

FATORES RELACIONADOS COM A REPRODUÇÃO ASSEXUADA DE

Septoria lycopersici Speg

CHUKICHI KUROZAWA

Engenheiro-Agrônomo

PROF. DR. ERIC BALMER

Orientador

*Dissertação apresentada à
Escola Superior de Agricultura
«Luiz de Queiroz» da
Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de
Mestre.*

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
1975

A minha esposa,

Gloria,

aos meus filhos,

Rodolfo e Gustavo,

dedico.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pelas facilidades oferecidas para a realização do curso de pós-graduação.

Aos Professores do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", pelo apoio, incentivo e sugestões.

À Coordenadoria do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos, concedida durante a realização do curso.

Ao Professor Dr. Eric Balmer, pelo incentivo, orientação, sugestões, durante a realização do presente trabalho, e redação da tese.

Ao Professor Dr. Augusto Ferreira da Eira, pelo apoio, sugestões e colaboração prestados, durante a realização do presente trabalho, e na redação da tese.

Aos Professores Dr. Caio O. N. Cardoso, - Dr. Hasime Tokeshi e Dr. Ricardo A. A. Veiga, pela revisão dos originais e sugestões apresentadas.

As Professoras Dr^a Sheila Zambello de Pinho e Dr^a Marta Maria Mischan, pela orientação e sugestões apresentadas nas análises estatísticas.

Aos Professores Dr^a Alice Tamburini e Dr. Nelson de Souza, pelo fornecimento de vitaminas e micronutrientes.

Aos Professores Dr. Antenor Pasqual e Dr. Júlio Nakagawa, pela análise da peptona e pelo fornecimento de solos e água desmineralizada.

Ao Professor M.S. Yodiro Masuda, pelas sugestões e pela colaboração prestada na redação do "summary".

Ao Professor Décio Ranzani da Silva, pelas sugestões e revisão do texto.

Ao Professor Dr. Pedro Hélio Luchiari, pelas facilidades oferecidas na utilização do aparelho de ar condicionado.

Aos acadêmicos Ângelo Cataneo e Valdomiro Tormen, pelo auxílio nas análises estatísticas.

À senhorita Maria Gemma Urbas, pela elaboração dos gráficos, e ao sr. Josué Amaral, pelo serviço de datilografia.

Aos funcionários do Departamento de Fito-tecnia da F.C.M.B.B., especialmente ao sr. Hercílio Antônio da Rocha, pela colaboração prestada no desenvolvimento deste trabalho .

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS	8
3.1. Plantas hospedeiras	8
3.2. Cepas utilizadas	8
3.3. Manutenção das culturas	9
3.4. Substratos, meios de cultura e nutrientes utilizados para o desenvolvimento do fungo.....	9
3.5. Preparo do inóculo	11
3.6. "Inoculação" de substratos	12
3.7. Parâmetros de avaliação e análise estatística.	12
3.8. Ensaio	14
3.8.1. Efeito de meios complexos e sintéticos na formação de "conídios secundários" e picnídios (ensaio I)	14
3.8.2. Efeito de diferentes fatores nutricionais e ambientais na formação de "conídios - secundários"	14
3.8.2.1. Efeito de fontes de nitrogênio, na formação de "conídios secundários"(ensaio II)	15
3.8.2.2. Efeito de níveis de nitrato de cálcio na formação de "conídios secundários" (ensaio III)	15
3.8.2.3. Capacidade de formação de "conídios - secundários" por várias cepas de <u>S. lycopersici</u> , em dois níveis de nitrato de cálcio (ensaio IV).....	15
3.8.2.4. Efeito do regime de iluminação, substratos e idade de cultura na formação de "conídios secundários"(ensaio V)...	16

3.8.2.5. Efeito de cultivo e repicagens suces- sivas em nitrato de cálcio sobre a ca- pacidade de formação de "conídios se- cundários" e volta à capacidade de pro- dução de picnídios em EDA (ensaio VI).	16
3.8.3. Comparação da patogenicidade entre o inó- culo constituído de "conídios secundá- rios" e fragmentos de micélio com coní- dios produzidos em picnídios (ensaio VII)	17
3.8.4. Efeito de fatores nutricionais na produ- ção de picnídios, cirros e picnídios fér- teis	18
3.8.4.1. Efeito de fatores nutricionais na pro- dução de picnídios (ensaio VIII).....	18
3.8.4.2. Efeito de fatores nutricionais na pro- dução de picnídios, cirros e picnídios férteis (ensaio IX)	19
3.8.4.3. Efeito de níveis de glucose e nitrato de cálcio na produção de picnídios, cir- ros e picnídios férteis, em meio con- tendo solução basal e tiamina (ensaio X)	20
3.8.4.4. Efeito de níveis de glucose e peptona na produção de picnídios, cirros e pic- nídios férteis, em meio contendo solu- ção basal e tiamina (ensaio XI).....	21
4. RESULTADOS	22
4.1. Efeito de meios sintéticos e complexos de cul- tura na formação de "conídios secundários" e picnídios (ensaio I)	22

4.2. Efeitos de diferentes fatores nutricionais e ambientais na formação de "conídios secundários"	25
4.2.1. Efeito de fontes de nitrogênio, na formação de "conídios secundários" (ensaio II)	25
4.2.2. Efeito de níveis de nitrato de cálcio na formação de "conídios secundários" (ensaio III)	25
4.2.3. Capacidade de formação de "conídios secundários" por várias cepas de <u>S. lycopersici</u> , em dois níveis de nitrato de cálcio (ensaio IV)	25
4.2.4. Efeito do regime de iluminação, meios de cultura e idade da cultura, na formação de "conídios secundários" (ensaio V)	29
4.2.5. Efeito do cultivo e repicagens sucessivas em nitrato de cálcio, sobre a capacidade de formação de "conídios secundários" e volta à capacidade de produção de picnídios em BDA (ensaio VI)	30
4.3. Comparação da patogenicidade entre o inóculo constituído de "conídios secundários" e fragmentos de micélio com o constituído por conídios produzidos em picnídios (ensaio VII)...	31
4.4. Efeito de fatores nutricionais, na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis ...	32
4.4.1. Efeito de fatores nutricionais na produção de picnídios (ensaio VIII).....	32

4.4.2. Efeito de fatores nutricionais, na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis (ensaio IX)	33
4.4.2.1. Produção de picnídios.....	33
4.4.2.2. Produção de cirros	35
4.4.2.3. Produção de picnídios férteis	36
4.4.3. Efeito de níveis de glucose e de nitrato de cálcio, na produção de picnídios cirros e picnídios férteis, em meio contendo solução basal e tiamina (ensaio X)	37
4.4.3.1. Produção de picnídios	38
4.4.3.2. Produção de cirros	40
4.4.3.3. Produção de picnídios férteis	43
4.4.4. Efeito de níveis de glucose e de peptona na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis, em meios contendo solução basal e tiamina (ensaio XI)	43
4.4.4.1. Produção de picnídios	45
4.4.4.2. Produção de cirros	46
4.4.4.3. Produção de picnídios férteis	51
4.5. Correlação entre número de cirros e de picnídios férteis	54
5. DISCUSSÃO	55
5.1. Formação de "conídios secundários"	55
5.2. Formação de conídios em picnídios	58
6. CONCLUSÕES	64
7. RESUMO	65
8. SUMMARY	66
9. BIBLIOGRAFIA CITADA	67
10. APÊNDICE	71

1. INTRODUÇÃO

O agente causal da mancha foliar do tomateiro, Septoria lycopersici Speg, tem sido verificado nas principais regiões de cultivo do tomateiro, e ocasiona, via de regra, graves prejuízos econômicos (PRITCHARD & PORTE, 1924; SORIANO, 1928; DRUMMOND, 1936; ROMBOUITS, 1937; CHUPP & SHERF, 1960).

Na literatura disponível, foram deparadas muitas referências relativas, principalmente, ao controle químico da doença, enquanto que são escassos trabalhos sobre fisiologia de reprodução de S. lycopersici. Segundo as fontes disponíveis, a maioria dos autores utilizou substratos complexos, ricos em nutrientes, ao passo que alguns utilizaram substratos sintéticos.

Como os substratos complexos geralmente incluem a utilização de extratos, certas variações nutricionais, sistemáticas ou esporádicas, podem acarretar erros experimentais, principalmente em trabalhos que envolvam a fisiologia da reprodução ou de cujos resultados ela dependa. Nestes estudos, faz-se necessário utilizar substratos sintéticos de que se conheçam, quantitativa e qualitativamente, os nutrientes incorporados deliberadamente ao meio.

Dentre os fatores que influem na reprodução as sexual de S. lycopersici, a nutrição assume grande importância, pois está intimamente relacionada com a capacidade reprodutiva do fungo (COCHRANE, 1958). Da mesma forma, para se avaliar o efeito nutricional na reprodução de fungos, particularmente daqueles que formam corpos frutíferos, deve-se levar em conta, não só a produção destes corpos, mas, principalmente, a esporulação.

O presente trabalho objetiva melhorar o conhecimento dos fatores que influem na formação de "conídios secundários", picnídios, cirros e picnídios férteis de S. lycopersici e estudar alguns parâmetros de avaliação que melhor traduzam sua capacidade reprodutiva.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os trabalhos desenvolvidos sobre a fisiologia de reprodução de fungos são numerosos. Através da revisão de literatura, averiguou-se que, para um grande número de fungos, a formação de picnídios e conídios está condicionada a determinadas condições de temperatura, luz, umidade, nutrição, pH, aeração e várias outras (LEONIAN, 1924; PRITCHARD & PORTE, 1924; HARRINGTON, 1947; MACNEILL, 1950; KUROZAWA, 1972; JONES & LEE, 1974; e muitos outros autores, citados por COCHRANE, 1958).

A influência da luz visível e próxima ao ultravioleta, segundo COCHRANE (1958), pode refletir-se em três aspectos na esporulação de fungos: efeito indutor, efeito inibitório e neutro. Segundo LEACH (1962), o efeito indutor da luz fluorescente na esporulação de muitos fungos, deve-se à presença do espectro ultravioleta, em quantidade relativamente pequena. Para S. lycopersici, KUROZAWA (1972), estudando o efeito do regime de iluminação sobre a esporulação, verificou que a luz com comprimento de ondas próximo à ultravioleta induziu à esporulação do fungo.

No tocante à foto-sensibilidade de alguns fungos, LEACH (1965) verificou que nos esporos existem substâncias esporogênicas em quantidades suficientes para favorecer a esporulação no escuro, enquanto que a partir do micélio, a esporulação é induzida pela ação da luz ultravioleta. De maneira semelhante, ZAMBRANO PEREZ (1972), estudando a reprodução de Mycosphaerella melonis (Pass) Chiu & Walker, verificou que a formação de picnídios no escuro era devida ao tipo de inóculo, pois, quando o inóculo era constituído de micélio, necessitava de indução luminosa, enquanto que, quando o inóculo era constituído de conídios, a indução lu-

minosa tornava-se dispensável.

Por outro lado, segundo HANSEN (1938), os fungos podem apresentar-se sob o tipo micelial e conidial. O tipo micelial caracteriza-se pela baixa produção de conídios ou pela ausência de produção, enquanto que o tipo conidial produz muitos conídios e, usualmente, menos micélio aéreo. Existem, na literatura, numerosos trabalhos, relacionados com a variabilidade cultural de fungos (BONDE, 1929; HANSEN, 1938; JOHNSON, 1952; HOCKER, 1957).

Com referência à temperatura adequada para crescimento e esporulação de S. lycopersici, várias foram as citações encontradas na literatura. PRITCHARD & PORTE (1924), HARRINGTON (1947) e RIZINSKI (1966) estudaram a influência da temperatura no seu crescimento e esporulação, concluindo que a temperatura adequada está compreendida entre 20 e 25°C.

Considerando o efeito nutricional na esporulação de S. lycopersici, MACNEILL (1950) verificou que, em concentrações muito elevadas de dextrose, sacarose, extratos de folhas, frutos e raízes de tomateiro, ocorreu abundante crescimento vegetativo e formação de picnídios, mas, frequentemente, os picnídios apresentavam-se sem conídios. Resultados semelhantes, para outros fungos, foram obtidos por vários pesquisadores, citados por COCHRANE (1958). Da mesma forma, segundo este autor, níveis muito elevados de nitrogênio podem causar excessivo crescimento vegetativo e suprimir a esporulação de muitos fungos.

Na literatura consultada, não se encontraram referências sobre a influência da relação C/N, na produção de picnídios e conídios de S. lycopersici. Entretanto, KIMATI (1970), estudando o desenvolvimento da fase perfeita de

Colletotrichum lindemuthianum (Sacc et magn) Scrib, verificou que a relação C/N, bem como a adição de vitaminas e micronutrientes, é muito importante na produção de ascosporos. KIMATI (1970) observou ainda que a influência da relação C/N, favorecendo a esporulação, apresentava-se numa faixa bastante ampla, variando de 29,8 : 1 a 89,6 : 1. A complexidade do efeito da relação C/N, também estudada por MATHUR, LILLY & BARNETT (1950), observando eles que a relação C/N entre 4:1 e 16:1 foi mais favorável à esporulação de C. lindemuthianum, quando utilizaram glucose e neopeptona; entretanto, substituindo-se a fonte de nitrogênio, a relação C/N ótima também foi alterada.

Na literatura consultada, encontraram-se algumas publicações (Stevens & Hall, citados por LEONIAN, 1924; e JONES & LEE, 1974), que relatam outro tipo de reprodução assexual de algumas espécies de Septoria, envolvendo a formação de conídios fora de picnídios. Segundo Stevens & Hall, citados por LEONIAN (1924), quando os esporos de duas espécies de Septoria foram colocados esparsamente no meio de cultura, ocorreu a formação normal de picnídios, enquanto que, quando colocados densamente, as paredes dos picnídios não se formaram, ocorrendo o aparecimento de esporos hifomicetosos (hyphomicetous), em vez de picnídios. Por outro lado, JONES & LEE (1974) verificaram a formação de conídios fora de picnídios, em S. tritici Rob & Desm., denominando-os conídios secundários. Esses conídios secundários foram formados em meio de Czapek-Dox V-8 agar, quando os conídios obtidos de picnídios foram distribuídos à superfície do meio de cultura pelo método de espalhamento (smear method). Para outros fungos, LEONIAN (1924), estudando o comportamento de Ascochyta nymphaeae, Endothia parasitica e Cytospora mendax, verificou que, ao transferir esses fungos da solução de

nutrientes para água destilada, certas partes dos corpos de frutificação foram completamente eliminadas. Para a Ascochyta nymphaeae, frequentemente não ocorreu a formação de paredes de picnídios, de maneira que os esporos formaram-se tanto no interior de alguns picnídios de tamanho reduzido, como em massas descobertas. A transferência subsequente dessas estruturas da água destilada para a solução de nutrientes proporcionou o reaparecimento das paredes de picnídios. HARRIS (1935) estudou as características morfológicas de S. lycopersici, desde o desenvolvimento do micélio vegetativo até os estágios reprodutivos da formação de picnídios e picnidiósporos à germinação dos picnidiósporos em gota pendente e no hospedeiro e ainda a sua afinidade com os tecidos do hospedeiro. Apesar desse estudo pormenorizado das características morfológicas do fungo, o autor não fez nenhuma menção à formação de "conídios secundários". MACNEILL (1950), estudando as características das células dos conídios de S. lycopersici, em relação ao núcleo, verificou que cada célula de esporos multicelulares possui um núcleo. Este autor também não fez qualquer referência à formação de "conídios secundários".

Autores como SHEAR, ZEYEN & OOKA (1974), estudando a conservação de espécies de Sepatoria, isoladas de cereais, observaram que o fungo se manteve viável em solo esterilizado, pelo menos durante 20 meses. Entretanto, segundo esses autores, a sobrevivência do fungo pode estar condicionada aos tipos de solo, isolados de fungo, condições culturais que precedem ao armazenamento, conteúdo de água no solo durante o armazenamento, conteúdo de gases no recipiente armazenador e condições ambientais nas quais as preparações foram conservadas. Por outro lado, MERLO & PERERA (1964) concluíram que S. lycopersici não é transmissível por solos e sementes.

A avaliação da capacidade reprodutiva em organismos formadores de corpos de frutificação tem sido efetuada pela contagem do número de corpos frutíferos (LEONIAN, 1924 e ZAMBRANO PEREZ, 1972) e, com raras exceções (MACNEILL, 1950 e KIMATI, 1970), esse parâmetro tem sido associado à fertilidade. Na literatura disponível, não foram encontradas referências sobre correlações numéricas entre a produção de picnídios e outros parâmetros indicativos da fertilidade, aspecto que deve merecer maior atenção dos pesquisadores devido à sua importância nos estudos referentes à fisiologia da reprodução de fungos, que formam corpos de frutificação.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Plantas hospedeiras

A variedade e espécies de tomateiro utilizadas no presente trabalho foram: Santa Cruz-gigante B, (T-16), Lycopersicon pimpinellifolium, (T-13), L. glandulosum, (T-59), L. hirsutum f. glabratum, (T-77) e L. glandulosum, (T-88), Essa variedade e essas espécies foram utilizadas por KUROZAWA (1972) e se comportaram diferentemente às cepas de S. lycopersici.

3.2. Cepas utilizadas

As cepas de S. lycopersici, utilizadas no presente trabalho, foram isoladas de folhas de tomateiro de diferentes procedências e épocas de coleta, conforme são apresentadas no Quadro 1.

Com exceção do ensaio IV, em que se utilizaram todas as cepas apresentadas no Quadro 1, nos demais somente se utilizou a cepa S-114.

Quadro 1. Procedência e datas de coleta das cepas de S. lycopersici utilizadas nos ensaios.

Cepas	Município de procedência	Data de coleta
S-2	Botucatu	22-01-1969
S-30	Botucatu	27-05-1969
S-51	Jaboticabal	03-11-1969
S-53	Botucatu	17-11-1969
S-110	Taquaritinga	07-07-1970
S-111	Jaboticabal	07-07-1970
S-112	Monte Alto	07-07-1970
S-113	Taquaritinga	07-07-1970
S-114	Taquaritinga	07-07-1970
S-115	Taiúva	07-07-1970
S-165	Botucatu	26-01-1971
S-194	Piracicaba	07-06-1971

3.3. Manutenção das culturas

Os conídios e micélios das cepas de S. lycopersici foram mantidos em água destilada e esterilizada, conforme o método recomendado por FIGUEIREDO (1967), e conservados em geladeira a 4°C.

3.4. Substratos, meios de cultura e nutrientes utilizados para o desenvolvimento do fungo

- 1 - BDA = batata - dextrose - agar (KELMAN, 1967).
- 2 - MPA = maltose, 4 g; peptona, 1 g; água destilada q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g. (KELMAN, 1967).
- 3 - CA = cenoura, extrato aquoso de 100 g; água destilada q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g (modificação do método de TUIITE, 1969).
- 4 - Extrato de solo RPV-RLV-agar = extrato aquoso de 200 g de Regosol "Intergrade" para Podzólico Vermelho-Amarelo e "Intergrade" para Latosol vermelho-amarelo - Agrupamento indiscriminado, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g (Adaptação do método de LOCKE, 1948).
- 5 - Extrato de solo LEa-agar = extrato aquoso de 200 g de Latosol vermelho-escuro, fase arenosa, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g (adaptação do método de LOCKE, 1948).
- 6 - GA = glucose, 10 g; água destilada, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g.
- 7 - Nitrato de cálcio-agar = $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g; água destilada, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g. (modificação do método empregado por KIMATI, 1970).
- 8 - ED-extrato de solo RPV-RLV-agar = (batata, extrato aquoso de 200 g, dextrose, 20 g, extrato aquoso de 200 g de solo RPV-RLV, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g).
- 9 - MP - extrato de solo RPV-RLV-agar - (maltose, 4 g; peptona, 1 g; extrato aquoso de 200 g de solo RPV-RLV, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g).

- 10 - Cenoura-extrato de solo RPV-RLV-agar (cenoura, extrato aquoso de 100 g; extrato aquoso de 200 g de solo RPV-RLV q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g).
- 11 - Glucose-extrato de solo RPV-RLV-agar (glucose, 10 g; extrato aquoso de 200 g de solo RPV-RLV, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g).
- 12 - Nitrato de cálcio-extrato de solo RPV-RLV-agar (nitrato de cálcio, 0,5 g; extrato aquoso de 200 g de solo RPV-RLV, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g).
- 13 - Sulfato de amônio-agar = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,28 g; água destilada, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g.
- 14 - Nitrato de amônio-agar = NH_4NO_3 , 0,17 g; água destilada q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g.
- 15 - Proteose peptona-agar = proteose peptona, 0,42 g; água destilada, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g.
- 16 - Bacto-tryptona-agar = bacto-tryptona, 0,45 g; água destilada, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g.
- 17 - Peptona-agar = peptona, 0,38 g; água destilada, 1.000 ml; agar, 13 g.
- 18 - Caseína hidrolizada-agar = caseína hidrolizada, 0,35 g; água destilada, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g.
- 19 - Solução basal-agar = KH_2PO_4 , 1 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g; água destilada, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g.
- 20 - Tiamina-agar = tiamina, 100 μg ; água destilada, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g.
- 21 - Solução basal-nitrato de cálcio-agar = KH_2PO_4 , 1 g; - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g; água destilada, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g.
- 22 - Asparagina-glucose-agar = asparagina, 2,17 g; glucose, 20 g; água destilada, q.s.p. 1.000 ml; agar, 13 g.
- 23 - Vitaminas = tiamina, 100 μg ; biotina, 5 μg ; inositla, 5.000 μg ; piridoxina, 100 μg ; ácido nicotínico, 750 μg ; água destilada, q.s.p. 1.000 ml.

Micronutrientes - 2 ml da solução = $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, 723,5 mg
 $ZnSO_4 \cdot 4H_2O$, 439,8 mg; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, 203,0 mg; H_2SO_4 ,
q.s.p. clarear a solução; água destilada, q.s.p. -
1.000 ml.

Os níveis de vitaminas e micronutrientes utilizados e os métodos de preparação foram semelhantes aos empregados por KIMATI (1970).

3.5. Preparo do inóculo

Os conídios formados no interior dos picnídios foram obtidos pela incubação das cepas de S. lycopersici em BDA, em regime de iluminação contínua - com 4 lâmpadas fluorescente de 20 watts, tipo luz do dia, distanciadas 35 cm da cultura do fungo, a uma temperatura de 20 a 25°C.

Para a obtenção de "conídios secundários" (*) foram utilizadas as mesmas condições ambientais descritas acima, com a diferença de que as cepas foram cultivadas em meio constituído de nitrato de cálcio-agar. A suspensão de "conídios secundários" foi obtida através da raspagem da superfície do meio, com auxílio de uma alça em "L", enquanto que a suspensão de conídios, produzidos em picnídios, foi obtida pela coleta individual de cirros, mediante o uso da mesma alça e de um microscópio estereoscópico.

(*) Embora o fungo estudado neste trabalho pertença a uma espécie de Septoria diferente daquelas estudadas por JONES & LEE (1974), foi adotado o mesmo termo "conídios secundários", para designar os conídios produzidos fora de picnídios.

3.6. "Inoculação" de substratos

Para a "inoculação" dos substratos, utilizou-se 0,2 ml de uma suspensão de conídios, na concentração de 10^5 conídios/ml, que foram distribuídos na superfície dos substratos com auxílio de uma espátula de Drigauský (KUROZAWA, 1972).

3.7. Parâmetros de avaliação e análise estatística

Nos estudos referentes à fisiologia da reprodução assexuada de S. lycopersici, os ensaios foram avaliados de acordo com os parâmetros que seguem:

Produção de picnídios - A produção de picnídios foi avaliada pelo número médio de corpos de frutificação, produzidos em 30 campos microscópicos, de $2,86 \text{ mm}^2$, tomados ao acaso, por placa de petri. Para facilitar a visualização dos picnídios, principalmente quando ocorriam em densos aglomerados horizontais, além da iluminação direta do microscópio, utilizou-se, de maneira intermitente, um potente foco luminoso sobre o objeto. Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{X + 0,5}$, onde X corresponde ao número médio de picnídios por parcela, sempre que ocorreram valores iguais a zero.

Produção de cirros - A produção de cirros foi avaliada como média obtida por contagens em 30 campos de microscópio estereoscópico, de $9,51 \text{ mm}^2$, tomados ao acaso, por placa de petri. Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{X + 0,5}$, onde X corresponde ao número médio de cirros por parcela, quando ocorreram valores iguais a zero.

Porcentagem de picnídios férteis - A determinação da porcentagem de picnídios férteis foi efetuada pela amostragem de 40 picnídios, tomados ao acaso, por placa de petri, que foram examinadas individualmente ao microscópio, quanto à formação de conídios. Para efeito de análise estatística, os dados de porcentagem de picnídios férteis foram transformados em $\text{arc sen } \sqrt{\%}$ e $\text{arc sen } \sqrt{\% + 0,5}$, sendo o último caso aplicado aos ensaios em que ocorreram valores de porcentagem iguais a zero.

A estimativa dos valores das parcelas perdidas nos ensaios X e XI foi feita pelo método iterativo ou das aproximações sucessivas (CAMPOS, 1964).

Efetuu-se uma análise de correlação linear entre o número de cirros e de picnídios férteis por unidade de área (mm^2), envolvendo as médias dos tratamentos dos ensaios X e XI. O número de picnídios férteis foi estimado com base no número de picnídios e na porcentagem de picnídios férteis. O método analítico seguiu as recomendações de PIMENTEL GOMES (1966).

Ocorrência de conídios secundários - A ocorrência de "conídios secundários" foi avaliada quantitativamente e qualitativamente, considerando-se sua morfologia e intensidade de formação, através da amostragem de no mínimo 30 campos microscópicos ao acaso, por placa de petri. No ensaio IV, foi examinada a formação de "conídios secundários" na superfície e no interior do substrato. As estruturas formadas no interior dos substratos foram visualizadas abaixando-se o foco do microscópio.

As avaliações dos parâmetros já citados foram efetuadas 21 dias após a "inoculação" dos substratos.

3.8. Ensaios

Para estudar os efeitos das condições ambientais e nutricionais, sobre a fisiologia da reprodução assexual de S. lycopersici, instalou-se uma série de 11 ensaios, cujo material e metodologia específicos são apresentados a seguir.

3.8.1. Efeito de meios complexos e sintéticos na formação de "conídios secundários" e picnídios (Ensaio I).

Neste ensaio foi utilizada a cepa S-114 de S. lycopersici, pelo fato de esporular abundantemente no BDA. Os tratamentos com 3 repetições constituíram-se dos seguintes meios complexos e sintéticos: MPA, BDA, extrato de CA, extrato de solo RPV-RLV-agar, MP-extrato de solo RPV-RLV-agar, ED-extrato de solo RPV-RLV-agar, Cenoura-extrato de solo RPV-RLV, GA, nitrato de cálcio-agar, extrato de solo LEa-agar, glucose-extrato de solo RPV-RLV-agar e nitrato de cálcio-extrato de solo RPV-RLV, com o objetivo de detectar o efeito destes elementos sobre a formação de "conídios secundários" e picnídios.

A avaliação desses parâmetros foi feita conforme a metodologia descrita no item 3.7.

3.8.2. Efeito de diferentes fatores nutricionais e ambientais na formação de "conídios secundários"

Foi testada uma série de substratos sintéticos e complexos na formação de "conídios secundários", para algumas cepas de S. lycopersici.

3.8.2.1. Efeito de fontes de nitrogênio, na formação de "conídios secundários". (ensaio II)

O efeito de substratos na formação de "conídios secundários", contendo separadamente nitrogênio orgânico e inorgânico, em níveis equivalentes, foi estudado mediante o uso da Cepa S-114 de S. lycopersici, nos seguintes meios de cultura: (*) Nitrato de cálcio-agar, sulfato de amônio-agar, nitrato de amônio-agar, proteose peptona-agar, bacto-tryptona-agar, peptona-agar, caseína hidrolizada-agar e BDA.

A avaliação, quanto à formação de "conídios secundários", seguiu a metodologia descrita no item 3.7.

3.8.2.2. Efeito de níveis de nitrato de cálcio na formação de "conídios secundários" (ensaio III)

A suspensão de conídios da cepa S-114 foi "inoculada" em substratos que contêm seis níveis de nitrato de cálcio, a saber: 0,00; 0,15; 0,30; 0,45; 0,50 e 1,00 g por litro de água destilada e desmineralizada e 13 g de agar.

A formação de "conídios secundários" foi avaliada de acordo com a metodologia descrita no item 3.7.

3.8.2.3. Capacidade de formação de "conídios secundários" por várias cepas de S. lycopersici, em dois níveis de nitrato de cálcio (ensaio IV)

A suspensão de conídios das culturas: S-2, S-30, S-51, S-53, S-110, S-111, S-112, S-113, S-114, S-115, S-165 e S-194 foi obtida e plaqueada, conforme a metodologia

(*) A partir deste ensaio, foi utilizada a água destilada e desmineralizada nos substratos e meios de cultura.

descrita nos itens 3.5 e 3.6, sobre um substrato constituído de nitrato de cálcio-agar, nos níveis de 0,5 e 1,0 g por litro.

A formação de "conídios secundários" foi avaliada conforme metodologia descrita em 3.7.

3.8.2.4. Efeito do regime de iluminação, substratos e idade de cultura na formação de "conídios secundários" (ensaio V)

A suspensão de conídios da cultura S-114 - foi obtida e "inoculada", conforme os itens 3.5 e 3.6, em substrato de nitrato de cálcio e extrato de solo RPV-RLV, já citados anteriormente.

O fungo foi submetido a dois regimes de iluminação: presença e ausência de luz. O regime de iluminação contínua seguiu a metodologia descrita no item 3.5 e o regime de ausência de luz foi obtido protegendo-se as placas com laminados de alumínio, desde a "inoculação" até a época de avaliação.

As avaliações foram efetuadas no 7º, 14º e 21º dias, após a "inoculação" dos substratos.

3.8.2.5. Efeito do cultivo e repicagens sucessivas em nitrato de cálcio sobre a capacidade de formação de "conídios secundários" e volta à capacidade de produção de picnídios em BDA (ensaio VI).

A suspensão de conídios da cepa S-114, preparada e inoculada conforme os métodos descritos nos itens 3.5 e 3.6, foi incubada simultaneamente em meios de BDA e

nitrato de cálcio-agar, sendo este procedimento considerado a 1ª passagem.

Duas semanas após a "incubação", quando o fungo já apresentava grande quantidade de cirros no BDA, foi feita observação microscópica dos "conídios secundários", no meio de nitrato de cálcio, conforme o método citado no item 3.7.

Os "conídios secundários" e micélios formados no meio de nitrato de cálcio foram suspensos em água, mediante a raspagem da superfície do meio, conforme a metodologia descrita no item 3.5. Para a determinação da concentração de inóculo, os "conídios secundários" e fragmentos de micélio foram considerados sem distinção. A "inoculação" dessa suspensão em meios de BDA e nitrato de cálcio foi considerada a 2ª passagem. Duas semanas após, observou-se, com auxílio de um microscópio, os substratos de maneira idêntica à realizada por ocasião da 1ª passagem.

A obtenção da suspensão de "conídios secundários" e micélio, obtida da 2ª passagem, e a "inoculação" para a 3ª passagem foram efetuadas de maneira idêntica à descrita acima.

3.8.3. Comparação da patogenicidade entre o inóculo constituído de "conídios secundários" e fragmentos de micélio, com conídios produzidos em picnídios (ensaio VII)

Utilizaram-se dois tipos de inóculo, sendo um constituído da suspensão de "conídios secundários" e fragmentos de micélio, e o outro, de conídios produzidos em picnídios, da cepa S-114 de S. lycopersici, seguindo a metodologia descrita em 3.5 e 3.6.

Em seguida, procedeu-se à inoculação da 3ª e 4ª folhas de plantas de tomateiro da variedade Santa Cruz gigante B, (T-16) e das seguintes espécies selvagens: Lyco-persicon pimpinellifolium (T-13), L. glandulosum (T-59); L. hirsutum var. glabratum (T-77) e L. glandulosum (T-88). Utilizou-se a concentração de 20.000 conídios/ml, para inoculação das plantas que apresentavam a 4ª folha com um comprimento variável de 3 a 8 cm. A avaliação foi feita 14 dias após a "inoculação", medindo-se o diâmetro das cinco maiores manchas de cada uma das quatro plantas do vaso (parcela). A metodologia deste ensaio foi semelhante à adotada por KUROZAWA (1972). Utilizou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições.

3.8.4. Efeito de fatores nutricionais na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis

O efeito da composição de meios sintéticos, complexos e das combinações entre níveis de fontes de carbono e nitrogênio na formação de conídios em picnídios, pela cepa S-114 de S. lycopersici foi estudado pela instalação dos seguintes ensaios:

3.8.4.1. Efeito de fatores nutricionais na produção de picnídios (ensaio VIII).

O efeito da adição de vários elementos isoladamente e em combinações na formação de picnídios foi estudado nos seguintes meios sintéticos e complexos: solução basal-agar, nitrato de cálcio-agar, tiamina-agar, solução basal-nitrato de cálcio-agar, solução basal-tiamina-agar, nitrato de cálcio-tiamina-agar, nitrato de cálcio-tiamina-solução basal-agar, solução basal-tiamina-glucose(20g/l)-agar, GA (glucose 20 g/l e 40 g/l), solução basal-nitrato de cálcio-glucose (20 g/l)-agar, solução basal-glucose (20 g/l)-

agar, nitrato de cálcio-glucose (20 g/l)-agar, glucose (20 g/l)-tiamina-agar, tiamina-glucose (40 g/l)-agar, nitrato de cálcio-tiamina-glucose (20 g/l)-agar, solução basal-nitrato de cálcio-tiamina-glucose (20 g/l)-agar e BDA.

Nos meios utilizados neste ensaio, bem como em todos os meios onde houve a incorporação de vitaminas, foi tomada a precaução de adicioná-las assepticamente, evitando-se o processo da autoclavagem.

O meio basal utilizado foi semelhante ao empregado por KIMATI (1970), baseado em Lilly e Barnett.

O preparo da suspensão de conídios de S.lycopersici, o método de "inoculação", as condições de incubação e época de avaliação seguiram a metodologia citada nos itens 3.5, 3.6 e 3.7.

Utilizou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, com 18 tratamentos e 3 repetições. O BDA não foi incluído na análise estatística. A análise estatística foi efetuada conforme a metodologia citada no item 3.7.

3.8.4.2. Efeito de fatores nutricionais na produção de picnídios, cirros, e picnídios férteis (ensaio IX).

De maneira similar ao ensaio VIII, foram preparados alguns meios sintéticos de cultura, adicionando-se, separadamente ou em combinações, as vitaminas e os macro e micronutrientes, de tal forma que se constituíssem os seguintes meios: asparagina-glucose-agar (pH = 5,80*), nitrato de cálcio-agar (pH = 6,15), solução basal-nitrato de cálcio-tiamina-agar (pH = 4,70), solução basal-tiamina-glucose-agar (pH = 5,30), solução basal-nitrato de cálcio-tiamina-

(* a determinação do pH foi efetuada após a autoclavagem

glucose-agar (pH = 4,50) e solução basal-nitrato de cálcio-tiamina-glucose-vitaminas-micronutrientes-agar (pH = 4,65).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 4 repetições. Os métodos de obtenção do inóculo, "inoculação", incubação e avaliação foram realizados conforme descrito nos itens 3.5, 3.6 e 3.7.

A análise estatística dos dados referentes à produção de picnídios, cirros e picnídios férteis foi efetuada conforme a metodologia descrita em 3.7.

3.8.4.3. Efeito de níveis de glucose e nitrato de cálcio na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis, em meio contendo solução basal e tiamina (ensaio X).

A um substrato constituído de solução basal-tiamina-agar, foram adicionadas, separadamente, as combinações entre quatro níveis de glucose e quatro níveis de nitrato de cálcio. A tiamina foi incorporada em todas as combinações, tomando-se a precaução de adicioná-la assepticamente, evitando-se o processo da autoclavagem.

No Quadro 2, são apresentadas 16 combinações resultantes entre os quatro níveis de glucose e os quatro níveis de nitrogênio, que constituem os tratamentos dos ensaios X e XI.

Para o caso particular deste ensaio, quatro níveis de nitrogênio foram obtidos pela incorporação de nitrato de cálcio a 0,500; 1,788; 1,879 e 7,153 g/l. na solução basal.

Quadro 2. Tratamentos para as combinações entre quatro níveis de glucose e quatro níveis de nitrogênio.

Glucose (g/l)	Níveis de Nitrogênio (g/l)			
	0,059	0,212	0,460	0,848
1*	2	3	4	
5 (33,7:1,0)	6 (9,4:1,0)	7 (4,3:1,0)	8 (2,4:1,0)	
9 (67,4:1,0)	10 (18,9:1,0)	11 (8,7:1,0)	12(4,7:1,0)	
20	13(134,9:1,0)	14 (37,7:1,0)	15 (17,4:1,0)	16(9,4:1,0)

* Os números de 1 a 16 indicam os tratamentos e os colocados entre parênteses indicam a relação C/N.

Os métodos de obtenção de inóculo, "inoculação", incubação e avaliação foram os mesmos descritos nos itens 3.5, 3.6 e 3.7.

O delineamento experimental foi em blocos, ao acaso, com 4 repetições, e a análise estatística dos dados referentes à produção de picnídios, cirros e picnídios férteis foi efetuada conforme a metodologia descrita em 3.7.

3.8.4.4. Efeito de níveis de glucose e peptona na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis, em meio contendo solução basal e tiamina (ensaio XI).

Os materiais e métodos, utilizados neste ensaio, foram idênticos aos do ensaio anterior, com exceção de que a fonte de nitrogênio foi substituída pela peptona nos níveis de 0,385, 1,376, 2,985 e 5,503 g/l, equivalentes aos níveis de nitrogênio relacionados no Quadro 2.

4. RESULTADOS

Em função dos objetivos pretendidos e da metodologia utilizada no presente trabalho, os dados obtidos proporcionaram os seguintes resultados:

4.1. Efeito de meios sintéticos e complexos de cultura na formação de "conídios secundários" e picnídios (ensaio I).

Os dados deste ensaio são apresentados no Quadro 3.

A maior produção de picnídios foi verificada nos meios complexos 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 11. Nos meios sintéticos (7 e 8), bem como nos constituídos de extratos de solos, sem adição de carbono orgânico (9, 10 e 12), houve a predominância da formação de "conídios secundários" muito semelhantes aos produzidos em picnídios (Fig. 1). Por outro lado, nos meios de cultura com tendência à formação de picnídios, embora não conste no Quadro 3, verificou-se também a formação de estruturas semelhantes aos "conídios secundários", ainda que se apresentassem mais espessos e retorcidos. Estas estruturas aparentemente anômalas, acentuaram-se nos meios de cultura com maior riqueza nutricional.

4.2. Efeitos de diferentes fatores nutricionais e ambientais na formação de "conídios secundários"

A formação de "conídios secundários" foi estudada mediante a instalação de cinco ensaios, cujos resultados, para maior clareza, serão apresentados, separadamente a seguir:

Quadro 3. Formação de "conídios secundários" e produção de picnídios em meios sintéticos e completos de cultura.

Meios de cultura	Repetições			Média
	I	II	III	
1. MPA	7,33*	5,13	9,17	7,21
2. BDA	IC	IC	IC	IC
3. Cenoura-agar	2,37	2,43	2,63	2,48
4. MP - extrato de solo RPV-RLV-agar	18,87	13,57	8,73	13,72
5. ED-extrato de solo RPB-RLV-agar	IC	IC	IC	IC
6. Cenoura - extrato de solo RPV-RLV-agar	1,40	1,57	1,90	1,62
7. Glucose - agar	0,00 CS	0,00 CS	0,00 CS	0,00
8. Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O - agar	0,00 CS	0,17	0,00 CS	0,06
9. Extrato solo IEa - agar	0,00 CS	0,00 CS	0,00 CS	0,00
10. Extrato solo RPV-RLV - agar	0,00 CS	0,00 CS	0,00 CS	0,00
11. Extrato solo RPV-RLV - glucose-agar	4,77	3,60	3,17	3,85
12. Extrato solo RPV-RLV - Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O-agar	1,00 CS	1,00 CS	0,97 CS	0,99

* Dados referentes à produção média de picnídios, em 30 campos de 2,86 mm²

IC Impossível a contagem de picnídios formados

CS Formação de "conídios secundários"

IEa Iatossil Vermelho-Escuro, fase arenosa

RPV-RLV Regosol "Intergrade" para Podzóllico Vermelho-Amarelo e "Intergrade" para Vermelho-Amarelo
Agrupamento indiscriminado.

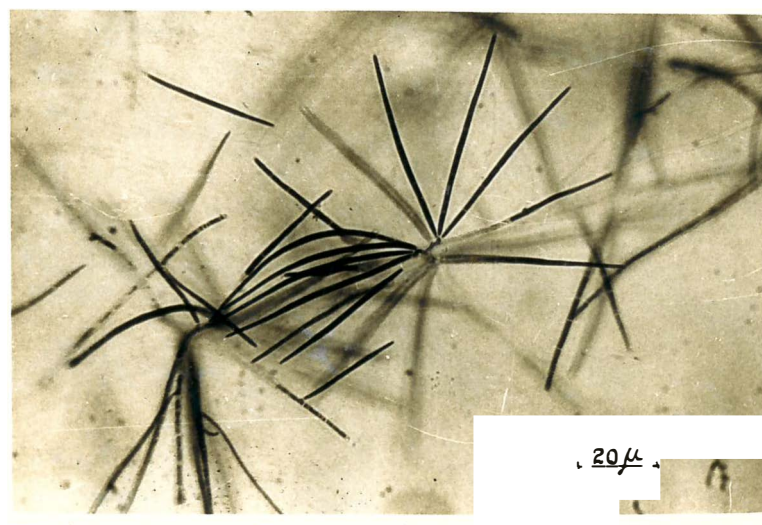


Fig. 1. Conjunto de "conídios secundários" de Septoria lycopersici, formados em conidióforos na ausência de picnídios.

4.2.1. Efeito de fontes de nitrogênio, na formação "conídios secundários" (ensaio II).

Os resultados deste ensaio são apresentados no Quadro 4. De acordo com os dados, não foi verificada a produção de picnídios nos meios constituídos por nitrogênio orgânico e inorgânico. O meio de BDA foi incluído neste ensaio, para testemunhar a capacidade do inóculo em produzir picnídios. Nos meios constituídos de nitrogênio, na forma inorgânica, ocorreu a formação de numerosos "conídios secundários" e pouco micélio. Na forma orgânica, entretanto, o fungo formou micélio vigoroso, não ocorrendo a formação de "conídios secundários".

4.2.2. Efeito de níveis de nitrato de cálcio, na formação de "conídios secundários". (ensaio III).

Os dados referentes a este ensaio são apresentados no Quadro 5.

Os resultados mostram que os seis níveis de nitrato de cálcio utilizados não influíram na quantidade de "conídios secundários" produzidos. Entretanto, na ausência de nitrato de cálcio, verificou-se menor formação de "conídios secundários", quando comparada com os meios que continham a referida fonte de nitrogênio.

4.2.3. Capacidade de formação de "conídios secundários" por várias cepas de S. lycopersici, em dois níveis de nitrato de cálcio. (ensaio IV).

Os dados referentes a este ensaio são apresentados no Quadro 6.

Quadro 4. Formação de "conídios secundários" em substratos contendo nitrogênio orgânico e inorgânico

Meios de cultura.	pH	R E P E T I Q U E S						
		I	II	III	IV	V	VI	VII
1. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + agar	5,5	+	+	+	+	+	+	+
2. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + agar	5,6	+	+	+	+	+	+	+
3. NH_4NO_3 + agar	5,3	+	+	+	+	+	+	+
4. Proteose peptona + agar	5,7	-	-	-	-	-	-	-
5. Bacto-triptona + agar	6,0	-	-	-	-	-	-	-
6. Peptona Bacto + agar	4,7	-	-	-	-	-	-	-
7. Caseína hidrolizada + agar	4,6	-	-	-	-	-	-	-
8. BDA		P	P	P	P	P	P	P

Os sinais (-) e (+) indicam, respectivamente, a ausência ou presença de "conídios secundários".

P - Formação de picnídios.

Quadro 5. Formação de "conídios secundários", em seis níveis de nitrato de cálcio, pela cepa S-114, de S. lycopersici.

Níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (g/l)	"conídios secundários"
0,00	+
0,15	++
0,30	++
0,45	++
0,50	++
1,00	++

+ Formação de poucos "conídios secundários"

++ Formação de muitos "conídios secundários"

Os dados do Quadro 6 indicam que os dois níveis de nitrato de cálcio não influíram de maneira qualitativa na formação de "conídios secundários" pelas 12 cepas, quando comparadas isoladamente. Entretanto, quando confrontadas entre si, as cepas comportaram-se diferentemente quanto à formação de "conídios secundários" e quanto aos locais onde eles se formaram, em relação ao substrato.

As cepas S-30 e S-53 formaram "conídios secundários" somente na superfície do meio de cultura, e a cepa S-51 somente dentro do meio, enquanto que as cepas S-112, S-113, S-114, S-115, S-165 e S-194 formaram "conídios secundários" tanto na superfície como dentro do meios de cultura, independentemente dos níveis de nitrato de cálcio.

As cepas S-2, S-110 e S-111, entretanto, não formaram "conídios secundários", nos dois níveis de nitrato de cálcio, formando apenas micélio. Estas colônias

quando repicadas em RDA, apresentaram-se do tipo micelial, não havendo a formação de picnídios.

Por outro lado, todas as colônias que formaram "conídios secundários", quando repicadas para RDA, formaram colônias semelhantes às originais, havendo a produção de numerosos picnídios.

Quadro 6. Formação de "conídios secundários" por doze cepas de *S. lycopersici*, em diferentes locais do meio de cultura, contendo dois diferentes níveis de nitrato de cálcio.

Cepas	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O			
	0,50 g/l		1,00 g/l	
	"conídios secundários"	Micélio	"conídios secundários"	Micélio
1. S-2	-----*	+++++	-----	+++++
2. S-30	+++++ S	-----	+++++ S	-----
3. S-51	+++++ D	-----	+++++ D	-----
4. S-53	+++++ S	-----	+++++ S	-----
5. S-110	-----	+++++	-----	+++++
6. S-111	-----	+++++	-----	+++++
7. S-112	+++++ SD	-----	+++++ SD	-----
8. S-113	+++++ SD	-----	+++++ SD	-----
9. S-114	+++++ SD	-----	+++++ SD	-----
10. S-115	+++++ SD	-----	+++++ SD	-----
11. S-165	+++++ SD	-----	+++++ SD	-----
12. S-194	+++++ SD	-----	+++++ SD	-----

* A repetição de sinais + e - indica, respectivamente, a presença ou ausência da característica em cada uma das cinco parcelas examinadas

S- Formação de "conídios secundários" à superfície do meio de cultura

D- Formação de "conídios secundários" dentro do meio de cultura.

4.2.4. Efeito do regime de iluminação, meios de cultura e idade da cultura, na formação de "conídios secundários" (ensaio V).

Os dados referentes a este ensaio estão apresentados no Quadro 7.

Quadro 7. Formação de "conídios secundários", na presença e na ausência de luz, meios e idades da cultura.

Luz	Meios de cultura	Idades da cultura (dias)		
		7	14	21
ausência	Extrato solo	-	-	-
	RPV-RLV-agar	-	-	-
	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -agar	+	+	++
presença	Extrato solo	++	++	++
	RPV-RLV-agar	++	++	++
	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -agar	+++	+++	+++

- Ausência de "conídios secundários"; + formação de poucos "conídios secundários"; ++ formação de quantidade intermediária de "conídios secundários"; +++ formação de muitos "conídios secundários".

Nos dois meios utilizados, notou-se formação maior de "conídios secundários", em regime de iluminação contínua.

Comparando-se os dois meios de cultura, no regime sem iluminação, observou-se que, no meio constituído de extrato de solo RPV-RLV, não ocorreu a formação de "conídios secundários", em nenhuma das idades, enquanto que no constituído de nitrato de cálcio, se observou a formação de poucos "conídios secundários", até o 14º dia após a "inoculação". Esta pequena quantidade de "conídios secundários" apresentou-se ligeiramente aumentada no 21º dia.

Para o regime de iluminação contínua, considerando-se os dois meios de cultura e, nas três idades, observou-se uma tendência para maior formação de "conídios secundários" no meio constituído de nitrato de cálcio, quando comparado ao extrato de solo RPV-RLV.

4.2.5. Efeito do cultivo e repicagens sucessivas em nitrato de cálcio, sobre a capacidade de formação de "conídios secundários", e volta à capacidade de produção de picnídios em BDA (ensaio VI).

Os resultados apresentados no Quadro 8 mostram que a cepa S-114, de S. lycopersici, manteve a capacidade de formação de "conídios secundários", mesmo no terceiro cultivo sucessivo, em meio de nitrato de cálcio.

Por ocasião das repicagens sucessivas em nitrato de cálcio, o fungo foi repicado também para BDA, local em que formou colônias com as mesmas características da cultura original cultivada em BDA, produzindo picnídios e cirros.

Quadro 8. Capacidade de formação de "conídios secundários" em meio de nitrato de cálcio, e seu efeito sobre a capacidade de produzir picnídios em BDA.

Meios de cultura	Origem dos conídios	1º cultivo	2º cultivo	3º cultivo
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O		CSCSCS*	CSCSCS	CSCSCS
BDA	P	PPP	PPP	PPP

* a repetição das letras CS e P indica, respectivamente, a formação de "conídios secundários" e picnídios, nas três parcelas avaliadas.

4.3. Comparação da patogenicidade entre o inóculo constituído de "conídios secundários" e fragmentos de micélio com o constituído por conídios produzidos em picnídios (ensaio VII).

Os dados obtidos referentes à patogenicidade de dois tipos de inóculo, um deles constituído de "conídios secundários" e micélio e o outro de conídios produzidos em picnídios, e a análise de variância deste ensaio são apresentados nos Quadros I e II do apêndice, respectivamente.

A aplicação do teste F aos dados obtidos revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre hospedeiros, variedades e espécies selvagens de tomateiro, não sendo notadas diferenças significativas para os tipos de inóculo e a interação entre inóculos e hospedeiros.

A aplicação do teste Tukey, na comparação do efeito dos inóculos nos hospedeiros testados, é apresentada no

Quadro 9.

Quadro 9. Diâmetro das manchas em algumas variedades e espécies selvagens de tomateiro.

Código	Hospedeiro	Médias (mm)
T-88	<u>L. glandulosum</u>	1,23 a*
T-59	<u>L. glandulosum</u>	1,50 a
T-77	<u>L. hirsutum f. glabratum</u>	2,51 b
T-16	Santa Cruz gigante B	4,55 c
T-13	<u>L. pimpinellifolium</u>	5,87 d

$$DMS_{(Tukey\ 1\%)} = 0,81$$

* Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

4.4. Efeito de fatores nutricionais, na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis

Para o estudo do efeito de fatores nutricionais, na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis, foi conduzida uma série de ensaios, com a utilização de meios sintéticos e complexos de cultura, cujos resultados são apresentados nos itens seguintes.

4.4.1. Efeito de fatores nutricionais na produção de picnídios (ensaio VIII).

Os dados originais deste ensaio e sua análise de variância são apresentados nos Quadros III e IV do Apêndice. A aplicação do teste F, aos dados transformados indicou efeitos significativos, ao nível de 1% de probabilidade, entre os nove meios de cultura analisados.

Os resultados da aplicação do teste Tukey para os nove meios de cultura analisados são apresentados no Quadro 10.

Nos meios que continham solução basal, nitrato de cálcio e tiamina, isoladamente ou combinados entre si, o fungo não produziu picnídios. Entretanto, na presença de glucose, os referidos nutrientes favoreceram a produção de picnídios, quer isoladamente, quer combinados entre si.

Nos meios de cultura que envolveram a combinação da glucose e nitrato de cálcio, ocorreu a formação de micélio mais escuro, em comparação com o formado em meios sem esse tipo de combinação.

4.4.2. Efeito de fatores nutricionais, na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis (ensaio IX).

Para maior clareza, os resultados do efeito de meios sintéticos, na formação de picnídios, cirros e picnídios férteis, são a seguir apresentados e analisados separadamente.

4.4.2.1. Produção de picnídios

Os dados originais referentes à produção de picnídios e a análise de variância são apresentados separadamente nos Quadros V e VI do Apêndice.

O teste F revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre os cinco meios de cultura analisados.

Quadro 10. Produção de picnídios em 9 meios sintéticos de cultura.

Meios de cultura	$\sqrt{\bar{X} + 0,50}$	\bar{X}
1. Glucose (20 g/l) + agar	0,76 a*	0,08**
2. Glucose (40 g/l) + agar	0,90 a	0,31
3. Solução basal + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + glucose (20 g/l) + agar	1,05 a	0,55
4. Solução basal + glucose (20 g/l) + agar	1,17 a	0,67
5. Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + glucose (20 g/l) + agar	1,19 a	0,87
6. Tiamina + glucose (20 g/l) + agar	1,40 a	1,46
7. Tiamina + glucose (40 g/l) + agar	1,74 a	2,53
8. Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + tiamina + glucose (20 g/l) + agar	3,01 b	8,56
9. Solução basal + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + tiamina + glucose (20 g/l) + agar	3,83 b	14,17

DMS (Tukey 1%) = 1,05

* Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

** Média dos dados originais.

Os resultados da aplicação do teste Tukey para a produção de picnídios, nos diferentes meios sintéticos de cultura, são apresentados no Quadro 11.

Nos meios que continham a glucose, produziu-se maior quantidade de picnídios que nos sem esse elemento. Já a produção de picnídios foi muito maior, quando os meios eram constituídos de solução basal-tiamina-glucose-nitrato de cálcio-agar, e esses mesmos elementos acrescidos de vitaminas e micronutrientes. No entanto, entre esses dois meios, não foi verificada diferença significativa.

Quadro 11. Produção de picnídios, em meios sintéticos de cultura.

Meios de cultura	\bar{X}
1. Asparagina-glucose-agar	3,29 a*
2. Sol.basal-Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O-tiamina-agar	0,73 a
3. Sol. basal-tiamina-glucose-agar	1,26 a
4. Sol. basal-tiamina-glucose-Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O-agar	17,76 b
5. Sol.basal-glucose-Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O-vitaminas-micronutrientes-agar	16,83 b

$$DMS_{(Tukey\ 1\%)} = 6,51$$

* Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

4.4.2.2. Produção de cirros

Os dados originais referentes à quantidade de cirros produzidos e a análise de variância dos dados transformados são apresentados nos Quadros VII e VIII do Apêndice.

O teste F indicou diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade, para a formação de cirros nos quatro meios de cultura analisados.

Os resultados da aplicação do teste Tukey, aos dados transformados, para a produção de cirros obtidos em quatro meios sintéticos analisados, são apresentados no Quadro 12.

Quadro 12. Produção de cirros, em meios sintéticos de cultura.

Meios de cultura	$\sqrt{\bar{X} + 0,5}$	\bar{X}
1. Sol.basal- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -tiamina-agar	0,93 b*	0,36**
2. Sol.basal-tiamina-glucose-agar	0,89 ab	0,29
3. Sol.basal-tiamina-glucose- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -agar	0,74 a	0,05
4. Sol.basal-glucose- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -vitaminas-micronutrientes-agar	0,84 ab	0,21

$$\text{DMS}_{(\text{Tukey } 5\%)} = 0,16$$

* Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

** Médias dos dados originais.

4.4.2.3. Produção de picnídios férteis

Os dados originais, referentes à porcentagem de picnídios férteis produzidos e à análise de variância dos dados transformados, são apresentados nos Quadros IX e X do Apêndice.

O teste F revelou diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade, entre os cinco meios de cultura analisados.

A aplicação do teste Tukey apresentou os resultados sintetizados no Quadro 13.

Quadro 13. Formação de picnídios férteis, em meios sintéticos de cultura.

Meios de cultura	$\sqrt{\% + 0,50}$	\bar{X}
1. Asparagina-glucose-agar	33,01b*	29,18**
2. Sol.basal-Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O-tiamina-agar	24,19ab	16,29
3. Sol.basal-tiamina-glucose-agar	11,42 a	3,42
4. Sol.basal-tiamina-glucose-Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O- -agar	25,35ab	17,83
5. Sol.basal-glucose-Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O-vitaminas- -micronutrientes-agar	29,25ab	23,38**

$$DMS_{(Tukey\ 5\%)} = 19,71$$

* Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

** Média dos dados originais.

4.4.3. Efeito de níveis de glucose e de nitrato de cálcio, na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis, em meio contendo solução basal e tiamina (ensaio X).

Os resultados são apresentados, de acordo com os parâmetros avaliados, nos sub-itens que se seguem:

4.4.3.1. Produção de picnídios

Os dados originais, referentes à produção de picnídios e sua análise de variância, são apresentados nos Quadros XI e XII, do Apêndice.

O teste F indicou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre nível de glucose, enquanto que não se observaram diferenças significativas entre níveis de glucose e níveis de nitrato de cálcio.

Os resultados da aplicação do teste Tukey, para a produção de picnídios, são apresentados no Quadro 14.

De modo geral, foi observado aumento na produção de picnídios com aumento na quantidade de glucose, havendo uma tendência maior para este caso, quando se adicionaram os níveis de glucose ao menor nível de nitrato de cálcio, conforme ilustra a figura 2.

Quadro 14. Efeito de níveis de glucose sobre a produção de picnídios, utilizando-se nitrato de cálcio, como fonte de nitrogênio.

Glucose g/l	\bar{X}
0	2,36 a*
5	12,63 b
10	14,60 b

$$DMS_{(Tukey\ 1\%)} = 2,06$$

* Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

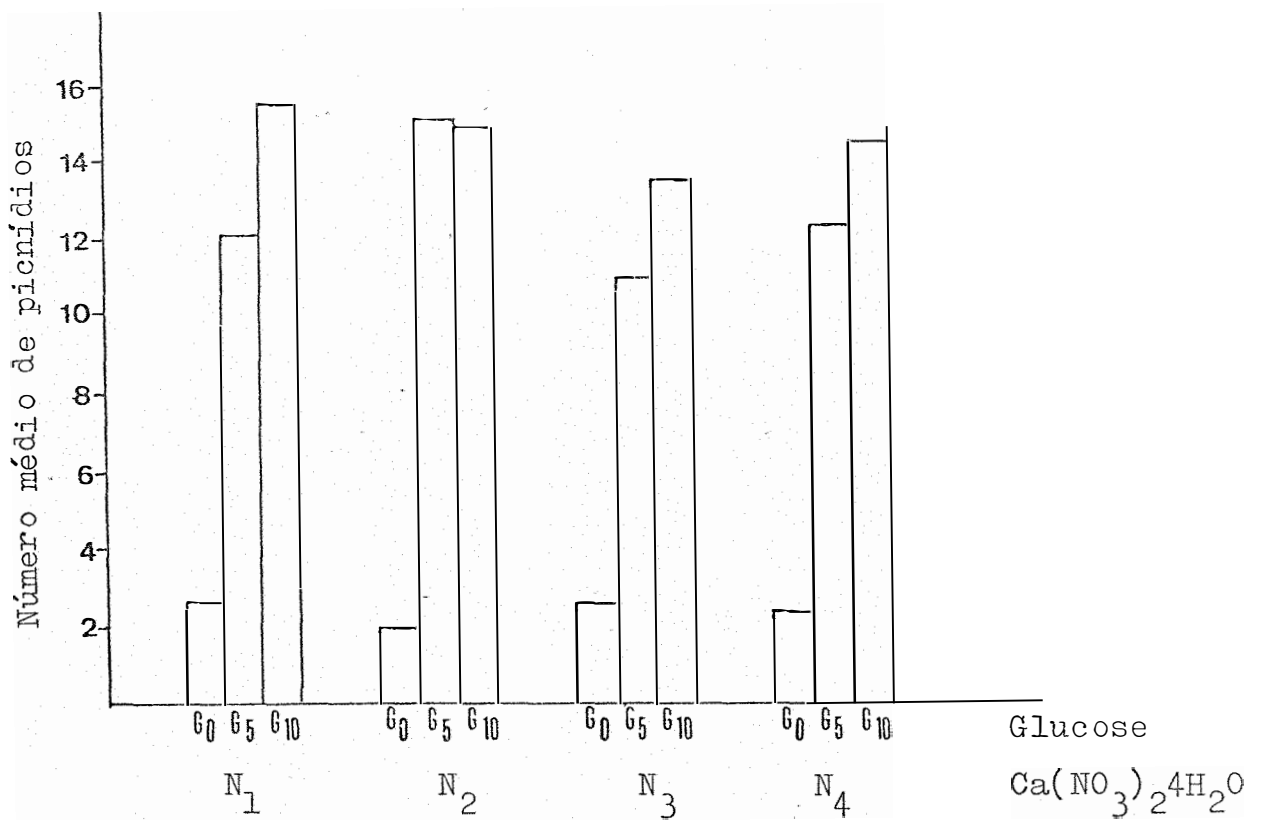
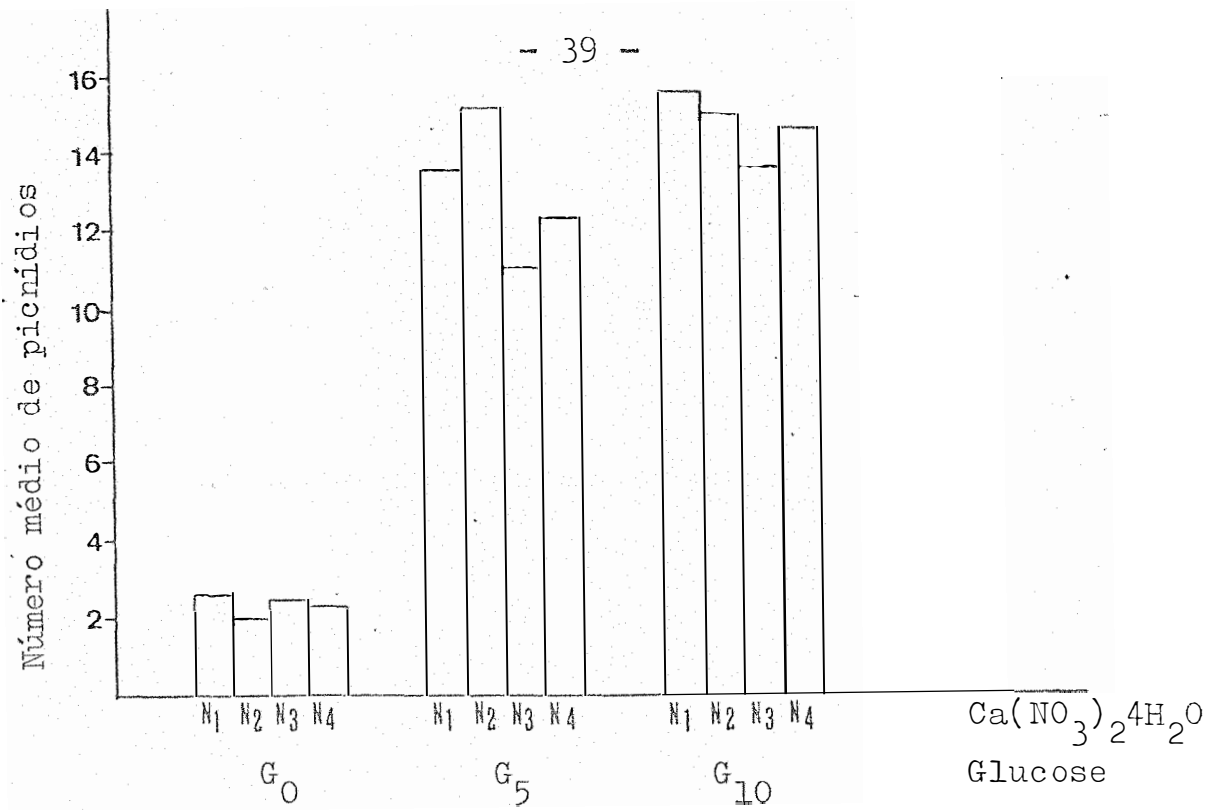


Fig. 2. Acima. Efeito da interação entre níveis de Ca(NO₃)₂·4H₂O, dentro dos níveis de glucose, sobre a produção de picnídios.

abaixo. Efeito da interação entre níveis de glucose, dentro dos níveis de Ca(NO₃)₂·4H₂O, sobre a produção de picnídios.

4.4.3.2. Produção de cirros

Os dados originais referentes à quantidade de cirros produzidos, a análise de variância e o desdobramento da interação significativa resultante são apresentados nos Quadros XIII, XIV, XV e XVI, do Apêndice.

O teste F indicou diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade, entre níveis de glucose, níveis de nitrato de cálcio e para a interação entre ambos.

O desdobramento desta interação revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, dos níveis de glucose dentro de níveis de nitrato de cálcio e pela forma inversa, entre níveis de nitrato de cálcio, dentro de níveis de glucose.

Os resultados da aplicação do teste Tukey, para os efeitos de níveis de glucose, níveis de nitrato de cálcio e para a interação de níveis de glucose versus níveis de nitrato de cálcio separadamente, sobre a produção média de cirros, são apresentados nos Quadros 15 e 16 e na Figura 3.

De modo geral, foi observado aumento na produção de cirros com a adição da glucose ao meio. No entanto, não foram observadas diferenças significativas na produção entre os níveis de glucose a 5 e 10 g/l, enquanto que o aumento de níveis de nitrato de cálcio resultou no aumento de produção de cirros até os dois níveis intermediários, para diminuir no maior nível de nitrato de cálcio (Quadros 15 e 16).

Por outro lado, os resultados, apresentados na Figura 3 e no Quadro XIII do Apêndice, mostram que o aumento de níveis de glucose resultou na diminuição ou aumento

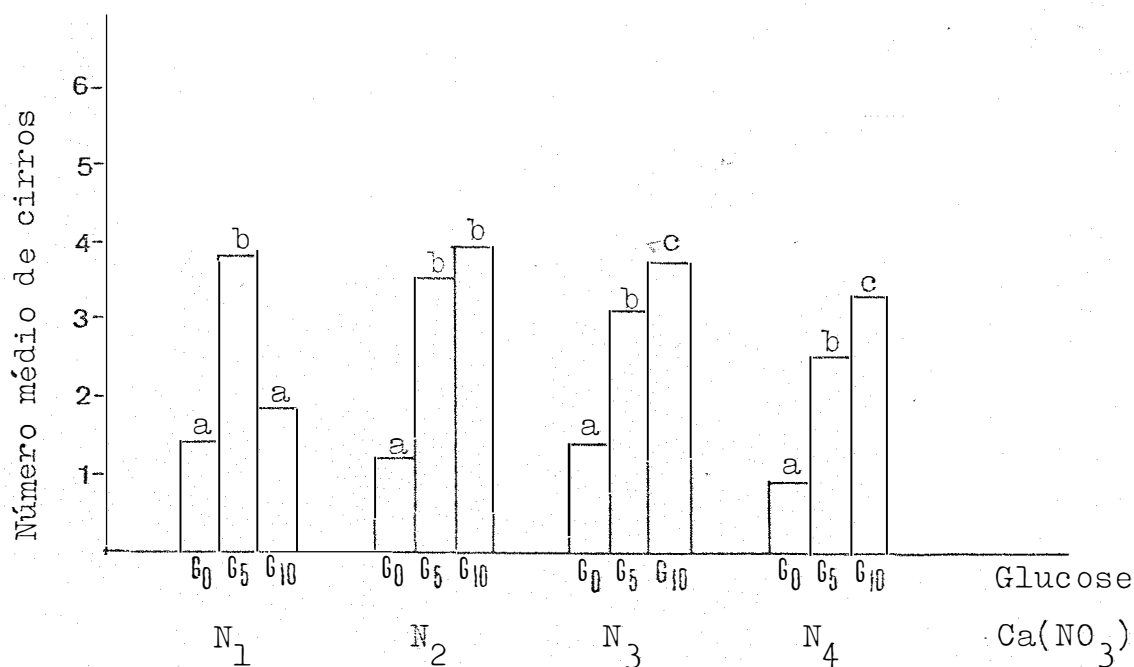
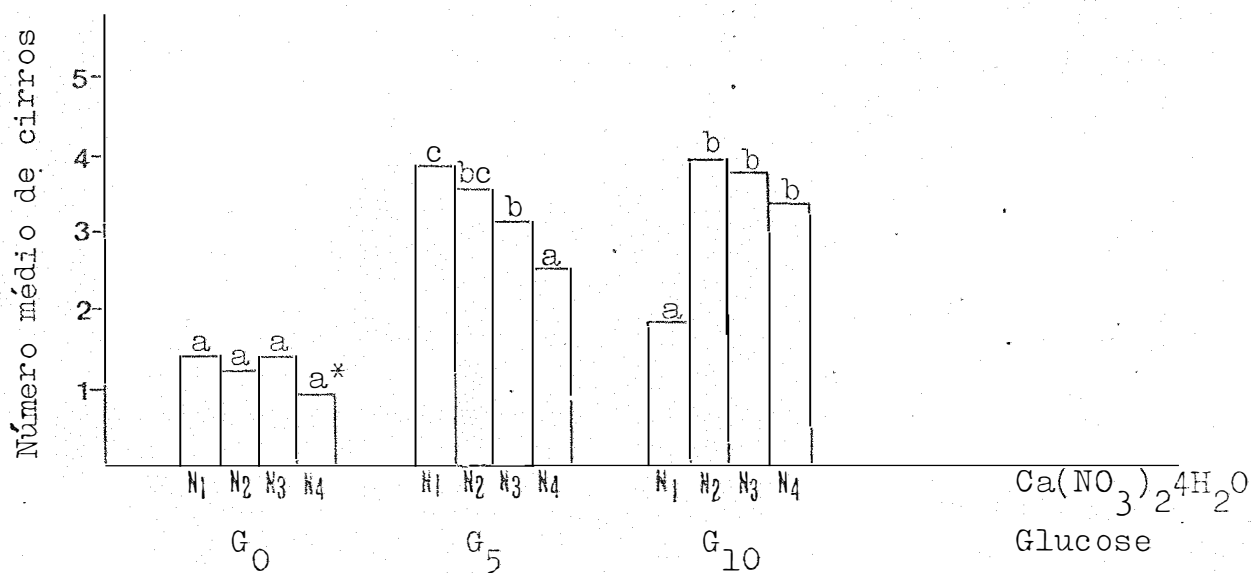


Fig. 3. Acima. Efeito da interação entre níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dentro dos níveis de glucose, sobre a produção de cirros.

Abaixo. Efeito da interação entre níveis de glucose entre dos níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, sobre a produção de cirros.

* Para cada combinação, as médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

na produção de cirros, em função de níveis de nitrato de cálcio presentes em cada combinação, isto é, à medida que se aumentaram os níveis de glucose, a produção de cirros foi aumentada nos níveis mais elevados de nitrato de cálcio. Entretanto, ao nível de glucose a 20 g/l não incluído na análise estatística, a produção de cirros foi menor do que ao nível de glucose a 5 e 10 g/l.

Quadro 15. Efeito de níveis de glucose sobre a produção de cirros, utilizando-se o nitrato de cálcio como fonte de nitrogênio.

Glucose (g/l)	\bar{X}
0	1,15 a*
5	10,62 b
10	10,85 b

$$DMS_{(Tukey\ 1\%)} = 4,46$$

* Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

Quadro 16. Efeito de níveis de nitrato de cálcio, na produção de cirros.

$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	\bar{X}
0,500	6,30 ab*
1,788	9,65 c
3,879	8,44 abc
7,153	5,78 a

$$DMS_{(Tukey\ 1\%)} = 2,78$$

* Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

4.4.3.3. Produção de picnídios férteis

Os dados originais, referentes à porcentagem de picnídios férteis, e a análise de variância dos dados transformados são apresentados nos Quadros XVII e XVIII do Apêndice.

O teste F indicou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre níveis de glucose, e não significativas entre os níveis de nitrato de cálcio e para interação entre níveis de glucose e níveis de nitrato de cálcio.

Os resultados da aplicação do teste Tukey, para os efeitos de níveis de glucose, são apresentados no Quadro 17.

De modo geral, observou-se que a adição de glucose diminui a produção de picnídios férteis. Os resultados, apresentados na Figura 4 e no Quadro XVII do Apêndice, mostram uma tendência de os níveis de nitrato de cálcio, dentro de cada nível de glucose, não influírem na produção de picnídios férteis. Entretanto, o nível de glucose a 20 g/l, embora não tenha sido incluído na análise estatística, mostrou que houve tendências em aumentar a produção de picnídios férteis, com aumento de níveis de nitrato de cálcio e diminuição ao maior nível desse elemento.

4.4.4. Efeito de níveis de glucose e de peptona, na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis, em meios contendo solução basal e tiamina (ensaio XI).

De acordo com os parâmetros avaliados, os resultados são, a seguir, apresentados e analisados separadamente.

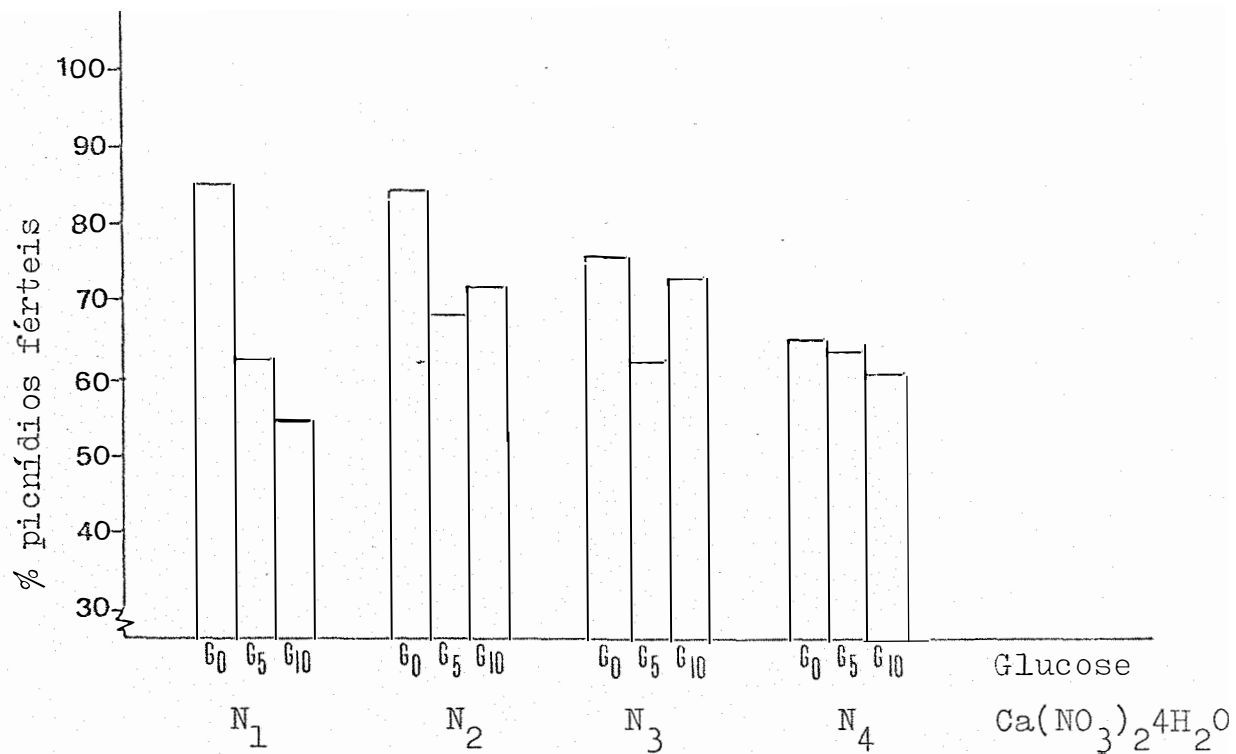
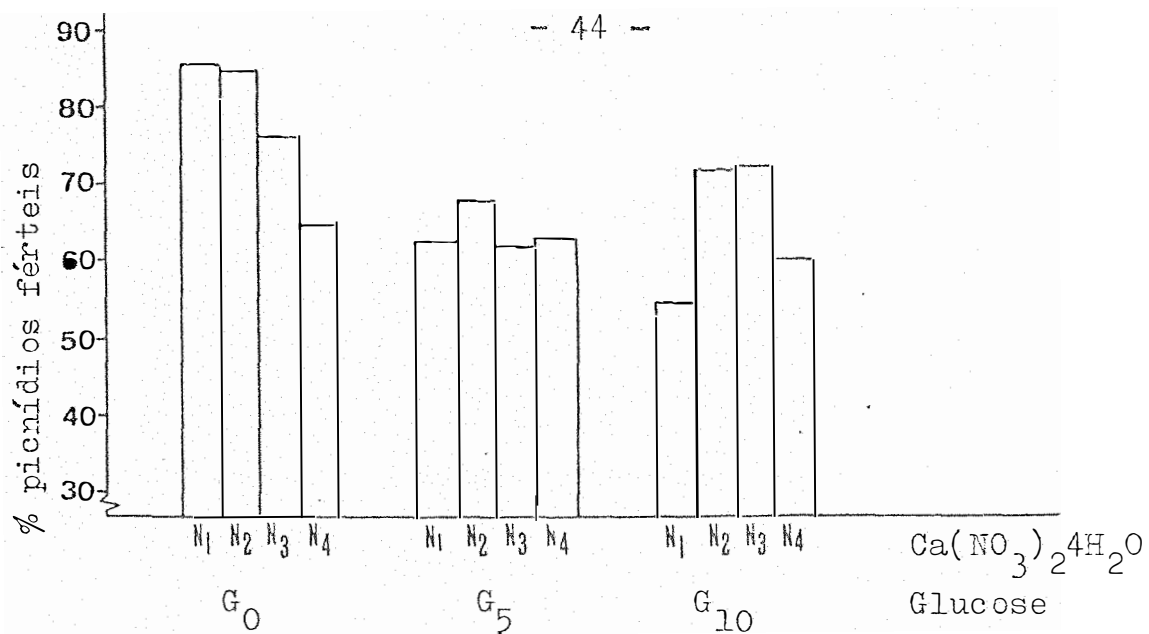


Fig. 4. Acima. Efeito da interação entre níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dentro dos níveis de glucose, sobre a porcentagem de picnidos férteis.

Abaixo. Efeito da interação entre níveis de glucose, dentro dos níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, sobre a porcentagem de picnidos férteis.

Quadro 17. Efeito de níveis de glucose sobre a porcentagem de picnídios férteis produzidos.

Glucose (g/l)	arc sen $\sqrt{\%$	%
0	77,40 b*	94,74**
5	63,42 a	78,48
10	64,27 a	80,65

* Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

** Médias dos dados originais

4.4.4.1. Produção de cirros

Os dados originais referentes à produção de picnídios, sua análise de variância e os desdobramentos das interações significativas, são apresentados nos Quadros XIX, XX, XXI e XXII, do Apêndice.

O teste F indicou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre níveis de glucose e interação entre níveis de glucose e níveis de peptona. Em relação aos níveis de peptona, não foram observadas diferenças significativas.

O desdobramento das interações resultantes indicou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para níveis de glucose dentro dos níveis de peptona, e, por comparação inversa, para níveis de peptona, dentro dos níveis de glucose.

Os resultados da aplicação do teste Tukey, para os efeitos de níveis de glucose e para interação entre níveis de glucose e níveis de peptona, separadamente, são apresentados no Quadro 18 e na Figura 5. Foi observado um aumento na produção de picnídios, com aumento de níveis de glucose. Na ausência de glucose, os níveis de peptona não influenciaram na produção de picnídios. Por outro lado, foi verificado que, aumentando-se os níveis de peptona, diminuiu a produção de picnídios, ao nível de glucose a 5 g/l; enquanto que, ao nível de glucose a 10 g/l, foi verificado um aumento na produção, somente em relação ao menor nível de peptona. Ao nível de glucose a 20 g/l, embora não tenham sido incluídos na análise estatística, os resultados, apresentados no Quadro XIX, mostram certa semelhança aos resultados obtidos ao nível de glucose a 10 g/l.

4.4.4.2. Produção de cirros

Os dados originais, referentes à produção de cirros, a análise de variância dos dados transformados e os desdobramentos das interações significativas são apresentados nos Quadros XXIII, XXIV, XXV e XXVI do Apêndice.

O teste F indicou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para níveis de peptona e para a interação entre níveis de glucose e níveis de peptona. Por outro lado, verificaram-se diferenças significativas, ao nível de 5% de probabilidade, entre níveis de glucose.

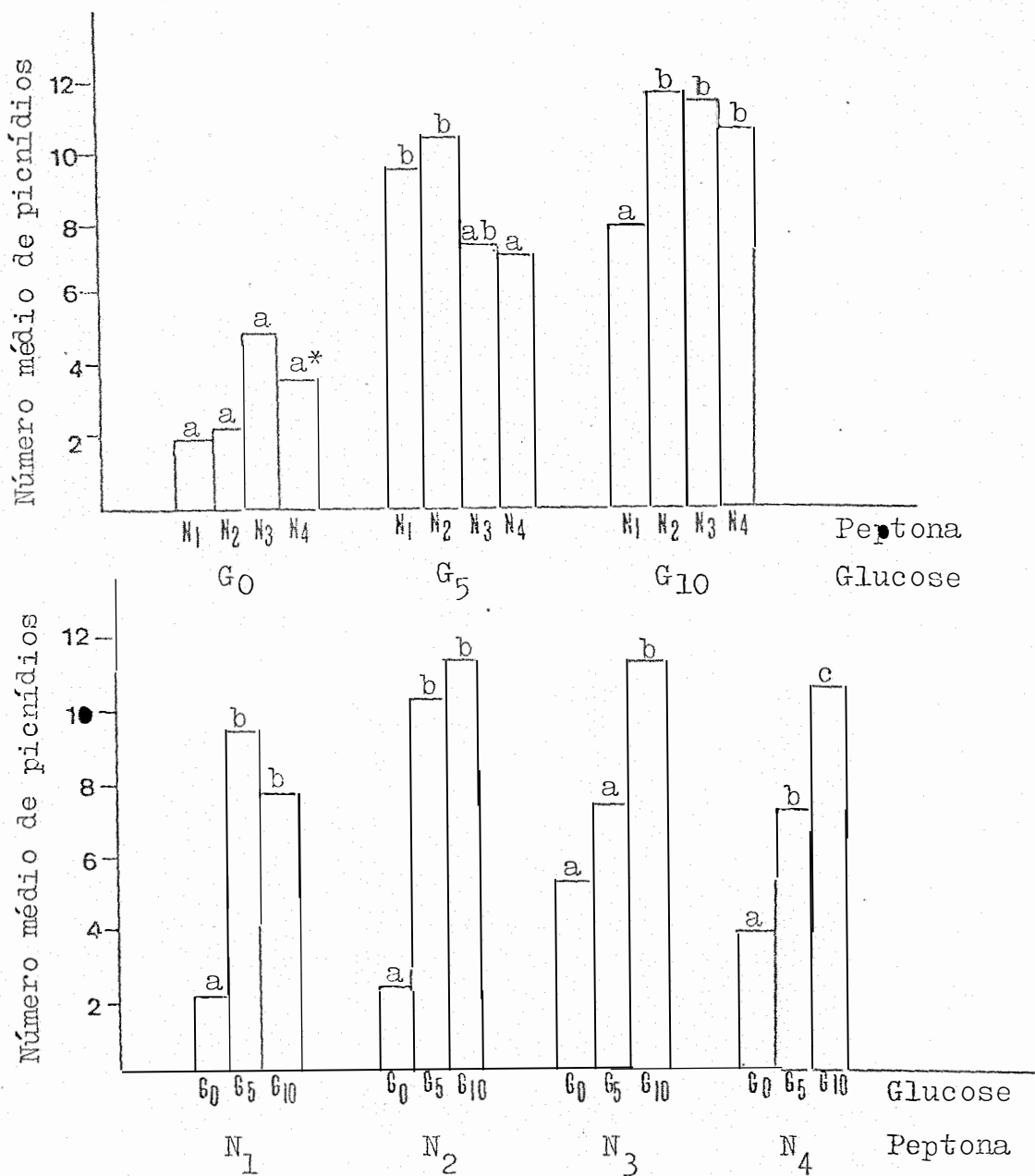


Fig. 5. Acima. Efeito da interação entre níveis de peptona dentro dos níveis de glucose, sobre a produção de picnídios.

Abaixo. Efeito da interação entre níveis de glucose dentro dos níveis de peptona, sobre a produção de picnídios.

* Para cada combinação, as médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

Quadro 18. Efeito de níveis de glucose, sobre a produção de picnídios, utilizando-se peptona, como fonte de nitrogênio.

Glucose (g/l)	\bar{X}
0	3,26 a*
5	8,54 b
10	10,20 b

$$DMS_{(Tukey\ 1\%)} = 1,75$$

* As médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

O desdobramento da interação indicou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre níveis de glucose, dentro dos níveis de peptona e, por comparação inversa, entre níveis de peptona, dentro dos níveis de glucose.

Os resultados da aplicação do teste Tukey, para os efeitos de níveis de glucose, níveis de peptona e para a interação entre níveis de glucose e níveis de peptona, separadamente, são apresentados nos Quadros 19 e 20 e na Figura 6.

De modo geral, foi verificada diminuição na produção de cirros, com aumento de níveis de glucose, enquanto que o aumento de níveis de peptona resultou no aumento de produção de cirros. Os resultados, apresentados na Figura 6 e no Quadro XXIII do Apêndice, ilustram melhor que o aumento de níveis de glucose resultou em uma diminuição na produção de cirros, em função de níveis de peptona pre-

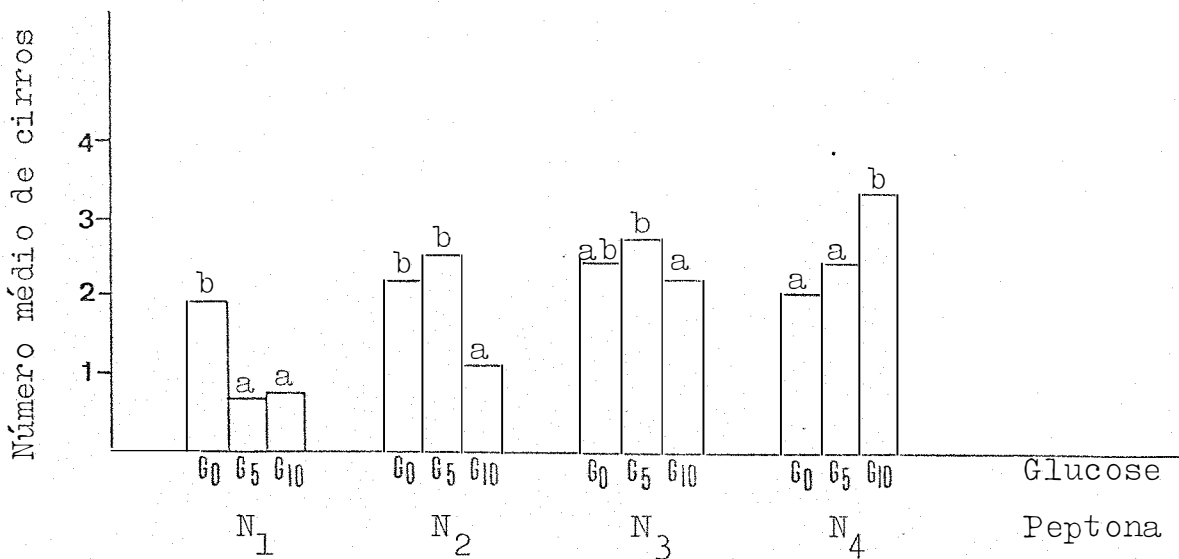
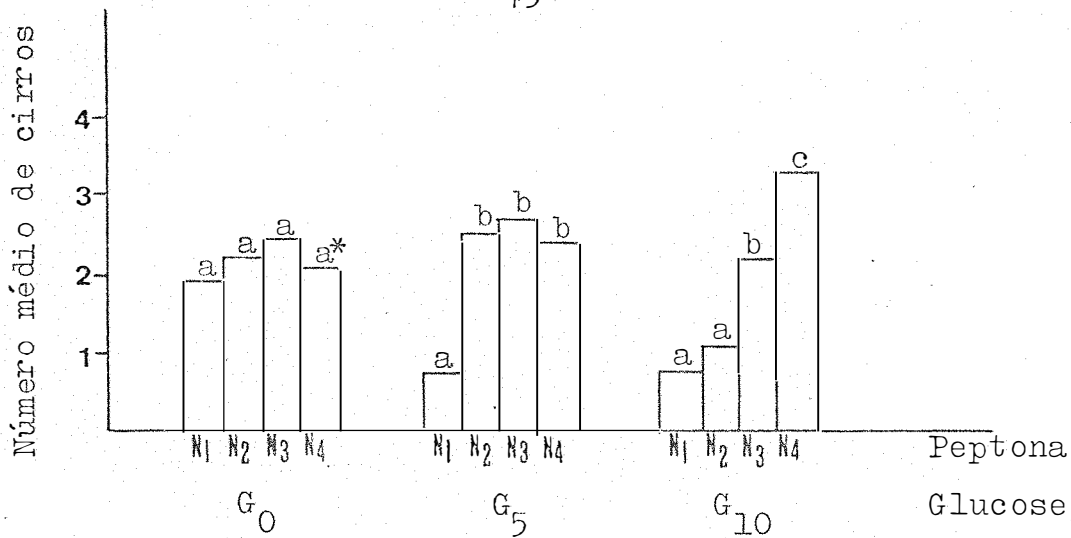


Fig. 6. Acima. Efeito da interação entre níveis de peptona, dentro dos níveis de glucose, sobre a produção de cirros.

Abaixo. Efeito da interação entre níveis de glucose, dentro dos níveis de peptona, sobre a produção de cirros.

* Para cada combinação, as médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

sentas em cada combinação. Isto é, à medida que se aumentam os níveis de glucose, houve a necessidade de combinações com maiores níveis de peptona, para que a produção de cirros não fosse diminuída.

Quadro 19. Efeito de níveis de glucose, sobre a produção de cirros, utilizando-se peptona, como fonte de nitrogênio.

Glucose (g/l)	$\sqrt{\bar{X} + 0,50}$	\bar{X}
0	2,17 b*	4,21 **
5	2,10 ab	3,91
10	1,86 a	2,96

$$DMS_{(Tukey 1\%)} = 0,33$$

Quadro 20. Efeito dos níveis de peptona, sobre a produção de cirros

Peptona (g/l)	$\sqrt{\bar{X} + 0,50}$	\bar{X}
0,415	1,14 a*	0,80 **
1,483	1,94 b	3,26
3,217	2,49 c	5,70
5,932	2,61 c	6,31

$$DMS_{(Tukey 1\%)} = 0,41$$

* Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

** Média dos dados originais.

4.4.4.3. Produção de picnídios férteis

Os dados originais, referentes à porcentagem de picnídios férteis, a análise de variância dos dados transformados e os desdobramentos das interações resultantes, são apresentados nos Quadros XXVII, XXVIII, XXIX e XXX do Apêndice.

O teste F indicou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para níveis de glucose, níveis de peptona e para interação entre níveis de glucose e níveis de peptona.

O desdobramento dessa interação indicou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para níveis de glucose, dentro dos níveis de peptona, e, por comparação inversa, para níveis de peptona, dentro dos níveis de glucose.

Os resultados da aplicação do teste Tukey para os efeitos de níveis de glucose, níveis de peptona e interação entre níveis de glucose e níveis de peptona são apresentados nos Quadros 21 e 22, e na Figura 7. De modo geral, foi verificada diminuição da porcentagem de picnídios férteis com o aumento nos níveis de glucose, enquanto que o aumento de níveis de peptona aumentou a porcentagem de picnídios férteis. Os resultados apresentados na Figura 7 e no Quadro XXVII, do Apêndice, mostram que o aumento de níveis de glucose resultou em uma diminuição da fertilidade dos picnídios, em função de níveis de peptona, presentes em cada combinação; isto é, à medida que se aumentaram os níveis de glucose, houve a necessidade de combinações com maiores níveis de peptona, para que a fertilidade de picnídios não fosse diminuída.

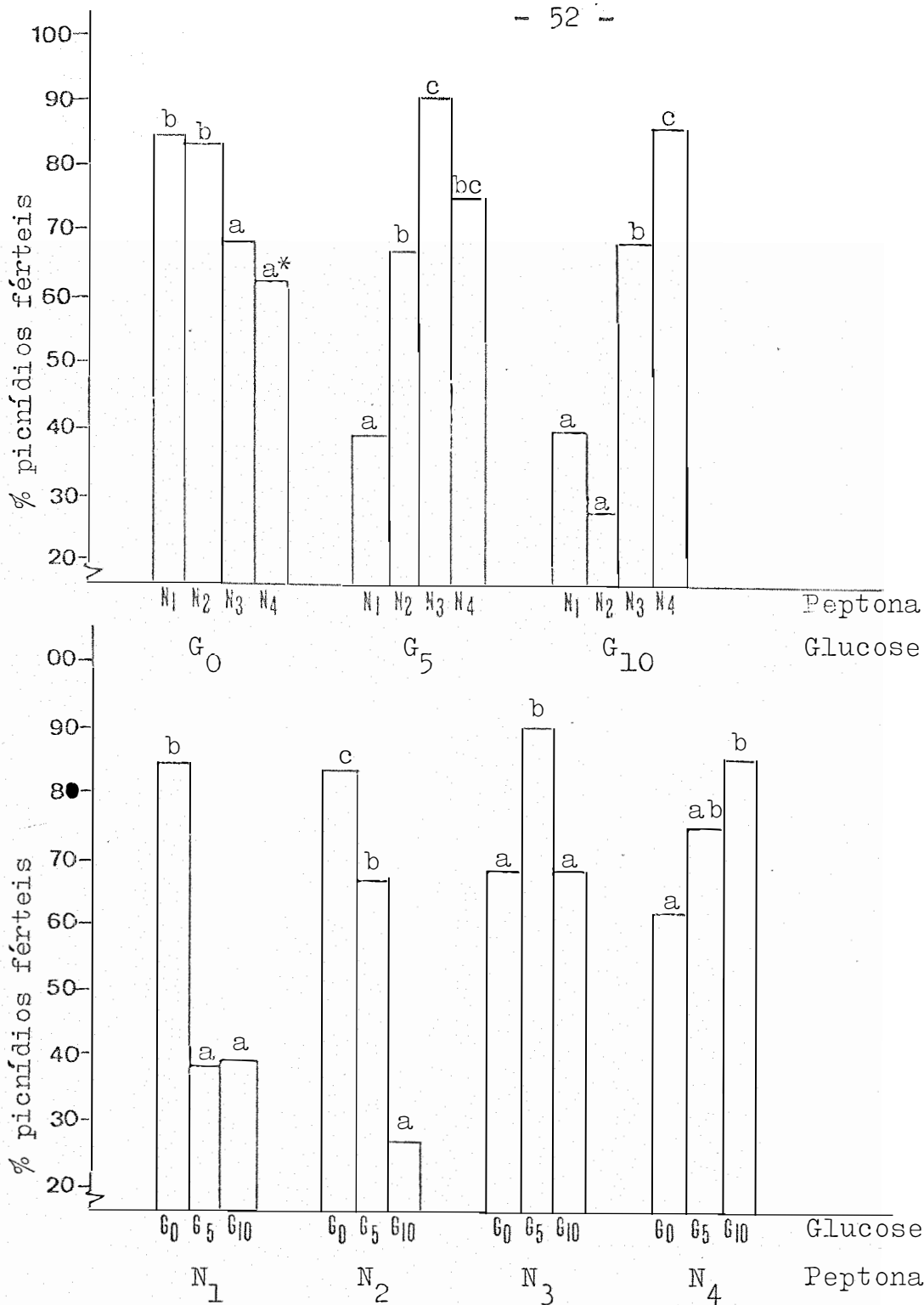


Fig. 7. Acima. Efeito da interação entre níveis de peptona, dentro dos níveis de glucose, sobre a porcentagem de picnidos férteis.

Abaixo. Efeito da interação entre níveis de glucose, dentro dos níveis de peptona, sobre a porcentagem de picnidos férteis.

* Para cada combinação, as médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

Quadro 21. Efeito dos níveis de glucose, sobre a porcentagem de picnídios férteis produzidos, utilizando-se peptona, como fonte de nitrogênio.

Glucose (g/l)	arc sen $\sqrt{\%$	%
0	74,65 b*	92,49 **
5	67,60 b	91,95
10	54,97 a	66,55

$$DMS \text{ (Tukey 1\%)} = 8,73$$

Quadro 22. Efeito dos níveis de peptona, sobre a porcentagem de picnídios férteis produzidos.

Peptona (g/l)	arc sen $\sqrt{\%$	%
0,385	53,97 a*	64,90 **
1,376	59,14 a	73,19
2,985	75,48 b	93,21
5,503	74,30 b	92,18

$$DMS \text{ (Tukey 1\%)} = 10,87$$

* Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

** Média dos dados originais.

4.5. Correlação entre número de cirros e de picnídios férteis

A análise (conjunta dos ensaios X e XI) de correlação linear entre o número de picnídios férteis e de cirros revelou um coeficiente de correlação linear, $r_{xy} = 0,737$, significativo, ao nível de 1% de probabilidade.

5. DISCUSSÃO

A literatura consultada relata grande número de trabalhos relacionados com a influência das características nutricionais de substratos de cultura, na fisiologia da reprodução de fungos.

Com base em observações preliminares e na revisão da literatura, formularam-se hipóteses sobre a importância dos tipos e níveis nutricionais, na intensidade e modo da reprodução assexuada de S. lycopersici, cujos resultados serão discutidos nos próximos sub-ítem, separadamente, para maior clareza.

5.1. Formação de "conídios secundários"

As condições favoráveis à formação de "conídios secundários" por S. lycopersici foram estudadas, no presente trabalho, com a finalidade de explicar observações ocasionais da formação dessas estruturas, por cepas conservadas em solo estéril.

Os resultados dos ensaios I a IV mostram a formação de "conídios secundários", principalmente em substratos mais carentes, onde os elementos nutricionais, essenciais à formação de picnídios, inexistiram ou existiram em níveis muito baixos. Desta forma, os estados nutricionais de certos substratos, embora se mostrassem deficientes para induzir a formação de picnídios, não o foram para a formação de "conídios secundários". Esta hipótese está relacionada com o trabalho de LEONIAN (1924), sobre a reprodução de alguns fungos. Este pesquisador verificou que picnídios em formação requerem um suprimento contínuo de nutrientes, para seu melhor desenvolvimento. Tais estudos também podem explicar os resultados obtidos no ensaio V (Qua-

dro 7), onde se verificou que a inoculação de conídios, através de passagens sucessivas, em substratos constituídos por nitrato de cálcio-agar, sempre levou à formação de "conídios secundários" que, por sua vez, ao serem repicados para meio nutricionalmente mais enriquecido (BDA), passaram a formar picnídios de maneira semelhante à cultura original. Da mesma forma, no ensaio III (Quadro 5), os diferentes níveis de nitrato de cálcio não alteraram o modo de reprodução assexuada, através de "conídios secundários", o que demonstra a necessidade de outros elementos essenciais à formação de picnídios.

Por outro lado, os resultados obtidos no ensaio II (Quadro 4) demonstraram a formação abundante de "conídios secundários", em substratos que continham nitrogênio inorgânico e, inversamente, a inexistência do fenômeno, em substratos com nitrogênio orgânico. Com base nas considerações de COCHRANE (1958), o fenômeno poderia ser atribuído à maior complexidade das fontes de nitrogênio orgânico, que conteriam, além de nitrogênio, o carbono e outros fatores de crescimento necessários à formação de corpos de frutificação.

Nas condições do ensaio IV (Quadro 6), foi verificado também que a formação de "conídios secundários", por S. lycopersici, não está ligada a apenas algumas cepas, mas intimamente relacionada com a capacidade de esporulação do fungo, isto é, as cepas que não formaram "conídios secundários" também não produziram picnídios, apresentando tão somente características miceliais. A este respeito, HANSEN (1938) estudou a capacidade de esporulação de alguns fungos, denominando de "tipo micelial" as linhagens não esporulantes e "tipo conidial" as esporulantes. Assim sendo, algumas cepas de S. lycopersici, utilizadas no ensaio

IV, possivelmente, já apresentavam tendências ao desenvolvimento de culturas do "tipo micelial", ainda que tivessem sido inoculadas através de conídios. Na literatura consultada, foram encontrados trabalhos relacionados com esse tipo de comportamento (BONDE, 1929; JOHNSON, 1952; HOOKER, 1957; COCHRANE, 1958).

Os resultados obtidos no ensaio V (Quadro 7) mostraram o efeito indutor da luz, na formação de "conídios secundários" por S. lycopersici, efeito observado já para o mesmo fungo, na produção de cirros em picnídios - (KUROZAWA, 1972). Por outro lado, o efeito indutor da luz, na esporulação, principalmente em comprimento de ondas próximo ao ultravioleta, já é conhecido para muitos fungos (COCHRANE, 1958; LEACH, 1962; CALPOUZOS & LAPIS, 1970; ZAMBRA NO PEREZ, 1972).

A patogenicidade de "conídios secundários" e de conídios provenientes de picnídios foi semelhante, mesmo inoculados em tomateiros que apresentavam diferentes graus de resistência, ainda que, no inóculo de "conídios secundários", existissem também fragmentos de hifas. Embora a quantidade desses fragmentos fosse muito menor em relação aos referidos conídios, não se pode excluir a possibilidade de que as hifas tenham sido responsáveis pelo resultado obtido com a mistura, conforme foi verificado por ANDRUS (1941) para Macrosporium solani, onde fragmentos miceliais foram tão efetivos quanto os conídios.

O fato de S. lycopersici formar grande quantidade de "conídios secundários", principalmente em solo RPV-RLV esterilizado, torna provável a hipótese de que o referido fungo venha a formar "conídios secundários" no solo, em condições de campo. JONES & LEE (1974) verificaram a formação de "conídios secundários" de S. tritici, em

meio de cultura, e admitiram esta possibilidade, muito embora não tenham estudado a formação de "conídios secundários" em solos. Entretanto, segundo SHEAR, ZEYEN & OOKA (1974), a sobrevivência de fungos armazenados em solo está relacionada com muitos fatores, tais como: tipo de solo, isolamento de fungo, condições culturais antes do armazenamento, conteúdo de gás no recipiente armazenado e condições ambientais de armazenamento. Além disso, os mesmos autores aventaram a possibilidade de que o comportamento de espécies de Septoria, em solo esterilizado, poderia não ser indicativo de seu comportamento, em solo não estéril, nas condições de campo.

Como as hipóteses aventadas sobre a provável formação de "conídios secundários por S. lycopersici, em solos não estéreis, discordam dos resultados obtidos por MERLO & PERERA (1964), admite-se a necessidade de outros estudos sobre esta formação e sobre a sobrevivência desse fungo em solos não esterilizados, em condições de campo, inclusive, em diferentes tipos de solos.

5.2. Formação de conídios em picnídios

A comparação entre diferentes meios sintéticos, na produção de picnídios por S. lycopersici (ensaio VIII, Quadro 10), demonstrou a essencialidade da glucose, nitrato de cálcio, tiamina e solução basal, quando adicionados em conjunto. Em combinações parciais ou isoladamente, verificou-se redução significativa no número de picnídios formados, de tal modo que uma escala decrescente de importância dos nutrientes poderia ser estabelecida pela glucose, tiamina, nitrato de cálcio e solução basal. Estes resultados poderiam ser explicados pelo fato de a glucose promover maior crescimento vegetativo e, dentro de certos li-

mites , maior produção de picnídios (COCHRANE, 1958). Por outro lado, segundo Hawker, citado por COCHRANE (1958), a tiamina acelera a utilização da glucose, levando a maior crescimento vegetativo, exaustão da fonte de carbono e finalmente, ao início da reprodução.

Um aumento na produção de picnídios, não traduz, entretanto, por si só, um aumento de fertilidade, isto é, um aumento na potencialidade reprodutiva do fungo. Este fato ficou claramente demonstrado, nos resultados dos ensaios VIII, IX, X e XI, nos quais uma produção maior de picnídios nem sempre se associou à maior produção de cirros ou à maior porcentagem de picnídios férteis. Na literatura consultada, não foram encontradas referências à comparação entre estes parâmetros de avaliação. Muitas vezes, a produção de corpos frutíferos tem sido associada à fertilidade (LEONTIAN, 1924; ZAMBRANO PEREZ, 1972).

A adição de micronutrientes e várias vitaminas não aumentou a produção de picnídios e picnídios férteis, em relação aos elementos essenciais (glucose, tiamina, nitrato de cálcio e meio basal), adicionados conjuntamente em um mesmo meio (ensaio IX). Possivelmente, nesses elementos essenciais, existiam pequenas quantidades de micronutrientes e fatores de crescimento capazes de suprir as necessidades reprodutivas do fungo em estudo. A esse respeito, COCHRANE (1958) alerta sobre a possibilidade de contaminação de fontes nutricionais, com fatores de crescimento, que podem complicar a interpretação dos dados experimentais. Com relação às vitaminas, é possível que a tiamina tenha sido o principal nutriente requerido nas condições testadas, pois segundo Margrou & Marneffe, citados por MATHUR, BARNETT & LILLY (1950), Sphaerocybe concentrica requer tiamina para produção de conídios. A suspensão, relativa

ou absoluta, de estágios reprodutivos, em altas concentrações de carboidratos, tem sido encontrada, na reprodução de muitos fungos, segundo vários autores, citados por COCHRANE (1958) e por KIMATI (1970).

Pelos resultados do ensaio X (Quadro 17), ocorreu um aumento significativo na fertilidade de picnídios (ao nível de glucose de 15 g/l) e na produção de cirros (aos níveis de 5 e 10 g/l). O aumento da fertilidade, acima relatado, deve-se provavelmente a uma relação favorável entre o carbono e nitrogênio, de vez que, conforme aventam vários autores, citados por COCHRANE (1958) e por KIMATI (1970), tais elementos, em concentrações muito elevadas, em relação a um nível mínimo necessário à esporulação, podem propiciar crescimento vegetativo vigoroso e, frequentemente, inibir a esporulação, pela exaustão de outros nutrientes essenciais, ou pelo rápido acúmulo de metabólitos tóxicos.

O efeito das combinações entre níveis de carbono e nitrogênio, na reprodução assexuada de S. lycopersici, foi estudado nos ensaios X e XI, envolvendo a glucose, como fonte de carbono e o nitrato de cálcio e peptona, como fontes de nitrogênio. O efeito geral da adição da glucose, em combinação com diferentes níveis de nitrato de cálcio e peptona, ocasionou aumento na produção de picnídios, diminuição na fertilidade de picnídios, aumento no número de cirros, em nitrato de cálcio, e diminuição de cirros, em peptona (Quadros 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 e Figuras 2, 3, 4, 5, 6 e 7). Estes resultados, conforme discussão anterior, (COCHRANE, 1958), mostraram que a produção de picnídios nem sempre se associou à fertilidade.

Por outro lado, o efeito geral da incorporação de nitrogênio, na forma de nitrato de cálcio e pepto

na, sem considerar os diferentes níveis de glucose, não ocasionou variação significativa na produção de picnídios, como pode ser observado pela Figura 2. Se confrontarmos tais dados com o trabalho de Hawker, citado por KIMATI (1970), é possível que os diferentes níveis de nitrogênio, combinados com diferentes níveis de glucose, estejam em certo equilíbrio nutricional, sem prejudicar a produção de picnídios. A produção de picnídios férteis não foi afetada pela adição de nitrato de cálcio, enquanto que aumentou significativamente em níveis altos de nitrogênio, pela adição de peptona (Quadro 22 e Figuras 4 e 7). No tocante à produção de cirros, ocorreu aumento em níveis intermediários de nitrogênio e diminuição da produção de cirros, em níveis mínimo e máximo de nitrogênio, pela adição de nitrato de cálcio (Quadro 16). A adição de peptona ocasionou aumento na produção de cirros, em níveis mais altos de nitrogênio (Quadro 20 e Figura 6).

Nas condições do presente trabalho, a análise dos resultados obtidos nos ensaios IX a XI, avaliando o número de picnídios, o número de cirros e a porcentagem de picnídios férteis, sugere que as flutuações numéricas dos referidos parâmetros de avaliação estão relacionados, fundamentalmente, às condições nutricionais, levando-se em conta trabalhos como de LEONIAN (1924), HOOKER (1927), MATHUR, BARNETT & LILLY (1950), COCHRANE (1958), KIMATI (1970), WEBSTER & HEWITT (1971) e ZAMBRANO PEREZ (1972), já discutidos anteriormente. Interpretados os resultados que se apresentam nos Quadros 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 e 22 e Figuras 2, 3, 4, 5, 6 e 7, verificou-se que a fertilidade não está associada ao número de picnídios produzidos e que houve correlação linear positiva e altamente significativa entre o número de cirros e o número de picnídios férteis. Na

literatura consultada, não se encontraram referências que envolvam estes tipos de associações quantitativas entre parâmetros de avaliação, ainda que KIMATI (1970) se tivesse preocupado com a influência de nutrição, na fertilidade de corpos frutíferos de Glomerella cingulata. Por outro lado, alguns autores (LEONIAN, 1924; ZAMBRANO PEREZ, 1972) associaram a produção de corpos frutíferos com a esporulação.

Desta forma, fixando-se as variáveis referentes ao gênero, espécie ou cepa do fungo, condições ambientais (luz, temperatura, umidade, etc.) e método de obtenção de inóculo e "inoculação" poder-se-iam estabelecer as seguintes funções:

- O número de picnídios seria função do substrato;
- A fertilidade de picnídios seria também uma função do substrato;
- O número de cirros seria função do número de picnídios e da sua fertilidade;
- Número de picnídios férteis seria função do número de picnídios e da sua fertilidade.

A alta correlação entre o número de cirros e o número de picnídios férteis sugere utilizar-se a contagem de cirros, como parâmetro de avaliação de fertilidade de picnídios, nos estudos que envolvem a fisiologia da reprodução de S. lycopersici.

O fato de alguns autores MATHUR, BARNETT e LILLY, 1950; COCHRANE, 1958; KIMATI, 1970; ZAMBRANO PEREZ, 1958) terem encontrado faixas bastante amplas de relação C/N, favorecendo a reprodução de alguns fungos, indica uma influência relativa desse fator muito dependente

da fonte de nitrogênio (MATHUR, BARNETT e LILLY, 1950), conforme também se observou no presente trabalho. Nas condições deste trabalho, as relações C/N favoráveis à reprodução assexuada de S. lycopersici foram de 4,35 a 33,73, quando se utilizou o nitrato de cálcio, como fonte de nitrogê-nio, e de 5,85 a 10,95, quando foi utilizada a peptona, como fonte de nitrogênio.

Toda a complexidade dos estudos da fisiologia da reprodução de fungos se traduz pela extensa revisão bibliográfica de COCHRANE (1958), concluindo que não existe nenhuma fórmula geral para esporulação e que qual-quer organismo deve ser estudado individualmente.

6. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos foram extraídas as seguintes conclusões:

1. A formação de "conídios secundários" por S. lycopersici foi influenciada pela fonte de nitrogênio, cepas, regime de iluminação, e não influenciada por níveis de nitrogênio e cultivos sucessivos em nitrato de cálcio.

2. Não foi verificada diferença na patogenicidade entre conídios, produzidos em picnídios de "conídios secundários", e fragmentos de micélio, quando inoculados em três espécies selvagens e uma variedade de tomateiro.

3. A produção de picnídios, cirros e picnídios férteis foi influenciada pelas combinações entre níveis de glucose, níveis de nitrato de cálcio ou peptona, na presença de solução basal e tiamina.

4. A capacidade reprodutiva de S. lycopersici está mais em função da natureza da fonte de nitrogênio e da quantidade de carbono e nitrogênio no meio, do que propriamente da relação C/N.

5. Foi observada uma correlação linear positiva, altamente significativa, entre o número de cirros e o número de picnídios férteis.

7. RESUMO

No presente trabalho, realizou-se um estudo sobre os fatores que influem na reprodução assexuada de Septoria lycopersici Speg, em condições de laboratório, com controle de temperatura e luz.

Em determinadas condições nutricionais, observou-se que o fungo formou "conídios secundários", isto é, conídios na ausência de picnídios. Os fatores que influenciaram nesta formação foram: fontes de nitrogênio, cepas e regime de iluminação, enquanto que níveis de nitrogênio e cultivos sucessivos em nitrato de cálcio não o fizeram.

Comparada a patogenicidade de conídios, produzidos em picnídios com "conídios secundários" e fragmentos de micélios, observou-se que tal patogenicidade não diferiu em uma variedade e em três espécies selvagens de tomateiro.

Estudou-se o efeito nutricional na produção de picnídios, cirros e picnídios férteis de S. lycopersici utilizando-se, basicamente, níveis de glucose, como fonte de carbono, combinados com níveis de nitrato de cálcio e peptona, como fontes de nitrogênio, na presença de solução basal e tiamina. Os resultados mostraram que a capacidade reprodutiva de S. lycopersici está mais em função da natureza da fonte de nitrogênio e da quantidade de carbono e nitrogênio no meio, do que, propriamente, da relação C/N.

Deste estudo, concluiu-se que, além da produção de picnídios, sua fertilidade deve ser levada em conta. Uma correlação linear positiva, altamente significativa, foi observada entre o número de cirros e o número de picnídios férteis.

8. SUMMARY

In the present work factors that affect the asexual reproduction of Septoria lycopersici Speg under controlled light and temperature conditions, in the laboratory, have been studied.

The development of "secondary conidia" that is, conidia without picnidia, was observed under certain nutritional conditions.

The factors that affected the formation of these conidia were: nitrogen source, isolates, and light regime, whereas nitrogen level and successive cultures on calcium nitrate media had no effect.

When the pathogenicity of conidia produced in picnidia was compared to "secondary conidia" and micelial fragments no difference could be observed, on one variety and three wild species of tomato.

The results showed that the reproductive capacity of S. lycopersici is more related to the nitrogen source and to the quantity of carbon and nitrogen than to the C/N ratio in the medium.

From this study it was concluded that besides the yield of picnidia, their fertility has be taken into account. A linear positive correlation, highly significant was observed between the number of cirri and the number of fertile picnidia.

9. BIBLIOGRAFIA CITADA

ANDRUS, C.F. 1941. Preparation of inoculum with a mechanical liquifier. *Phytopathology* 31:566-567.

BONDE, R. 1929. Physiological strains of Alternaria solani. *Phytopathology* 19: 533-548.

CALPOUZOS, L. & D.P. LAPIS. 1970. Effects of light on pycnidium formation, sporulation and tropism by Septoria nodorum. *Phytopathology* 60: 791-794.

CAMPOS, H. de. 1964. Estudo sobre a análise de experimentos com parcelas perdidas. Tese de Doutorado apresentada à E.S.A. "Luiz de Queiroz" U.S.P. Piracicaba. 84 pp.

CHUPP, C. & SHERF, A.F. 1960. Vegetable diseases and their control. The Ronald Press Company, New York. 693 p.

COCHRANE, V. 1958. Physiology of fungi. New York, John Wiley & Sons, Inc. XIII + 524 pp.

DRUMMOND, O.A. 1936. Notas sobre o combate à septoriose do tomateiro. *Rodriguésia* 2: 333-336.

FIGUEIREDO, M.B. 1967. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. *O Biológico* 33: 9-13.

GOUMY, H. 1933. Principales maladies des légumes d'arrière-saison. *Journ. d'Agric. Prat.* 97: 180-181. Abs. R.A.M. 13: 140. 1934.

HANSEN, H.N. 1938. The dual phenomenon in imperfect fungi. *Mycologia* 30: 442-455.

HARRINGTON, J.F. & W.F. BUCHHOLTZ. 1947. Report on Agricultural research for the year ending june 30, 1947. Rep. Ia. *Agric.Exp.Sta.* 363 p. Abs. R.A.M. 28:115. 1949.

- HARRIS, H.A. 1935. Morphologic studies of Septoria lycopersici. Phytopathology 25: 790-799.
- HOOVER, A.L. 1957. Cultural variability in Septoria avenae through successive singlemicroscope transfers. Phytopathology 47: 460-468.
- JOHNSON, T. 1952. Cultural variability in Septoria avenae Frank. Can. J. Bot. 30: 318-330.
- JONES, D.G. & N. LEE. 1974. Production of secondary conidia by Septoria tritici in culture. Trans.Br.Mycol.Soc. 62: 212-213.
- KELMAN, A., org. 1967. Sourcebook of laboratory exercises in plant pathology. San Francisco, Freeman. 387 pp.
- KIMATI, H. 1970. Glomerella cingulata (Stonem.) Spauld et V.Schrenk f. sp. phaseoli n.f., fase ascogena do agente causal da antracnose do feijoeiro. Tese de Doutorado apresentada à E.S.A. "Luiz de Queiroz" U.S.P. Piracicaba. 35 pp.
- KUROZAWA, C. 1972. Variabilidade de Septoria lycopersici Speg. agente causal da mancha foliar do tomateiro. Tese de Doutorado apresentada à E.S.A. "Luiz de Queiroz" U.S.P. Piracicaba. 60 pp.
- LEACH, C.M. 1962. Sporulation of diverse species of fungi under near-ultraviolet radiation. Can.J.Bot. 40: 151-161.
- LEACH, C.M. 1965. Detection of ultraviolet absorbing substances in living mycelium of fungi. Mycologia 57: 291-300.
- LEONIAN, L.H. 1924. A study of factors promoting pycnidium formation in some Sphaeropsidales. Am.J.Bot. 2: 19-50.

- LOCKE, S.B. 1948. A method for measuring resistance to defoliation diseases in tomato and other Lycopersicon species. *Phytopathology* 38: 937-942.
- MACNEILL, B.H. 1950. Studies in Septoria lycopersici Speg. *Can.J.Res.* 28: 645-672.
- MATHUR, R.S., H.L. BARNETT & V.G.LILLY. 1950. Sporulation of Colletotrichum lindemuthianum in culture. *Phytopathology* 40: 105-114.
- MERLO, P.A. & M.L. PERERA. 1964. Transmission de Septoria lycopersici por la semilla o por el suelo. *Fitosanitarias* 3(7): 14-16.
- PIMENTEL GOMES, F. 1966. Curso de estatística experimental. 3ª ed. E.S.A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 404 pp.
- PRITCHARD, F.J. & W.S. PORTE. 1924. The relation of temperature and humidity to tomato leaf spot (Septoria lycopersici Speg). *Phytopathology* 14: 156-165.
- RIZINSKI, S. 1966. A contribution to the study of the biology and control of tomato leaf spot (Septoria lycopersici Speg) in the Vardar region. *Arh Polhoprivrekne Tehn.* 19:101-131. *Abs. R.A.M.* 45: 2962. 1967.
- ROMBOUTS, J. 1937. Algumas palavras sobre uma moléstia cryptogâmica prejudicial aos tomateiros na Bahia, causada por Septoria lycopersici Speg. *Rodriguesia* 2: 45-49.
- SHEARER, B.L., R.J. ZEYEN & J.J. OOKA. 1974. Storage and behavior in soil of Septoria species isolated from cereals. *Phytopathology* 64: 163-167.
- SORIANO, S. 1928. Notas micológicas sobre el cultivo en medios artificiales de algunos hongos de plantas. *Rev.Agron. y Vet.* Buenos Aires 2: 89-114. *Abs. R.A.M.* 7:796. 1929.

TUITE, J. 1969. Media and their ingredients (media formulae). Plant pathological methods: fungi and bacteria. Burgess Publishing Company, Minneapolis, 239 pp.

WEBSTER, R.K. & W.B. HEWITT. 1971. Effects of natural substrates on variability in Taxonomic characters. Hilgardia 41: 107-121.

ZAMBRANO PEREZ, C.A. 1972. Efeito da luz e nutrição na re produção de Mycosphaerella melonis (Pass.) Chiu e Walker. Tese de "Mestre" apresentada à E.S.A. "Luiz de Queiroz" U.S.P. Piracicaba. 59 pp.

A P Ê N D I C E

QUADRO I. Resultado da patogenicidade de dois tipos de inóculo, do isolado S-114, em uma variedade e quatro espécies de tomateiro. (Ensaio VII).

Tipos de Inóculos	Código	Hospedeiro	Diâmetro médio das manchas em mm					média
			R	E	P	E	T	
"Conídios secundários" e micélio	T-13	<u>Lycopersicon pimpinellifolium</u>	6,66 ^a	5,80	5,49	5,98	5,98	
	T-16	Santa Cruz gigante B	4,41	4,66	4,88	4,65		
	T-59	<u>L. glandulosum</u>	1,44	1,80	1,31	1,51		
	T-77	<u>L. hirsutum f. glabratum</u>	2,39	2,35	2,55	2,43		
	T-88	<u>L. glandulosum</u>	1,15	1,42	1,34	1,30		
Conídios de picnídios	T-13	<u>L. pimpinellifolium</u>	6,45	5,13	5,67	5,75		
	T-16	Santa Cruz gigante B	4,91	4,17	4,29	4,46		
	T-59	<u>L. glandulosum</u>	1,40	1,37	1,66	1,48		
	T-77	<u>L. hirsutum f. glabratum</u>	2,35	3,02	2,41	2,63		
	T-88	<u>L. glandulosum</u>	1,22	0,92	1,33	1,19		

a: Cada parcela representa o diâmetro médio de 20 manchas, medidas na 3ª e 4ª folhas.

QUADRO II. Análise da variância dos dados referentes à patogenicidade de dois tipos de inóculo em tomateiro. (Ensaio VII).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tipos de inóculo (I)	1	0,06	0,06	0,43 ns
Hospedeiros (H)	4	97,06	24,27	173,36 **
I x H	4	0,15	0,04	0,29 ns
(tratamentos)	9	97,27	10,81	77,21 **
Blocos	2	0,18	0,09	0,64 ns
Resíduo	18	2,46	0,14	
Total	29	99,91		

CV = 11,96%

$\bar{m} = 3,13$ mm

ns = não significativo

** = significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO III. Produção média de picnídios em dezoito meios sintéticos de cultura. (Ensaio VIII)

Meios de cultura	pH	R e p e t i ç õ e s		
		I	II	III média
1. Solução basal + agar	4,95	0,00 ^a	0,00	0,00 0,00
2. Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O + agar	5,50	0,00	0,00	0,00 0,00
3. Tiamina + agar	6,40	0,00	0,00	0,00 0,00
4. Sol.: basal + Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O + agar	4,60	0,00	0,00	0,00 0,00
5. Sol. basal + tiamina + agar	4,75	0,00	0,00	0,00 0,00
6. Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O + tiamina + agar	5,50	0,00	0,00	0,00 0,00
7. Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O + tiamina + sol. basal + agar	4,80	0,00	0,00	0,00 0,00
8. Sol. basal + tiamina + glucose (20 g/l) + agar	5,55	0,00	0,00	0,00 0,00
9. Glucose (20 g/l) + agar	5,80	0,00	0,00	0,23 0,08
10. Glucose (40 g/l) + agar	5,75	0,10	0,47	0,30 0,29
11. Sol. basal + Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O + glucose (20 g/l) + agar	4,80	0,47	0,83	0,53 0,61
12. Sol. basal + glucose (20 g/l) + agar	5,85	0,27	0,37	2,40 1,01
13. Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O + glucose (20 g/l) + agar	5,70	2,10	0,67	0,30 1,02
14. Glucose (20 g/l) + tiamina + agar	6,05	2,75	1,00	0,87 1,54
15. Tiamina + glucose (40 g/l) + agar	6,00	1,37	2,13	4,47 2,66
16. Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O + tiamina + glucose (20 g/l) + agar	5,75	8,60	8,67	8,37 8,55
17. Sol. basal + Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O + tiamina + glucose (20 g/l) + agar	5,10	14,47	15,10	13,07 14,21
18. BDA	-	I.C.	I.C.	I.C. -

a: Cada parcela corresponde à média de trinta campos, de 2,86 mm², observados ao acaso, em microscópio

I.C.: Impossível a contagem de picnídios formados

QUADRO IV. Análise da variância referente à produção de picnídios em nove^a meios sintéticos de cultura. (Ensaio VIII).

C. Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Meios de cultura	8	26,4878	3,3110	39,00 **
Blocos	2	0,0407	0,0204	0,24 ns
Resíduo	16	1,3582	0,0849	
Total	26	27,8867		

C.V. = 17,41%

$\bar{m} = 1,05$

a: Os oito primeiros tratamentos não foram incluídos na análise, porque não formaram picnídios. O BDA também não foi incluído na análise porque formou muitos picnídios, o que impossibilitou a sua contagem.

** : Significativo ao nível de 1% de probabilidade

ns: não significativo

QUADRO V. Produção de picnídios em seis meios sintéticos de cultura. (Ensaio IX).

Meios de cultura	pH	Repetições				média
		I	II	III	IV	
1. Asparagina + glucose + agar	5,85	3,03 ^a	4,47	2,87	2,77	3,29
2. Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + agar	6,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3. Solução basal + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + tiamina + agar	4,70	0,80	0,70	0,73	0,67	0,73
4. Sol. basal + tiamina + glucose + agar	5,30	1,70	0,97	1,10	1,27	1,26
5. Sol. basal + tiamina + glucose + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + agar	4,50	21,33	13,00	18,83	17,87	17,76
6. Sol. basal + glucose + vitaminas + micronutrientes + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + agar	4,65	15,10	12,80	20,93	18,50	16,83

a: Cada parcela corresponde à média de trinta campos, de 2,86 mm², observados ao acaso, em microscópio.

QUADRO VI. Análise da variância, referente à produção de picnídios, em cinco (a) meios sintéticos de cultura. (Ensaio IX).

C. Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	4	1.175,2096	293,8024	59,10**
Blocos	3	17,9569	5,9856	1,20ns.
Resíduo	12	59,6546	4,9712	
Total	19	1.252,8219		

C.V. = 27,97%

$\bar{m} = 7,97$

a - O tratamento 2 não foi incluído na análise, porque não produziu picnídios.

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

ns: não significativo.

QUADRO VII: Produção de cirros, em seis meios sintéticos de cultura. (Ensaio IX).

Meios de cultura	pH	Repetições				média
		I	II	III	IV	
1. Asparagina + glucose + agar	5,85	0,00 ^a	0,00	0,00	0,00	0,00
2. Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + agar	6,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3. Solução basal + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + tiamina + agar	4,70	0,27	0,63	0,40	0,20	0,38
4. Sol. basal + tiamina + glucose + agar	5,30	0,33	0,20	0,40	0,20	0,28
5. Sol. basal + tiamina + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + glucose + agar	4,50	0,07	0,07	0,00	0,03	0,04
6. Sol. basal + glucose + vitaminas + micronutrientes + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + agar	4,65	0,23	0,10	0,20	0,33	0,22

a: Cada parcela corresponde à média de trinta campos, de 9,51 mm², observados ao acaso, em microscópio estereoscópico.

QUADRO VIII. Análise da variância dos dados transformados, referentes à produção média de cirros, em quatro^(a) meios sintéticos de cultura. (Ensaio IX)

C.Variacão	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	3	0,0808	0,0269	5,27 *
Blocos	3	0,0025	0,0008	0,16hs
Resíduo	9	0,0459	0,0051	
Total	15	0,1292		

C.V. = 8,40%

$\bar{m} = 0,85$

a: Os tratamentos 1 e 2 não foram incluídos na análise, porque não produziram cirros.

*: significativo ao nível de 5% de probabilidade

ns: não significativo

QUADRO IX. Porcentagem de picnídios férteis, em seis meios sintéticos de cultura. (Ensaio IX).

Meios de cultura	pH	Repetições				média
		I	II	III	IV	
1. Asparagina + glucose + agar	5,85	30,00 ^a	25,00	22,50	40,00	29,38
2. Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + agar	6,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3. Solução basal + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + tiamina + agar	4,70	12,50	10,00	30,00	15,00	16,88
4. Sol. basal + tiamina + glucose + agar	5,30	30,00	0,00	0,00	0,00	7,50
5. Sol. basal + tiamina + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + glucose + agar	4,50	10,00	20,00	22,50	20,00	18,13
6. Sol. basal + glucose + vitaminas + micronutrientes + Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O + agar	4,65	20,00	20,00	17,50	37,50	23,75

a: Cada parcela corresponde à porcentagem de picnídios férteis, em quarenta picnídios, amostrados ao acaso.

QUADRO X. Análise da variância dos dados transformados, referente a porcentagem de picnídios férteis, em cinco^(a) meios sintéticos de cultura.(Ensaio IX).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	4	1.067,2561	266,8140	3,49*
Blocos	3	91,6237	30,5412	0,40 ns
Resíduo	12	916,8302	76,4025	
Total	19	2.075,7100		

C.V. = 44,35%

$\bar{m} = 19,71$

a: O tratamento 2 não foi incluído na análise porque não produziu picnídios férteis.

*: significativo ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO XI. Produção de picnídios, em combinações de quatro^(a) níveis de glucose com quatro níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Ensaio X).

	Níveis de Glucose		pH	Repetições				média
	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (g/l)	se (g/l)		I	II	III	IV	
1.	0,500	0	6,55	3,23 ^b	4,00	1,67	1,50	2,60
2.	1,788		6,00	1,20	2,47	2,47	1,80	1,99
3.	3,879		5,70	3,50	2,07	2,40	1,30	2,32
4.	7,153		5,40	2,60	1,57	2,67	2,27	2,28
5.	0,500	5	6,80	11,57	13,17	12,40	11,47	12,15
6.	1,788		5,90	17,50	13,90	-	14,00	15,13
7.	3,879		5,55	12,50	8,50	15,60	7,37	10,99
8.	7,153		5,35	13,30	9,27	12,30	14,17	12,26
9.	0,500	10	6,70	16,07	16,47	11,10	18,30	15,49
10.	1,788		6,85	15,77	15,33	14,43	14,20	14,93
11.	3,879		5,50	12,03	15,70	13,60	12,67	13,50
12.	7,153		5,30	15,85	15,27	13,77	13,07	14,49
13.	0,500	20 ^a	6,60	17,20	21,67	12,97	16,27	17,03
14.	1,788		6,25	-	14,10	11,33	16,47	13,97
15.	3,879		5,70	13,03	-	14,67	17,17	14,96
16.	7,153		5,40	15,33	-	13,37	-	14,35

a: O nível de glucose a 20 g/l não foi incluído na análise estatística, devido à perda de maior número de dados, por contaminação.

b: Cada parcela corresponde à média de trinta campos de 2,86 mm², observados ao acaso, em microscópio.

- Indica perda de dados por contaminação, devido a outros fungos.

QUADRO XII. Análise da variância da produção de picnídios, em combinações de três níveis de glucose com quatro níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. (Ensaio X).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Níveis glucose (G)	2	1.383,1558	691,5779	199,39**
Níveis $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (NO_3)	3	17,4136	5,8045	1,67ns
G x NO_3	6	28,7749	4,7958	1,38ns
(Tratamentos)	11	1.429,3443	129,9404	37,46**
Blocos	3	6,2235	2,0745	0,60ns
Resíduo	32	110,9918	3,4685	
Total	46	1.546,5596		

C.V. = 18,88%

$\bar{m} = 9,86$

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

ns: não significativo

QUADRO XIII. Produção de cirros em combinações de quatro^(a) níveis de glucose com quatro níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. (Ensaio X).

	Níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (g/l)	Glucose (g/l)	pH	Repetições				média
				I	II	III	IV	
1.	0,500	0	6,55	1,57 ^b	1,70	1,67	1,60	1,64
2.	1,788		6,00	0,87	1,20	1,10	1,10	1,07
3.	3,879		5,70	1,50	1,87	1,50	1,20	1,52
4.	7,153		5,40	0,07	0,37	0,17	0,97	0,40
5.	0,500	5	6,80	11,77	14,07	14,77	16,60	14,30
6.	1,788		5,90	11,70	10,30	-	14,37	12,12
7.	3,879		5,55	8,67	13,67	12,10	4,87	9,83
8.	7,153		5,35	3,30	7,37	6,87	6,37	5,98
9.	0,500	10	6,70	3,40	1,70	4,27	2,47	2,96
10.	1,788		6,85	13,27	13,10	17,37	18,27	15,50
11.	3,879		5,50	10,50	13,50	13,27	18,60	13,97
12.	7,153		5,30	12,37	9,27	13,00	9,27	10,98
13.	0,500	20 ^a	6,60	0,77	0,20	0,67	0,37	0,50
14.	1,788		6,25	-	4,40	5,77	3,97	4,71
15.	3,879		5,70	3,90	-	5,17	3,57	4,21
16.	7,153		5,40	2,37	-	2,57	-	2,47

a: O nível de glucose a 20 g/l não foi incluído na análise estatística, devido à perda de maior número de dados, por contaminação.

b: Cada parcela corresponde à média de trinta campos de $9,51 \text{ mm}^2$, observados ao acaso, em microscópio estereoscópico.

- Indica perda de dados por contaminação devido a outros fungos.

QUADRO XIV. Análise da variância referente à produção de cirros em combinações de três níveis de glucose com quatro níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. (Ensaio XI).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Níveis glucose (G)	2	979,6407	489,8204	120,98**
Níveis $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (NO_3)	3	118,3449	39,4483	9,74**
G x NO_3	6	415,1218	69,1870	17,09**
(Tratamentos)	11 (1.513,1074)		137,5553	33,97**
Blocos	3	20,0353	6,6785	1,65ns
Resíduo	32	129,5580	4.0487	
Total	46	1.662,7007		
C.V. = 26,68%		$\bar{m} = 7,54$		

QUADRO XV. Desdobramento da interação de níveis de glucose dentro dos níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, referente à produção de cirros. (Ensaio XI).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Nível 1 (NO_3) x níveis glucose	2	387,8313	193,9157	47,90**
Nível 2 (NO_3) x níveis glucose	2	461,1289	230,5645	56,95**
Nível 3 (NO_3) x níveis glucose	2	321,5976	160,7988	39,72**
Nível 4 (NO_3) x níveis glucose	2	224,2049	112,1025	27,69**

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO XVI. Desdobramento da interação de níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dentro dos níveis de glucose, referente à produção de cirros (Ensaio XI).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Nível 0 (G) x níveis NO_3	3	3,7883	1,2628	0,32 ns
Nível 5 (G) x níveis NO_3	3	155,1467	51,7156	12,77 **
Nível 10 (G) x níveis NO_3	3	374,5316	124,8439	30,84 **

ns: Não significativo

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO XVII. Porcentagem de picnídios férteis em combinações de quatro^(a) níveis de glucose com quatro níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. (Ensaio X).

	Níveis de Glucose		pH	Repetições				média
	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (g/l)	(g/l)		I	II	III	IV	
1.	0,500		6,55	90,00 ^b	100,00	100,00	100,00	97,50
2.	1,788		6,00	100,00	100,00	100,00	85,00	96,25
3.	3,879	0	5,70	87,50	95,00	82,50	100,00	91,25
4.	7,153		5,40	75,00	60,00	70,00	100,00	76,25
5.	0,500		6,80	90,00	85,00	90,00	40,00	76,25
6.	1,788		5,90	92,50	75,00	-	85,00	84,17
7.	3,879	5	5,55	65,00	80,00	90,00	70,00	76,25
8.	7,153		5,35	80,00	65,00	90,00	75,00	77,50
9.	0,500		6,70	75,00	40,00	70,00	75,00	65,00
10.	1,788		6,85	100,00	72,50	87,50	85,00	86,25
11.	3,879	10	5,50	85,00	92,50	87,50	95,00	90,00
12.	7,153		5,30	90,00	65,00	75,00	65,00	73,75
13.	0,500		6,60	45,00	27,50	45,00	22,50	44,38
14.	1,788		6,25	-	75,00	45,00	60,00	60,00
15.	3,879	20 ^a	5,70	60,00	-	95,00	85,00	80,00
16.	7,153		5,40	45,00	-	60,00	-	52,50

a: O nível de glucose a 20 g/l não foi incluído na análise estatística, devido à perda de maior número de dados por contaminação.

b: Cada parcela corresponde à porcentagem de picnídios férteis em quarenta picnídios, amostrados ao acaso.

- Indica perda de dados por contaminação devido a outros fungos.

QUADRO XVIII. Análise da variância dos dados transformados, referente à porcentagem de picnídios férteis, em combinações de três níveis de glucose com quatro níveis de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. (Ensaio X).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Níveis glucose (G)	2	1.966,6890	983,3445	7,83 **
Níveis $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (NO_3)	3	949,6696	316,5565	2,52 ns
G x NO_3	6	1.228,2740	204,7123	1,63 ns
(Tratamentos)	11	4.144,6326	1.376,7848	3,00
Blocos	3	252,4248	84,1416	0,67 ns
Resíduos	32	4.016,5983	125,587	
Totais	46	8.413,6557		

C.V. = 16,39%

$\bar{m} = 68,36$

ns: não significativo

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO XIX. Produção de picnídios em combinação de quatro(a) níveis de glucose com quatro níveis de peptona. (Ensaio XI).

	Níveis de Glucose		pH	Repetições				média
	peptona (g/l)	(g/l)		I	II	III	IV	
1.	0,385	0	7,20	3,03 ^b	2,27	1,40	1,87	2,14
2.	1,376		7,15	2,60	2,60	1,57	2,60	2,34
3.	2,985		7,00	3,93	5,20	5,30	5,20	4,91
4.	5,503		7,20	3,87	4,17	2,70	3,77	3,63
5.	0,385	5	7,20	8,83	8,10	9,97	11,20	9,53
6.	1,376		7,00	8,57	12,30	11,07	9,17	10,28
7.	2,985		7,10	8,77	9,85	6,80	3,87	7,32
8.	5,503		7,05	9,77	8,07	4,17	6,10	7,03
9.	0,385	10	7,15	9,73	6,97	4,97	9,20	7,72
10.	1,376		7,15	10,60	11,70	12,50	10,90	11,43
11.	2,985		7,00	10,47	10,60	12,80	10,97	11,21
12.	5,503		7,10	10,77	8,90	11,97	-	10,55
13.	0,385	20 ^a	7,00	6,70	8,47	7,87	10,00	8,26
14.	1,376		6,95	11,60	-	10,17	12,27	11,35
15.	2,985		6,85	15,97	17,57	10,30	19,27	15,78
16.	5,503		6,90	11,67	9,77	15,27	-	12,24

a: O nível de glucose a 20 g/l não foi incluído na análise estatística, devido à perda de maior número de dados, - por contaminação.

b: Cada parcela indica a média de trinta campos, de 2,86 mm², observados ao acaso, em microscópio.

QUADRO XX. Análise da variância referente à produção de picnídios em combinação de três níveis de glucose com quatro níveis de peptona. (Ensaio XI).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Níveis glucose (G)	2	421,2353	210,6177	84,63**
Níveis peptona (P)	3	18,4910	6,1637	2,48ns
G x P	6	67,3193	11,2199	4,51**
(Tratamentos)	11	507,0456	46,0951	18,52
Blocos	3	2,7008	0,9003	0,36ns
Resíduo	32	79,6425	2,4888	
Total	46	589,3889		

C.V. = 21,52%

$\bar{m} = 7,33$

QUADRO XXI. Desdobramento da interação de níveis de glucose, dentro dos níveis de peptona, referente à produção de picnídios. (Ensaio XI).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Nível 1 (P) x níveis glucose	2	118,4653	59,2327	23,80**
Nível 2 (P) x níveis glucose	2	195,6970	97,8485	39,32**
Nível 3 (P) x níveis glucose	2	80,8885	40,4443	16,25**
Nível 4 (P) x níveis glucose	2	93,5037	46,7519	18,78**

ns: não significativo

** : significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO XXII. Desdobramento da interação de níveis de peptona, dentro dos níveis de glucose, referente à produção de picnídios. (Ensaio XI).

<u>C.Variação</u>	<u>G.L.</u>	<u>S.Q.</u>	<u>Q.M.</u>	<u>F</u>
Nível 0 (G) x níveis peptona	3	19,7592	6,5864	2,65 ns
Nível 5 (G) x níveis peptona	3	31,0362	10,3454	4,16 *
Nível 10 (G) x níveis peptona	3	35,0147	11,6716	4,69 **

ns: não significativo

* : significativo ao nível de 5% de probabilidade

** : significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO XXIII. Produção de cirros em combinações de quatro^(a) níveis de glucose com quatro níveis de peptona (Ensaio XI).

	Níveis de peptona (g/l)	Glucose (g/l)	pH	Repetições				média
				I	II	III	IV	
1.	0,385		7,20	3,77 ^b	2,27	3,10	4,07	3,30
2.	1,376		7,15	5,40	3,80	3,77	4,70	4,42
3.	2,985	0	7,00	4,20	5,00	7,50	6,00	5,68
4.	5,503		7,20	4,17	2,57	3,27	5,20	3,80
5.	0,385		7,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6.	1,376		7,00	5,00	6,57	6,77	5,00	5,84
7.	2,985	5	7,10	6,27	5,77	8,27	8,70	7,25
8.	5,503		7,05	6,40	4,40	4,77	5,69	5,32
9.	0,385		7,15	0,00	0,00	0,07	0,20	0,07
10.	1,376		7,15	3,87	0,20	0,00	0,07	1,04
11.	2,985	10	7,00	5,30	4,70	2,57	5,50	4,52
12.	5,503		7,10	8,17	9,87	14,00	-	10,68
13.	0,385		7,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,08
14.	1,376		6,95	0,00	-	0,00	0,00	0,00
15.	2,985	20 ^a	6,85	0,07	0,70	0,00	0,00	0,19
16.	5,503		6,90	6,20	4,60	5,50	4,97	5,32

a: O nível de glucose a 20 g/l não foi incluído na análise estatística, devido à perda de maior número de dados por contaminação.

b: Cada parcela representa a média de trinta campos de 9,51 mm², observados ao acaso, em microscópio estereoscópico.

- Indica perda de dados por contaminação devido a outros fungos.

QUADRO XXIV. Análise de variância referente à produção de cirros em combinação de três níveis de glicose com quatro níveis de peptona. (Ensaio XI).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Níveis glucose (G)	2	0,8881	0,4441	4,98 *
Níveis peptona (P)	3	16,2046	5,4015	60,55 **
G x P	6	11,6421	1,9404	21,75 **
(Tratamentos)	11	28,7348	2,6123	29,29 **
Blocos	3	0,3149	0,1050	1,18 ns
Resíduo	32	2,8549	0,0892	
Total	46	31,9046		

C.V. = 14,62%

$\bar{m} = 2,04$

QUADRO XXV. Desdobramento da interação de níveis de glucose, dentro de níveis de peptona, referente à produção de cirros (Ensaio XI).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Nível 1 (P) x níveis glucose	2	3,9159	1,9580	21,95**
Nível 2 (P) x níveis glucose	2	4,4587	2,2294	24,99**
Nível 3 (P) x níveis glucose	2	0,6063	0,3032	3,40*
Nível 4 (P) x níveis glucose	2	3,5493	1,7747	19,90**

ns: não significativo

* : significativo ao nível de 5% de probabilidade

** : significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO XXVI. Desdobramento da interação de níveis de peptona, dentro de níveis de glucose referente à produção de cirros. (Ensaio XI).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Nível 0 (G) x níveis peptona	3	0,6346	0,2115	2,37ns
Nível 5 (G) x níveis peptona	3	10,6045	3,5348	38,63**
Nível 10 (G) x níveis peptona	3	16,6076	5,5359	62,06**

ns: não significativo

** : significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO XXVII. Porcentagem de picnídios férteis em combinação de quatro^(a) níveis de glucose com quatro níveis de peptona. (Ensaio XI).

Níveis de peptona (g/l)	Glucose (g/l)	pH	Repetições				média
			I	II	III	IV	
1.	0,385	7,20	85,00 ^b	100,00	100,00	100,00	96,25
2.	1,376	7,15	85,00	95,00	100,00	100,00	95,00
3.	2,985	7,00	82,50	87,50	87,50	87,50	86,25
4.	5,503	7,20	85,00	72,50	90,00	62,50	77,50
5.	0,385	7,20	50,00	37,50	30,00	37,50	38,75
6.	1,376	7,00	80,00	100,00	70,00	70,00	80,00
7.	2,985	7,10	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
8.	5,503	7,05	92,50	90,00	95,00	95,00	93,13
9.	0,385	7,15	40,00	47,50	32,30	40,00	40,00
10.	1,376	7,15	25,00	10,00	25,00	25,00	21,25
11.	2,985	7,00	92,50	80,00	85,00	85,00	85,63
12.	5,503	7,10	100,00	100,00	95,00	-	98,33
13.	0,385	7,00	35,00	70,00	50,00	30,00	46,25
14.	1,376	6,95	40,00	-	50,00	15,00	35,00
15.	2,985	6,85	30,00	32,50	30,00	27,50	30,00
16.	5,503	6,90	70,00	90,00	100,00	85,00	86,25

a: O nível de glucose a 20 g/l não foi incluído na análise estatística, devido à perda de maior número de dados por contaminação.

b: Cada parcela corresponde à porcentagem de picnídios férteis em quarenta picnídios, amostrados ao acaso.

- Indica perda de dados por contaminação devido a outros fungos.

QUADRO XXVIII. Análise da variância referente à porcentagem de picnídios férteis em combinação de três níveis de glucose com quatro níveis de peptona. (Ensaio XI).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Níveis de glucose (G)	2	3.177,5169	1.588,7584	25,59**
Níveis de peptona (P)	3	4.204,1979	1.401,3993	22,57**
G x P	6	11.416,1269	1.902,6878	30,65**
(Tratamentos)	11	18.797,8417	1.708,8947	27,52**
Blocos	3	16,8169	5,6056	0,09ns
Resíduo	32	1.986,6696	62,0834	
Total	46	20.801,3282		

C.V. = 11,99%

$\bar{m} = 65,72$

QUADRO XXIX. Desdobramento da interação de níveis de glucose, dentro dos níveis de peptona, referente à porcentagem de picnídios férteis. (Ensaio XI).

C.Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Nível 1 (P) x níveis glucose	2	5.522,9753	2.761,4876	44,48**
Nível 2 (P) x níveis glucose	2	6.717,0762	3.358,5381	54,10**
Nível 3 (P) x níveis glucose	2	1.265,6778	632,8398	10,19**
Nível 4 (P) x níveis glucose	2	1.087,9145	543,9572	8,76**

ns: não significativo

** : significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO XXX. Desdobramento da interação de níveis de peptona, dentro dos níveis de glucose, referente à porcentagem de picnídios férteis. (Ensaio XI).

C. Variação

Nível 0 (G) x níveis peptona	3	1.450,8126	483,6042	7,79**
Nível 5 (G) x níveis peptona	3	5.630,4988	1.876,8329	30,23**
Nível 10 (G) x níveis peptona	3	8.539,0134	2.846,3378	45,85**

** : significativo ao nível de 1% de probabilidade.