C. 1979. *Ultrastructure of rust fungi*. New York, Academic Press. 277 p.
17. MARTINS, E.M.F.; TIBURZY, R.; MORAES, W.B.C. 1985. Histological studies of compatible and incompatible interactions of coffee leaves and *Hemileia vastatrix*. *Fitopatologia Brasileira* 10:627-636.
18. MARTINS, E.M.F.; DE MARIA, A.C.; GRUNEWALDT-STOCKER, G.; MORAES, W.B.C. 1986. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat treatment. *Fitopatologia Brasileira* 11:889-909.
19. MAXEMIUC, V.; DIETRICH, S.M.C. 1985. Changes in phenols and oxidative enzymes in resistant and susceptible *Coffea arabica* inoculated with *Hemileia vastatrix* (coffee rust). *Revista Brasileira de Botânica* 8:185-190
20. NAGAO, R.I. 1989. The heat shock response in plants: Short-term heat treatment regimes and thermotolerance. In *Environmental stress in plants: Biochemical and physiological mechanisms*. J.H. Cherry (Ed.) Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag. Nato ASI Series. v. G19.
21. RIJO, L.; RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1978. Processo de infecção de *Hemileia vastatrix* Berk & Br. em cultivares susceptíveis e resistentes de *Coffea arabica* L. *Garcia de Orta (Série Estudos Agronômicos)* 5:23-24.
22. RIJO, L.; VASCONCELOS, M.I. 1984. Formação de calose e de lenhina em combinações incompatíveis *Coffea* sp. - *H. vastatrix*. In *Simpósio sobre Ferrugens do Cafeeiro* (1983, Oeiras) Comunicações. p. 267-281
23. RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1975. The coffee rusts: *Hemileia vastatrix* B. & Br. and *H. coffeicola* Maubl. & Rog. In *Colloque de Association Scientifique Internationale du Café (7)*. Hambourg. p. 401-408
24. RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1984a. Raças fisiológicas de *H. vastatrix*. In *Simpósio sobre Ferrugens do Cafeeiro* (1983, Oeiras) Comunicações. p. 67-79.
25. RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1984b. Coffee rust races and resistance. In *Coffee rust in the Americas*. R.H. Fulton (Ed.) Symposium Book no. 2. p. 41-58.
26. ROELFS, A.P. 1988. Genetic control of phenotypes in wheat stem rust. *Annual Review of Phytopathology* 26:351-367

27. SHERWOOD, R. T.; VANCE, C. P. 1976. Histochemistry of papillae formed in reed canary grass leaves in response to noninfecting pathogenic fungi. *Phytopathology* 66:503-510.
28. SILVA, M. C.; RIJO, L.; RODRIGUES JUNIOR, C. J. 1985. Differences in aggressiveness of two isolates of race III of *Hemileia vastatrix* on the cultivar Caturra of *Coffea arabica*. In *Colloque de Association Scientifique International du Café* (11., Lomé). p. 635-645.
29. SOTOMAYOR, I. A.; PURDY, L. H.; TRESE, A. T. 1983. Infection of sugarcane leaves by *Puccinia melanocephala*. *Phytopathology* 73: 695-699.
30. STAPLES, R. C.; GRAMBOW, H.; HOCH, H. C.; WYNN, W. K. 1983. Contact with membrane grooves induces wheat stem rust uredospore germings to differentiate appressoria but not vesicles. *Phytopathology* 73:1436-1439.
31. STAPLES, R.; MACKO, V. 1987. Germination of uredospores and differentiation of infection structures. In *The cereal rusts*. W. R. Bushnell, A. P. Roelfs (Eds.) Orlando, Fla., Academic Press. p. 255-289.
32. STERMER, B. A.; HAMMERSCHMIDT, R. 1982. Effects of heat-shock on varietal and non-host resistance in cucumbers. *Phytopathology* 72:969.
33. STERMER, B. A. & HAMMERSCHMIDT, R. 1984. Heat shock induces of resistance to *Cladosporium cucumerinum* and enhances peroxidase activity in cucumbers. *Physiological Plant Pathology* 25:239-249.
34. TIBURZY, R.; MARTINS, E. M. F.; MORAES, W. B. C. 1983. Visualization of *Hemileia vastatrix* structures in coffee leaves by fluorescence microscopy. *Fitopatologia Brasileira* 8:461-466.
35. WYNN, W. K. 1976. Appressorium formation over stomates by the bean rust fungus: Response to a surface contact stimulus. *Phytopathology* 66:136-146.
36. YARWOOD, C. E. 1956. Heat-induced susceptibility of beans to some viruses and fungi. *Phytopathology* 46:523-525.
37. YARWOOD, C. E.; HOOKER, A. L. 1966. Heat predisposition to corn rust. *Phytopathology* 56:510-511.

RESEÑA DE LIBROS

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. 1991. *Studia oecologica*. v. 8. 249 p.

Studia Oecologica es una publicación periódica sobre estudios de ecología de la Universidad de Salamanca, España.

Los trabajos que se recogen en este número de *Studia Oecologica* forman parte de las comunicaciones presentadas en las III Jornadas de Ecología Terrestre, auspiciadas por la Asociación Española de Ecología Terrestre y que se llevarán a cabo en León, del 16 al 20 de setiembre de 1991.

De los 22 trabajos publicados, 19 corresponden a ecología vegetal. De éstos, 10 están referidos a sistemas

forestales, tanto en los aspectos del suelo como de la diversidad, dinámica poblacional, floración, productividad y mortalidad de especies vegetales. Los nueve restantes se relacionan con el desarrollo y la dinámica estructural de distintas formas de vida.

Solamente tres trabajos están asociados a la ecología animal y referidos a la diversidad de la colembófauna en suelos de encinar, la mortalidad de aves esteparias y la efectividad de insectos polinizadores.

NEVER BONINO
INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA
AGROPECUARIA
ARGENTINA