

Ana Mikki Nakamura

Engenheiro Agrônomo

DEPARTAMENTO DE DEFESA FITOSSANITÁRIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E AGRONOMIA PROF.
ANTONIO RUETE DE JABOTICABAL

FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO E PATOGENICIDADE DE
Ascochyta phaseolorum Saccardo.

Orientador - Prof. Dr. *Hiroshi Kimati*

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

- 1975 -

Aos meus pais

Dedico

À Juliana

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A autora expressa os seus mais sinceros agradecimentos a todos aqueles que colaboraram, direta ou indiretamente, tornando possível a concretização do presente trabalho. Agradece, em especial:

Ao Prof. Dr. Hiroshi Kimati, pela orientação segura e constante durante todas as fases da realização deste trabalho;

Aos docentes do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" pela atenção e incentivo dados;

Aos Profs. Drs. Jesus Marden dos Santos, Ricardo Pereira Lima Carvalho e Marcos Antonio Giannoni, Diretores da FMVAJAR, pelas facilidades concedidas para realização do Curso de Pós-Graduação e desenvolvimento deste trabalho, bem como pelo apoio dado;

Aos Profs. Drs. David Ariovaldo Banzatto e Sérgio do Nascimento Kronka da FMVAJAR e Décio Barbin da ESALQ pela orientação estatística do trabalho;

Ao Dr. Mário Barreto Figueiredo do Instituto Biológico, por ter cedido isolamentos de fungos;

Ao Prof. Dr. Manoel Evaristo Ferreira pela orientação na parte referente à nutrição das plantas;

Aos demais docentes da Disciplina de Fitopatologia e do Depto. de Defesa Fitossanitária da FMVAJAR pelo apoio e incentivo dados;

Ao fotógrafo Sr. José Barbieri da Silva pelos serviços referentes à ilustração do trabalho;

Ao funcionário Gilmar Martins pelo valioso auxílio prestado;

Às Srtas. Maria de Lourdes Moretto e Rosária Francisca de Oliveira pelos serviços de datilografia;

Ao Sr. Antonio Sérgio Britto e Paulo Eduardo Homem da Seção de Imprensa pela colaboração nos trabalhos de impressão.

ÍNDICE GERAL

Assunto	Página
1 - INTRODUÇÃO	01
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	03
3 - MATERIAIS E MÉTODOS	08
3.1 - Materiais	08
3.1.1 - Isolados de fungos	08
3.1.2 - Hospedeiros	09
3.1.3 - Meios de cultura	09
3.2 - Métodos	10
3.2.1 - Influência do nível de glucose e da fonte e ní vel de nitrogênio (relação C/N) na reprodução de <i>A. phaseolorum</i>	10
3.2.1.1 - Ensaio 1	10
3.2.1.2 - Ensaio 2	11
3.2.2 - Influência da luz e da presença de papel de fil tro na superfície do meio sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> em três diferentes meios de cul tura	13
3.2.3 - Influência das condições de luz e do tipo de inóculo sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> ...	16
3.2.4 - Influência da irradiação com UV e das condições de luz sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> em três meios de cultura	18
3.2.5 - Influência da reação hidrogeniônica do meio de cultura sobre o crescimento micelial e reprodu ção de <i>A. phaseolorum</i>	20
3.2.5.1 - Influência sobre o crescimento micelial	20
3.2.5.2 - Influência sobre a reprodução	21
3.2.6 - Patogenicidade de isolados de <i>A. phaseolorum</i> e de <i>P. vexans</i> sobre alguns hospedeiros	22

Assunto	Página
3.2.7 - Reação das variedades Embu e Híbrida Piracicaba F ₁ -100 aos isolados B-2 e B-3 de <i>A. phaseolorum</i> e ao isolado Pv de <i>P. vexans</i>	24
4 - RESULTADOS	27
4.1 - Influência do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio (relação C/N) na reprodução de <i>A. phaseolorum</i>	27
4.1.1 - Ensaio 1	27
4.1.2 - Ensaio 2	30
4.2 - Influência da luz e da presença do papel de filtro na superfície do meio sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> em três diferentes meios de cultura	39
4.3 - Influência das condições de luz e do tipo de inóculo sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i>	42
4.4 - Influência da irradiação e das condições de luz sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> em tres meios de cultura	49
4.5 - Influência da reação hidrogeniônica do meio de cultura sobre o crescimento micelial e reprodução de <i>A. phaseolorum</i>	55
4.5.1 - Influência sobre o crescimento micelial	55
4.5.2 - Influência sobre a reprodução	57
4.6 - Patogenicidade de isolados de <i>A. phaseolorum</i> e de <i>P. vexans</i> sobre alguns hospedeiros	59
4.7 - Reação das variedades Embu e Híbrida Piracicaba F ₁ -100 aos isolados B-2 e B-3 de <i>A. phaseolorum</i> e ao isolado Pv de <i>P. vexans</i>	62
5 - DISCUSSÃO	70
6 - CONCLUSÕES	80
7 - RESUMO	83

Assunto	Página
8 - SUMMARY	85
9 - BIBLIOGRAFIA	87
10 - APÊNDICE	92

LISTA DE QUADROS

QUADROS	Página
<p>1 - Escalas de notas utilizadas para a avaliação dos efeitos da irradiação e das condições de luz durante a incubação sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> (isolado B-2), nos meios de cultura G5Ni0,2, BDA e MPA.....</p>	19
<p>2 - Escala de notas utilizada para a leitura dos resultados da inoculação por pulverização, nas variedades Embu e Híbrida, com os isolados B-2 e B-3 de <i>A. phaseolorum</i> e um isolado de <i>P. vexans</i></p>	26
<p>3 - Escala de notas empregada para a leitura dos resultados das variedades Embu e Híbrida, inoculadas por injeção, com os isolados B-2 e B-3 de <i>A. phaseolorum</i> e um isolado de <i>P. vexans</i></p>	26
<p>4 - Influência do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio (C/N) sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> (isolado B-2)</p>	28
<p>5 - Efeito do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio na formação de picnídios de <i>A. phaseolorum</i> (isolado B-2)</p>	31
<p>6 - Efeito do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio na formação de picnídios de <i>A. phaseolorum</i> (isolado B-3)</p>	32
<p>7 - Influência das condições de luz e da sobreposição de papel de filtro na superfície do meio sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> (isolado B-2) em 3 meios de cultura</p>	39

QUADROS

Página

8 - Influência das condições de luz e do tipo de inóculo utilizado sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> (isolados B-2 e B-3)	42
9 - Influência da irradiação e das condições de luz durante a incubação sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> (isolado B-2)	49
10 - Influência da irradiação e das condições de luz durante a incubação sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> (isolado B-2)	52
11 - Reisolamento dos fungos inoculados por pulverização com suspensão de esporos	59
12 - Reação de 2 variedades de Berinjela a 2 isolados de <i>A. phaseolorum</i> e a um isolado de <i>P. vexans</i> , inoculados por pulverização de suspensão de esporos	62
13 - Reação de 2 variedades de Berinjela a 2 isolados de <i>A. phaseolorum</i> e a um isolado de <i>P. vexans</i> , inoculados por injeção de suspensão de esporos	64
I - Influência do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio (C/N) sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-2	93
II - Análise da variância dos dados contidos no Quadro I, transformados para $\sqrt{x + 1}$, referentes à influência do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-2, avaliada através da contagem de picnídios grandes por campo microsscópico sob 40 aumentos	94

III - Análise da variância dos dados contidos no Quadro I, transformados para $\sqrt{x + 1}$, referentes ao número de picnídios pequenos formados por campo microscópico sob 40 aumentos	95
IV - Análise da variância dos dados contidos no Quadro I, transformados para $\sqrt{x + 1}$, referentes ao número total de picnídios (grandes e pequenos) formados por campo microscópico sob 40 aumentos	96
V - Efeito do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio na formação de picnídios de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-2	97
VI - Análise da variância dos dados contidos no Quadro V, transformados em \sqrt{x} , referentes ao efeito do nível de glucose e da fonte e nível de N na formação de picnídios de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-2	98
VII - Efeito do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio na formação de picnídios de <i>A. phaseolorum</i> (isolado B-3)	99
VIII - Análise da variância dos dados contidos no Quadro VII, transformados em \sqrt{x} , referentes ao efeito do nível de glucose e da fonte e nível de N na formação de picnídios de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-3	100
IX - Influência das condições de luz e da posição de papel de filtro na superfície do meio sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> (isolado B-2) em três meios de cultura	101

QUADROS

Página

X - Análise da variância dos dados contidos no Quadro IX, transformados em $\sqrt{x + 1}$, referentes à influência das condições de luz e presença de papel de filtro em 3 meios de cultura	102
XI - Influência das condições de luz e do tipo de inóculo utilizado sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> , isolados B-2 e B-3	104
XII - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XI, transformados em \sqrt{x} , referentes à influência da luz e do tipo de inóculo utilizado sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> , isolados B-2 e B-3	105
XIII - Influência da irradiação e das condições de luz durante a incubação sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-2	107
XIV - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XIII, transformados em \sqrt{x} , referentes à influência da irradiação e das condições de luz sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> , avaliadas através da formação de picnídios	108
XV - Influência da irradiação e das condições de luz durante a incubação sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-2	112
XVI - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XV, transformados em \sqrt{x} , referentes à influência da irradiação e das condições de luz durante a incubação, avaliada através da atribuição de notas segundo a exsudação de conídios em 3 meios de cultura	113

QUADROS

Página

XVII - Peso seco de micélio de <i>A. phaseolorum</i> cultivado em meio líquido de batata-dextrose com diferentes níveis de pH	116
XVIII - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XVII, referentes ao peso seco de micélio de <i>A. phaseolorum</i> , cultivado em BD com diferentes níveis de pH	116
XIX - Influência da reação hidrogeniônica do meio de cultura na reprodução de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-2, em G5Ni0,1	117
XX - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XIX transformados para \sqrt{x} , referentes à influência da reação hidrogeniônica do meio na reprodução de <i>A. phaseolorum</i>	117
XXI - Reação de 2 variedades de berinjela a 2 isolados de <i>A. phaseolorum</i> e a um isolado de <i>P. vexans</i> , inoculado por pulverização	118
XXII - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XXI, transformados em \sqrt{x} , referentes à reação de variedades de berinjela a 2 isolados de <i>A. phaseolorum</i> e a um isolado de <i>P. vexans</i> , inoculados por pulverização .	118
XXIII - Reação de 2 variedades de berinjela a 2 isolados de <i>A. phaseolorum</i> e a um isolado de <i>P. vexans</i> , inoculados por injeção	120
XXIV - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XXIII, transformados em \sqrt{x} , referentes à reação de 2 variedades de berinjela a 2 isolados de <i>A. phaseolorum</i> e a um isolado de <i>P. vexans</i> , inoculados por injeção	120

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
1 - Esquema do molde de plástico transparente, em tamanho natural, utilizado para a realização das contagens de picnídios, realizadas nos setores subdivididos	15
2 - Efeito do nível de glucose e nível de N fornecido pela caseína na reprodução e desenvolvimento micelial de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-2	35
3 - Efeito do nível de glucose e nível de N fornecido pela caseína na reprodução e desenvolvimento micelial de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-3	36
4 - Efeito do nível de glucose e nível de N fornecido pelo nitrato de sódio na reprodução e desenvolvimento micelial de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-2	37
5 - Efeito do nível de glucose e nível de N fornecido pelo nitrato de sódio na reprodução e desenvolvimento micelial de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-3	38
6 - Efeito das condições de luz e do tipo de inóculo sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-2	46
7 - Efeito das condições de luz e do tipo de inóculo sobre a reprodução de <i>A. phaseolorum</i> , isolado B-3	47
8 - Efeito do tipo de inóculo sobre a reprodução e desenvolvimento micelial de <i>A. phaseolorum</i> , isolados B-2 e B-3, vista sob luz transmitida	48
9 - Curva de desenvolvimento micelial de <i>A. phaseolorum</i> em meio de BD com diferentes valores de pH .	56

FIGURA	Página
10 - Curva de produção de picnídios de <i>A. phaseolorum</i> em meio de cultura com diferentes valores de pH.	58
11 - Reação da variedade Embu aos isolados B-2 e B-3 de <i>A. phaseolorum</i> e Pv de <i>P. vexans</i> , inoculada por pulverização de suspensão de esporos	66
12 - Reação das variedades Embu e Híbrida Piracicaba F ₁ -100 aos isolados B-2 e B-3 de <i>A. phaseolorum</i> inoculadas por injeção de suspensão de esporos .	67

1 - INTRODUÇÃO

Ascochyta phaseolorum Saccardo foi relatado em berinjela (*Solanum melongena* L.), em nosso meio, por TERANISHI & FIGUEIREDO (1968) e FIGUEIREDO E TERANISHI (1969), causando sérios prejuízos em plantações comerciais durante o inverno. Segundo FIGUEIREDO (1972) é um dos fatores limitantes da produção de berinjela durante o inverno em algumas regiões como Campinas e Embu, ou Mogi das Cruzes segundo Dr. Ikuta, citado ainda por FIGUEIREDO (1972). Segundo esse autor, ocorre em todas as regiões de cultivo dessa olerícola.

Trata-se, pois de um patógeno que causa importante doença em berinjela, além de poder afetar outras culturas e plantas silvestres.

Ainda segundo FIGUEIREDO (1972), devido a semelhança na sintomatologia, a doença causada por *A. phaseolorum* pode ser confundida com a causada por *Phomopsis vexans* (Sacc. & Syd.) Harter. Para a última doença já existe variedade de berinjela considerada resistente, entretanto, pouco se sabe a respeito da causada por *Ascochyta*, sendo urgente a realização de estudos a seu respeito, desde aspectos básicos como metodologia para produção de inóculo, até para o melhor conhecimento de patogenicidade e reação de diferentes variedades de plantas.

Tratando-se de um fungo que esporula muito pobremente em condições artificiais, é prioritário o conhecimento de fatores que podem influenciar, bem como dos fatores que induzem a formação de esporos para aplicação em estudos posteriores. Na revisão bibliográfica apresentada a seguir, pode-se observar que estudos nesse sentido com esse fungo são escassos e, em assim sendo, o presente trabalho teve por objetivos estudar:

- 1) os aspectos da nutrição mais favoráveis à formação de pícnidios e conseqüente exsudação de conídios;

- 2) a influência de outros fatores como sobreposição de discos de papel de filtro na superfície do meio, tipo de inóculo para plaqueamento, irradiação do micélio, reação do meio de cultura, condições de luz durante a incubação sobre a formação de picnídios e sobre a exsudação de conídios;
- 3) a patogenicidade do fungo sobre variedades de berinjela e sobre outras espécies vegetais;
- 4) a sintomatologia da doença em berinjela e em outras plantas.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Ascochyta phaseolorum foi descrito pela primeira vez por Saccardo em 1878 sobre feijoeiro, segundo citação de SUTTON & WATERSTON (1966). Posteriormente vários autores citaram outras espécies de *Ascochyta* em diversas plantas, como *A. althaei* na, *A. nicotianae*, *A. lycopersici*, *A. gossypii*, *A. abelmoschi*, *A. capsici*. Diversas tentativas de demonstração da semelhança entre as diferentes espécies, isoladamente, podem ser encontradas na literatura como ELLIS (1952), HOLDEMAN & GRAHAN (1952), THOMPSON (1953), GROSSAN (1953 e 1958), trabalhando com um grande número de isolados de várias espécies de *Ascochyta* (mais de 200 isolados), concluiu que todas as espécies acima citadas devem ser consideradas sinônimas de *A. phaseolorum*. Assim, no presente trabalho, se optou pelo nome de *A. phaseolorum* Saccardo, embora, BOEREMA (1972), tenha sugerido algumas modificações na classificação do gênero *Ascochyta* proposta por CROSSAN (1958), reclassificando o fungo para *Phoma exigua* Desm..

A seguir será apresentada uma revisão bibliográfica sobre *A. phaseolorum*, com ênfase especial aos estudos sobre fisiologia da reprodução e sobre a patogenicidade.

HARTER (1918) descreveu os picnídios de *A. abelmoschi* como tendo 65 a 225 microns de diâmetro, com ostíolo pequeno, geralmente central, e que esses picnídios são relativamente pequenos quando no hospedeiro, mas são bem maiores e mais variáveis na forma, quando em meio de cultura artificial. Verificou que folhas de quiabeiro pulverizadas com suspensão de esporos não foram infectadas, sendo que ocorreu infecção somente quando frutos jovens foram inoculados por ferimento, com esporos ou micélio. Crescimento micelial máximo foi obtido em agar e mínimo em caules de *Melilotus alba*. Por outro lado, observou que frutifica esparsamente em agar e abundantemente em caules de *M. alba*, onde exsuda esporos em 7 dias.

SPRAGUE & JOHNSON (1950) relataram que o estudo do gênero *Ascochyta* é feito com dificuldade porque parece incluir não somente espécies com caracteres bem fixados, mas também material virtualmente idêntico que é somente fase transitória de certos fungos de gêneros relacionados.

ELLIS (1952), em estudos de inoculação cruzada, verificou que a mesma espécie de *Ascochyta* era responsável pela doença em quiabeiro e feijoeiro. HOLDEMAN & GRAHAN (1952) chegaram à mesma conclusão para os organismos causais da doença em fumo e algodoeiro.

THOMPSON (1953) comparou *A. abelmoschi* e *A. gossypii* e verificou que as suas características culturais são semelhantes e que o ótimo de temperatura para crescimento de certos strains de ambas as espécies era de 25°C, embora para uma variante de *A. gossypii* fosse 20°C. Inoculações com conídios de *A. gossypii* em quiabeiro e algodoeiro mostraram a sua patogenicidade para ambas as culturas.

CROSSAN (1953) realizou testes de inoculação com *A. abelmoschi*, *A. phaseolorum* e *A. gossypii* e verificou que as 3 espécies de *Ascochyta* eram idênticas. Posteriormente, em 1958, o mesmo autor utilizou mais de 200 isolados de várias espécies de *Ascochyta*, cujos esporos eram morfologicamente semelhantes e fez comparações morfológicas, fisiológicas e de patogenicidade, obtendo os seguintes resultados: a curva resultante do crescimento a várias concentrações hidrogeniônicas foi bimodal, com crescimento mínimo entre as duas máximas entre pH 4,5 a 5,5; pH ótimo, entre 5,5 a 6,0, tendo obtido crescimento mínimo a pH 2,8 e 7,4; isolados de um mesmo hospedeiro variaram bastante em tipos culturais, e esses tipos foram comuns para todos os isolados. O ótimo de temperatura para crescimento para a maioria dos isolados foi 24°C. Em inoculações cruzadas, os sintomas produzidos em cada hospedeiro foram idênticos, independente da fonte original do isolado. Propôs que as espécies *A. abelmoschi*, *A. gossypii*,

A. althaeina, *A. nicotianae*, *A. capsici* e *A. lycopersici* sejam consideradas sinônimos de *A. phaseolorum*. Em testes de inoculação cruzada todos os isolados produziram picnídios em todos os hospedeiros. Variações nas características culturais parecem ser maiores entre isolados de um hospedeiro, que entre isolados de diferentes hospedeiros.

Segundo CHUPP & SHERF (1960), qualquer parte do feijoeiro pode ser infectada por *A. phaseolorum*, desde o estágio de plântulas até de plantas velhas. Causa manchas nas folhas que geralmente não são tão destrutivas como as que ocorrem nas vagens, ramos e raízes de plântulas. Já em quiabeiro, as folhas raramente são afetadas, e os pecíolos, só ocasionalmente, e o principal prejuízo é devido ao ataque aos frutos.

NAGAI (1961) citou que *A. abelmoschi* apresentou bom crescimento em meio de agar-batata-dextrose-infusão de hastes de quiabeiro. Os cilindros de batata esterilizados, as hastes de quiabeiro e da ervilheira foram bons meios de cultura, sendo o último mais favorável para a formação de picnídios com menor desenvolvimento de micélio. Os picnídios são produzidos em pequeno número em meio de cultura artificial e não raro encontrou culturas sem formação de picnídios. A irradiação com raios ultravioleta durante 10 minutos acelerou sensivelmente o crescimento do micélio e a formação de picnídios, bem como tratamento com frio induziu a produção mais abundante de esporos.

BIRD (1963) relatou que as características das colônias de 4 isolados de *A. gossypii* em meio de batata-cenoura - dextrose-agar foram estudadas em diferentes temperaturas e elas variaram em coloração, crescimento micelial e produção de picnídios.

TREGGI & FIRPI (1967) estudaram a fisiologia de 4 espécies de *Ascochyta*, entre elas *A. abelmoschi*, e concluíram que a faixa de temperatura mais favorável ao crescimento foi de 21 a 26°C, com o máximo de 30°C e, de pH do meio entre 7,1 a 8,4; aqú

cares, inclusive pentoses, e álcoois foram bem utilizados, bem como o foram fontes amídicas, amínicas, nítricas ou amoniacais de nitrogênio; com relação às vitaminas, o crescimento de algumas delas foi favorecido ou por adição de vitamina B-12 e biotina ou riboflavina, biotina e tiamina.

ALCORN (1968) descreveu picnídios de *A. phaseolorum*, com 70 - 240 μ de diâmetro e concluiu ser esse fungo um parasita fraco. Relatou que na Austrália esse fungo parece ter extensa gama de hospedeiros, incluindo plantas cultivadas, ervas daninhas e espécies indígenas. Encontrou infecções naturais em 48 hospedeiros distribuídos por 14 famílias e, ainda, 12 outras espécies se mostraram suscetíveis quando inoculadas artificialmente. Ainda, considerou *Ascochyta oró* Viegas como sinônimo de *A. phaseolorum*.

BOEREMA (1972), estudando a ontogenia dos conídios, concluiu que *Ascochyta phaseolorum* Sacc. (1878) pode ser reduzido a sinônimo de *Phoma exigua* Desm. (1849) e que as espécies *A. althaeina* Sacc. & Bizz., *A. nicotianae* Pass., e *A. capsici* Bond.-Mont. consideradas por Crossan como sinônimos de *A. phaseolorum* e *A. oró* Viégas considerada por Alcorn (1968), como sinônimo de *A. phaseolorum*, são todas, provavelmente, sinônimos de *P. exigua*.

FIGUEIREDO (1972), apresentou estudos fisiológicos e sorológicos sobre o fungo *A. phaseolorum* e algumas das conclusões foram que: grãos esterilizados de feijão Azuki (*P. angularis* Kaw.) foram apropriadas para esporulação do fungo; a temperatura mais adequada para esporulação situou-se ao redor de 21 a 24°C e, para germinação de conídios, ao redor de 21°C; períodos curtos de temperaturas elevadas (superiores a 27°C) foram suficientes para a inibição do crescimento desse fungo, enquanto que períodos curtos de temperaturas mais baixas que o ótimo de crescimento apresentaram efeito inverso; os sintomas causados em berinjela por *A. phaseolorum* e por *P. vexans* são bastante semelhantes, o que pode levar à confusão entre as doenças causadas pelos dois

patógenos em diagnoses de campo; *A. phaseolorum* foi patogênico para um número elevado de plantas de importância econômica e plantas nativas, sendo particularmente importante para berinjela, quiabo e feijão vagem, cultivados durante o inverno; foi encontrada uma grande variação entre os diversos isolamentos de *A. phaseolorum* no que concerne ao grau de patogenicidade para as diversas plantas inoculadas.

Em nossas condições, os relatos da ocorrência desse fungo são apresentados a seguir.

NAGAI (1961) relatou incidência de *A. abelmoschi* em quiabeiro, nos invernos frios e chuvosos na baixada Fluminense. Entretanto, nessa região o fungo não provoca estrago no fruto do quiabeiro, o mesmo não ocorrendo em São Paulo e em outros países onde o dano aos frutos é grande.

TERANISHI & FIGUEIREDO (1968) relataram a ocorrência nesse ano, no município de Embu, Estado de São Paulo, em culturas comerciais e irrigadas de berinjela da variedade Embu e Híbrida de Piracicaba, de doença afetando quase 100% das plantas, causada por *A. phaseolorum*. Nesse ano, o mesmo fungo foi observado causando prejuízos da ordem de 10% em culturas comerciais de berinjela em seis propriedades do município de Campinas, Estado de São Paulo.

FIGUEIREDO & TERANISHI (1969) apresentaram estudos mais pormenorizados a respeito da doença observada em 1968 no município de Embu, que vinha sendo atribuída a *P. vexans*. Confirmaram tratar-se de outra doença semelhante, causada por *A. phaseolorum*.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nos laboratórios e dependências do Departamento de Defesa Fitossanitária da Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia "Prof. Antonio Ruete" de Jaboticabal, SP, entre 1971 a 1974. Eventualmente, parte de alguns ensaios foi executada nos laboratórios do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, Piracicaba.

A seguir, serão descritos os materiais e os métodos utilizados nos diferentes ensaios.

3.1- Materiais

A descrição dos materiais utilizados será feita segundo os seguintes sub-itens:

3.1.1- Isolados de fungos

Foram utilizados os seguintes isolados de *Ascochyta phaseolorum* Sacc., designados por B-2, obtido de isolamento a partir de picnídios retirados de lesões de folhas de berinjela (*Solanum melongena* L.) em 23/02/71; B-3, de isolamento a partir de picnídios de lesões em frutos de berinjela, em 27/03/72; e, finalmente, B-3F, de reisolamento, pelo método de transplante de tecido, a partir de lesões de haste de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculado com o isolado B-3, anteriormente descrito; e o isolado Pv de *Phomopsis vexans* (Saccardo & Sidow) Harter, obtido por repicagem de cepa 827 do Instituto Biológico São Paulo, cedido pelo Dr. Mário Barreto Figueiredo.

3.1.2- Hospedeiros

Como hospedeiros foram utilizados: variedade Embu e Híbrida Piracicaba F₁-100 de berinjela, feijoeiro vagem trepador (*P. vulgaris* L.), algodoeiro variedade IAC 13 (*Gossypium hirsutum* L.), quiabeiro (*Hibiscus esculentus* L.), pimentão (*Capsicum annuum* L.), tomateiro variedade "Grande Liso" (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

3.1.3- Meios de cultura

Nos diversos ensaios, foram utilizados os seguintes meios de cultura: 1) Meio de extrato de folhas e hastes do algodoeiro (Meio de algodão ou Alg.): extrato de 300 g de folhas e hastes de algodoeiro, preparado com trituração em liquidificador e infusão por 30 min. e coado em gase; 15 g de agar; água destilada q.s.p. 1,0 litro; 2) Meio de extrato de folhas e hastes de plantas de berinjela (Meio de berinjela ou Ber.): extrato de 300 g de folhas e hastes de plantas de berinjela, preparado como no caso do meio de algodão; 15 g de agar; água destilada q.s.p. 1,0 litro; 3) Meio de BDA, segundo AMER. PHYTOPATH. SOC. (1967); 4) Meio de BD com composição semelhante ao meio de BOA, com exceção de agar, que foi suprimido para se obter um meio líquido; 5) Meio de MPA, segundo AMER. PHYTOPATH. SOC. (1967); 6) Meio basal de Lilly & Barnett modificado segundo KIMATI (1970), com a seguinte composição: 1,0 g de KH₂PO₄, 0,5 g de MgSO₄.7H₂O, 20,0 g de agar, água destilada q.s.p. 1,0 litro; 7) Meio de glucose caseína (GSCa0,2): meio basal de Lilly & Barnett modificado, anterior, mais 5 g glucose e 1,29 g de caseína por litro; 8) Meio de glucose - nitrato de sódio 1 (GSNi0,1): meio basal de Lilly & Barnett modificado mais 5 g de glucose e 0,61 g de nitrato de sódio por litro; 9) Meio de glucose - nitrato de sódio 2 (GSNi0,2) semelhante ao anterior (8) só que com 1,22 g de nitrato de sódio por litro.

3.2- Métodos

Os métodos utilizados no presente trabalho serão descritos segundo cada ensaio executado.

3.2.1- Influência do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio (relação C/N) na reprodução de *A. phaseolorum*.

Para o estudo da influência do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio na reprodução de *A. phaseolorum*, foram montados 2 ensaios.

3.2.1.1- Ensaio 1

O presente ensaio foi montado com a finalidade de se estudar a influência de diferentes níveis de glucose e de diferentes fontes e níveis de nitrogênio (relação C/N) na reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B-2 (item 3.1.1). O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado, de acordo com o esquema fatorial 3^3 , cada tratamento com 2 repetições.

Como fonte de carbono foi utilizada a glucose, testando-se 3 níveis, a saber, 5, 10 e 15 g por litro de meio de cultura, baseado no trabalho de HIX & BAKER (1964), bem como no fato de ser a glucose assimilável pela maioria dos microrganismos (HAWKER, 1957; LILLY & BARNETT, 1951), embora KUMAR (1967) tenha relatado algumas espécies de fungos que são incapazes de utilizar a glucose. Como fontes de nitrogênio, foram testadas a caseína hidrolisada, o nitrato de sódio e o sulfato de amônio, nos 3 níveis, 0,1, 0,2 e 0,3 g de nitrogênio por litro de meio de cultura. A glucose e uma das fontes de nitrogênio foram adicionadas, combinando-se os diferentes níveis, ao meio basal de Lilly & Barnett modificado segundo KIMATI (1970) (item 3.1.3).

A suspensão de esporos, utilizada para os plaqueamentos, foi preparada, esmagando-se os picnídios obtidos de culturas de 25 dias de idade em meio de MPA (item 3.1.3) em tubos com água esterilizada, acidificando-se, a seguir, até pH 3,0 com o uso de uma solução de ácido lático. 0,3 ml da suspensão de esporos, assim obtida, foi pipetada para cada placa de Petri e, uniformemente, distribuída pela superfície do meio de cultura pelo uso de uma espátula de Drigalsky.

Após o plaqueamento, as placas foram incubadas sob condições de laboratório, com alternância de luz diurno/noturno, sem controle de temperatura.

A avaliação foi realizada após 10 dias de incubação, através da contagem de picnídios em 10 campos de microscópio estereoscópico sob 40 aumentos, escolhidos ao acaso sobre 2 diâmetros perpendiculares da placa, sendo 5 em cada um deles. Em seguida, foram calculadas as médias (\bar{x}), por campo microscópico, as quais foram transformadas em $\sqrt{\bar{x} + 1}$, segundo recomendação de SNEDECOR (1966), para efeito de análise estatística. Como ocorreu a formação de picnídios de tamanhos nitidamente diferentes, a contagem foi feita, separadamente, para picnídios grandes e para picnídios pequenos em cada campo microscópico.

3.2.1.2- Ensaio 2

Este segundo ensaio foi montado devido ao fato de os resultados do ensaio anterior terem mostrado a necessidade de se estudar melhor as duas fontes, a saber, a caseína hidrolisada e o nitrato de amônio.

Como no ensaio 1 foi observado efeito de níveis de glucose somente quando se utilizou o sulfato de amônio como fonte de nitrogênio, foram montados 2 experimentos, simultaneamente, um com o isolado B-2 e outro com o B-3 (item 3.1.1) e, com os níveis 0,01, 0,1 e 2,0 g de nitrogênio/l de meio, utilizando-se co

mo fontes de N, a caseína (Bacto casamino-ácido da Difco com 8% de N total) e o nitrato de sódio e, como fonte de C, a glucose nos níveis 5 e 10 g/l adicionados ao meio basal descrito em 3.1.3. Foram utilizados 20 ml do meio de cultura com 2% de agar (Difco-agar) em cada placa de Petri. O pH do meio de cultura nos diferentes tratamentos variou de 5 a 7 antes da autoclavagem.

O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado com 12 tratamentos e 4 repetições.

O plaqueamento foi realizado utilizando-se 1 ml de suspensão de esporos com concentrações de $1,5 \times 10^5$ e $6,1 \times 10^4$ esporos/ml, respectivamente, para os isolados B-2 e B-3, acidulada com ácido lático a pH 3,0. As suspensões de esporos foram obtidas a partir de picnídios de culturas com 10 dias de idade. Logo após a pipetagem da suspensão de esporos para as placas, estas foram agitadas, cuidadosamente, através de movimentos rotatórios horizontais para distribuição homogênea da suspensão através da superfície do meio.

As placas de Petri foram incubadas sob condições de luz contínua fornecida por 2 lâmpadas fluorescentes de 40W, Philips, localizadas a cerca de 70 cm acima do nível das placas. A temperatura mínima diária do ambiente variou de 13,5 a 24°C (média de 18,7°C) e a máxima de 19,0 a 31,0°C (média de 25,2°C) durante o período de incubação.

A leitura dos resultados foi feita aos 48 dias de incubação pela contagem do número de picnídios em 10 campos microscópicos, ao acaso, distribuídos segundo 2 diâmetros perpendiculares da placa de Petri, 5 campos em cada um, sob microscópio estereoscópico com aumento de 75 e 18 vezes, respectivamente, para os experimentos com o isolado B-2 e B-3. Os dados obtidos sob aumento de 75 x (isolado B-2) foram transformados para número de picnídios correspondente a um campo visual do microscópio estereoscópico sob aumento de 18 x, ou seja, número de picnídios / 108,43 mm².

Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados em \sqrt{x} , e utilizadas 3 das 4 repetições devido à contaminação de uma placa da 4ª repetição. O tratamento com nível 2 de nitrogênio fornecido pela caseína não foi considerado na análise, devido à impossibilidade de contagem do número de picnídios.

3.2.2- Influência da luz e da presença de papel de filtro na superfície do meio sobre a reprodução de *A. phaseolorum* em três diferentes meios de cultura.

O presente ensaio foi montado com a finalidade de estudar a influência da luz e da presença de papel de filtro na superfície do meio de cultura sobre a reprodução de *A. phaseolorum* (isolado B-2), tendo sido utilizados os meios de extrato de folhas e hastes de berinjela e de algodoeiro, descritos sob o item 3.1.3 e, designados, a seguir, por meio de berinjela ou de algodão, ou pelas abreviações Ber. ou Alg. e o meio de BDA (item 3.1.3).

Os diferentes meios de cultura foram vertidos em placas de Petri, à razão de 20 ml/placa, sendo que, em cada placa dos tratamentos com papel de filtro, foi colocado um disco de papel de filtro qualitativo Klabin, de 7,5 cm de diâmetro, previamente esterilizado em estufa a 170°C por 2 horas.

O plaqueamento foi realizado através da pipetagem de 0,3 ml de uma suspensão de esporos obtidos de culturas em G5Ca 0,2 (item 3.1.3), seguida de sua distribuição uniforme pela superfície do meio ou do papel de filtro pelo uso de uma espátula de Drigalsky.

Após o plaqueamento, as placas foram incubadas sob as seguintes condições: exposição contínua à luz (luz contínua), exposição em períodos alternados à luz (luz alternada - cerca de 8 horas de exposição à luz por dia) e sem exposição à luz (escuro).

A principal fonte de luz foi a natural, sendo as condições dos tratamentos com exposição alternada à luz, as naturais (alternância diurno/noturno) e, as dos tratamentos com exposição contínua foram, também, as naturais suplementadas pela manutenção de 2 lâmpadas incandescentes de 150W/130V, continuamente acesas, numa sala de aproximadamente 2,5 x 5,0 m; as placas dos tratamentos sob condições de escuro foram embrulhadas com folhas de papel alumínio. As condições de temperatura não foram controladas, sendo as mesmas do ambiente de laboratório nessa época do ano.

A avaliação foi realizada após 10 dias de incubação, através da contagem do número de picnídios sob microscópio este reoscópico a 40 aumentos. A contagem foi realizada para a metade de cada placa dividida em 6 (seis) setores, realizando-se contagens em setores alternados, utilizando-se um molde de plástico transparente, segundo a Figura 1. Para maior facilidade de execução da tarefa, cada setor em que foi feita a contagem foi subdividido em 4 sub-setores.

Os dados obtidos nas contagens foram transformados para picnídios por placa (x), que, por sua vez, foram transformados em $\sqrt{x + 1}$, segundo recomendação de SNEDECOR (1966), para efeito de análise estatística, a qual foi realizada obedecendo-se o esquema fatorial 3 (luz) x 2 (papel) x 3 (meios). Portanto, o ensaio constou de 18 tratamentos, cada um com 2 repetições.

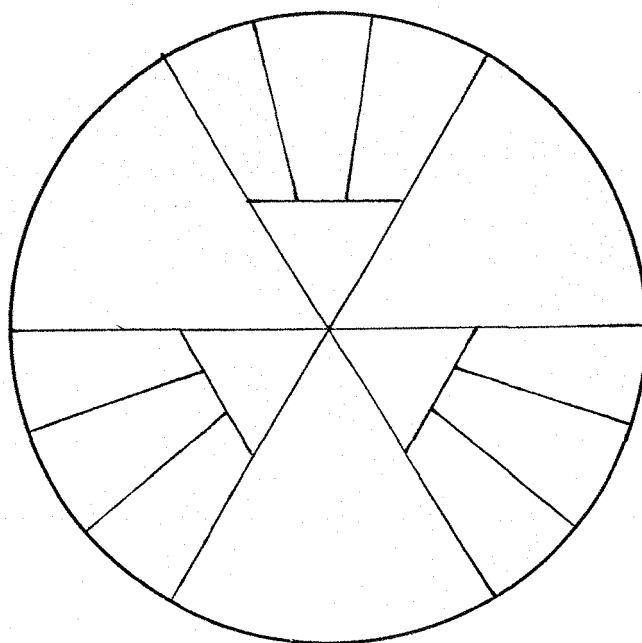


FIGURA 1 - Esquema do molde de plástico transparente, em tamanho natural, utilizado para a realização das contagens de picnídios, realizadas nos setores subdivididos.

3.2.3- Influência das condições de luz e do tipo de inóculo sobre a reprodução de *A. phaseolorum*.

No presente ensaio, foram estudados os efeitos das condições de luz e do tipo de inóculo sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, utilizando-se os isolados B-2 e B-3 do patógeno e o meio de cultura G5Ni0,1, descritos nos itens 3.1.1 e 3.1.3, vertidos à razão de 20 ml por placa de Petri, marca Anumbra.

O inóculo para os plaqueamentos foi obtido da seguinte maneira: a) suspensão de esporos - picnídios, obtidos de culturas do fungo com 7 dias de idade em meio de G5Ni0,1, foram esmagados assepticamente, em tubos de ensaio com 20 ml de água destilada esterilizada, através do uso de um bastonete de vidro, sendo obtidas suspensões com concentrações de $3,3 \times 10^5$ e $1,5 \times 10^5$ conídios por ml, respectivamente, para os isolados B-2 e B-3. O cálculo das concentrações de esporos foi realizado através de 20 contagens para cada isolado, utilizando-se de um hemocitômetro. b) disco de micélio - discos de agar de 5 mm de diâmetro foram retirados da região de crescimento micelial ativo de culturas do fungo em BDA, através do uso de um furador de rolhas, assepticamente.

Para o plaqueamento, no caso de discos de micélio, estes foram simplesmente implantados no centro da placa e, no caso de suspensão de esporos, foi pipetado 1,0 ml de suspensão e realizada a sua distribuição uniforme pela superfície do meio de cultura com o uso de uma espátula de Drigalsky.

Logo após, todas as placas foram pré-incubadas, durante 20 horas, em condições de escuro e, em seguida, incubadas sob as diferentes condições de luz, a saber, luz alternada (8h de luz e 16h de escuro por dia), luz contínua e escuro contínuo, no interior de uma caixa de luz, construída com madeira e placas de duratex, pintada inteiramente de branco, com as seguintes dimensões: 124 cm de comprimento, 45 cm de largura e 80 cm de altura.

ra, equipada com 2 lâmpadas fluorescentes Philips TL 40 W, dis-
tantes 74 cm das placas, que forneciam de 150 a 200 ft-c de lumi-
nosidade, determinada com o uso de luxímetro "Sekonic Studio mo-
del L - 28 c2". Para obtenção das diferentes condições de luz, as
placas permaneceram constantemente expostas ou constantemente em-
brulhadas com folhas de papel alumínio, ou com exposição em um
período por dia alternado com escuro. A temperatura no interior
da caixa durante o período de incubação variou de 24 a 29°C.

A avaliação foi feita depois de 18 dias de incubação,
através da contagem do número de picnídios em 10 campos do mi-
crocópio estereoscópico, distribuídos segundo 2 diâmetros per-
pendiculares da placa, 5 campos em cada um, e, posteriormente,
calculado o número médio por campo. As contagens foram realizadas
sob aumento de 80 x, obtendo-se um campo microscópico de 5,31mm²
(diâmetro de 2,6 mm) de área para os tratamentos referentes ao
isolado B-2 (1, 2, 5, 6, 9 e 10) e, sob aumento de 20 x, abrangen-
do área de 84,91 mm², por campo (diâmetro de 10,4 mm), para os
tratamentos referentes ao isolado B-3 (4, 8 e 12), devido ao di-
ferente padrão de distribuição e tamanhos nitidamente diferentes
dos picnídios. Ainda, nos tratamentos plaqueados com disco de
micélio do isolado B-3, devido à formação de picnídios apenas em
determinadas áreas, foi feita a contagem do número total de pic-
nídios formados na placa. Posteriormente, as médias obtidas nos
campos microscópicos sob 80 aumentos e o total obtido nas placas,
conforme os tratamentos, foram convertidos para número de picníf-
dios por área de 84,91 mm², correspondente à área do campo mi-
crocópio sob 20 aumentos, para uniformização dos dados. Os da-
dos, assim obtidos (x), foram transformados em \sqrt{x} para efeito
de análise estatística, que foi realizada obedecendo-se o esque-
ma fatorial 2 (isolados) x 3 (luz) x 2 (inóculo), portanto, o nú-
mero total de tratamentos foi de 12, cada um com 3 repetições, de-
vido ao descarte de uma das repetições por contaminação de algu-
mas placas.

3.2.4- Influência da irradiação com UV e das condições de luz sobre a reprodução de *A. phaseolorum* em três meios de cultura.

No presente ensaio foram utilizados o isolado B-2 de *A. phaseolorum* e os seguintes meios de cultura: G5Ni 0,2, BDA e MPA. Para cada meio de cultura foram estudados os efeitos da irradiação e das diferentes condições de luz, durante o período de incubação das culturas, sobre a formação de picnídios e exsudação de conídios.

O inóculo utilizado para os plaqueamentos consistiu de um disco de agar de 5 mm de diâmetro, obtido da região de crescimento micelial ativo do fungo cultivado em meio BDA. Após o plaqueamento com um disco de inóculo no centro, as placas foram pré-incubadas, durante 48 horas sob condições de escuro, antes da irradiação, sendo que o contorno do crescimento micelial, obtido durante esse período, foi demarcado com o uso de um pincel atômico. Em seguida, as placas foram irradiadas, em séries de 3 com luz ultravioleta curta de 254 nm, utilizando-se lâmpada germicida tipo "A", da General Electric, localizada a uma altura de 30 cm acima das placas de Petri. Os diferentes tratamentos estudados foram: 10, 30 e 60 segundos de irradiação, tendo sido incluído um tratamento testemunha, sem irradiação.

As placas, com os diferentes meios de cultura, submetidas aos diferentes tratamentos quanto à irradiação foram incubadas sob diferentes condições: escuro, luz contínua e luz alternada (8 h de luz e 16 h de escuro/dia). A intensidade luminosa variou de 60 - 70 ft-c nos tratamentos com luz alternada e 150 - 200 ft-c nos tratamentos com luz contínua, fornecida por lâmpadas fluorescentes. Assim, o número total de tratamentos do ensaio foi de 36; com 2 repetições cada um.

A avaliação foi feita após 34 dias de incubação, atribuindo-se notas, segundo as escalas contidas no Quadro 1, re

ferentes à formação de picnídios na área irradiada e à exsudação de conídios nesses picnídios, sendo que, para a aplicação da análise estatística os dados foram transformados em \sqrt{x} .

QUADRO 1 - Escalas de notas utilizadas para a avaliação dos efeitos da irradiação e das condições de luz durante a incubação sobre a reprodução de *A. phaseolorum* (isolado B-2), nos meios de cultura G5Ni0,2, BDA e MPA.

Nota	Formação de: a) picnídios ou b) exsudação de conídios na área irradiada
a) Picnídios	
1	sem formação de picnídios
2	até 4 picnídios/cm ²
3	mais de 4 até 10 picnídios/cm ²
4	mais de 10 picnídios/cm ²
b) Exsudação de conídios	
1	sem exsudação de conídios
2	pouca exsudação
3	abundante exsudação

3.2.5- Influência da reação hidrogeniônica do meio de cultura sobre o crescimento micelial e re produção de *A. phaseolorum*.

Foram montados 2 ensaios, um para o estudo da influ ência da reação do meio (pH) sobre o crescimento micelial e ou tro para o estudo da influência desse fator sobre a reprodução.

3.2.5.1- Influência sobre o crescimento micelial.

Para o presente ensaio foi utilizado o isolado B-2 de *A. phaseolorum* e foram testados os seguintes valores de pH: 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0 e 7,0. O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 4 re petições cada um.

Seguiu-se a metodologia utilizada por CROSSAN (1968). Assim para cada frasco Erlenmeyer contendo 35 ml de meio líquido de BD (item 3.1.3) foram adicionados 2,0 ml de solução tampão , constituído de glicina (1,9 g), ácido cítrico (1,3 g), KH_2PO_4 (1,9 g) e água destilada (50 ml) e, a seguir foram ajustados os níveis de pH para os valores respectivos dos tratamentos, através da a dição de HCl 1% ou NaOH 1%, antes da esterilização do meio, uma vez que, em teste preliminar, se verificou que a esterilização não alterava a reação hidrogeniônica do meio, bem como, de acor do com PELLETIER & KEITT (1954).

Em cada frasco, contendo o meio de cultura líquido, foi colocado um disco de agar de 5,0 mm de diâmetro, retirado da região de crescimento ativo do fungo, cultivado em meio de G5 Ca0,2 (item 3.1.3), com o uso de um furador de rolhas.

Após 7 dias de incubação sob condições ambientes, du rante os quais os frascos foram agitados de 7 a 8 vezes por dia, o micélio foi separado do meio de cultura por filtragem, usando-se papel de filtro qualitativo Klabin, previamente tarado. O pa pel de filtro contendo o micélio foi secado a 70°C por 12 horas,

colocado em dessecador, esfriado a temperatura ambiente e pesado. Na ocasião da filtração foram medidos os valores de pH do filtrado e se verificou que a reação hidrogeniônica do meio se manteve constante até o final do teste.

3.2.5.2- Influência sobre a reprodução.

O presente ensaio foi montado com a finalidade de se estudar a influência da reação hidrogeniônica do meio de cultura (pH) sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, tendo sido utilizado o isolado B-2.

O meio de cultura utilizado foi o G5Ni0,1 (item 3.1.3). Foram testados os seguintes níveis de pH, ajustados pelo uso de soluções de HCl ou NaOH, antes da adição do agar (Difco) e da autoclavagem: 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5 e 8,0, perfazendo-se, portanto, um total de 10 tratamentos, cada um com 4 repetições. Em cada placa de Petri, que constituiu uma parcela, foram vertidos 20 ml do meio de cultura.

O plaqueamento foi realizado pipetando-se 0,3 ml de uma suspensão de conídios com concentração de 3×10^5 esporos/ml, obtidos em meio de G5Ni0,1. Após a pipetagem, a suspensão foi distribuída através da superfície do meio de cultura pelo uso de uma espátula de Drigalsky.

A avaliação foi realizada após 15 dias de incubação sob condições de laboratório, através da contagem de picnídios, em 10 campos de um microscópio estereocópico sob 64 aumentos e recolhidos ao acaso sobre 2 diâmetros perpendiculares da placa de Petri, sendo 5 em cada um deles. Obtida a média do número de picnídios por campo microscópico, foi realizada a transformação para \sqrt{x} , para efeito de análise estatística. Foi observado, também, o tamanho dos picnídios obtidos nos diversos tratamentos, classificados em picnídios pequenos, médios e grandes.

3.2.6- Patogenicidade de isolados de *A. phaseolorum* e de *P. vexans* sobre alguns hospedeiros.

Em testes preliminares, foi provada a patogenicidade do isolado B-2 de *A. phaseolorum* em berinjela, var. Híbrida Piracicaba F₁-100 e em plântulas de feijoeiro, variedade Rosinha.

O presente ensaio foi montado para se testar a patogenicidade dos isolados B-2, B-3, B-3F de *A. phaseolorum* e de um isolado de *Phomopsis vexans* (Pv) (item 3.1.1) em diversas culturas, tendo sido uma delas a variedade Híbrida Piracicaba F₁ - 100 de berinjela, considerada portadora de fatores de resistência a *P. vexans*, mas que, em condições de campo, tem apresentado problemas de doenças com sintomatologia semelhante a de *P. vexans*, segundo FIGUEIREDO, 1972.

As culturas utilizadas para os testes de patogenicidade foram: feijoeiro vagem, algodoeiro (variedade IAC-13), quiabeiro, tomateiro (variedade grande liso), pimentão e berinjela (variedades Embu e Híbrida Piracicaba F₁-100), descritos no item 3.1.2. Essas plantas foram cultivadas em solo (terriço) esterilizado em autoclave a 120°C e 1,0 atm de pressão durante 2 horas, envasado em latas de 1 litro de capacidade, sendo que em cada lata foram mantidas 2 plantas para todos os casos, exceto para as 2 variedades de berinjela, casos em que foi mantida apenas 1 planta. A idade das plantas na época da inoculação foi de 2 meses para berinjela e de 20-30 dias para as demais.

Foram preparadas suspensões de esporos esmagando-se picnídios, obtidos em culturas dos isolados com 14 dias de idade em meio de G5Ni0,1 em água esterilizada com o uso de um bastão de vidro, coando-se a seguir, em várias camadas de gaze estéril. As suspensões de esporos, assim obtidas, foram utilizadas para as inoculações e elas apresentavam as concentrações de 6×10^6 , 2×10^6 e 2×10^6 conídios/ml, respectivamente, para os isolados B-3, B-3F e B-2 de *A. phaseolorum* e, 3×10^6 conídios/ml para o isolado Pv de

P. vexans. Para cada 100 ml dessas suspensões foi adicionada u ma gota de espalhante adesivo Iharaguen.

As inoculações foram realizadas utilizando-se o méto do da pulverização com um vaporizador de laquê, tomando-se o cui dado de dirigir os jatos tanto para a página inferior como para a superior das folhas, evitando-se, também, a ocorrência de es corrimento da suspensão de esporos. As testemunhas foram pulve rizadas apenas com água acrescida do mesmo espalhante adesivo.

Após a inoculação, as plantas foram mantidas durante 70 horas, sob condições de câmara úmida, montada individualmente, para cada lata, usando-se um saco plástico transparente, evitañ do-se que as suas paredes internas tocassem nas plantas e, amar rando-se a sua boca nas latas, externamente.

As plantas inoculadas foram mantidas em sala climati i zada, iluminada por 6 lâmpadas fluorescentes Philips, 40 W e mais 4 lâmpadas incandescentes de 150 W/130 V, que forneciam cerca de 40-64 ft-c de luminosidade, medidos à altura do nível do solo dos vasos com um luxímetro Sekonic Studio model 28 c2. A temperatura ambiente da sala foi mantida ao redor de 22,3 a 26,3^oC por um condicionador de ar, e, a umidade relativa do ar variou de cerca de 70 - 100% durante o dia, dados esses registrados, continuam te, por um termohigrógrafo que utiliza gráficos n^o 115 r Fuess.

Quando necessário, foi feito o controle de pragas pe l a pulverização de Phosdrin ou Azodrin.

Foram feitas, também, adubações das plantas, obede ñ cendo-se as recomendações para as condições de campo, adaptadas para as condições de vaso.

A leitura dos resultados foi realizada 28 dias após a inoculação, tendo sido realizados reisolamentos por meio de pla queamentos de fragmentos dos tecidos com lesões, utilizando-se o meio G5Ni0,1. O reisolamento foi considerado positivo (+) quan do ocorreu formação de picnídios no meio de cultura e negativo(-) quando não ocorreu e, o isolado foi considerado patogênico só

nos casos de reisolamento positivo (+).

3.2.7- Reação das variedades Embu e Híbrida Piracicaba F₁-100 aos isolados B-2 e B-3 de *A. phaseolorum* e ao isolado Pv de *P. vexans*.

O presente ensaio foi montado para estudar as reações de duas variedades de berinjela, Embu e Híbrida Piracicaba F₁-100 a *A. phaseolorum* (isolados B-2 e B-3) e a *P. vexans* (isolado Pv). O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com 8 tratamentos, cada um com 3 repetições, sendo que cada parcela constou de um vaso com 2 plantas.

Foram utilizados vasos de argila de 8 litros de capacidade, contendo 7 litros de terriço autoclavado a 120°C de temperatura e 1 atm de pressão por 2 horas. Para cada vaso, foram transplantadas 2 mudas de berinjela da variedade Embu ou Híbrida conforme o tratamento. Foi feita adubação antes do transplante e repetida, periodicamente, usando-se as seguintes doses de nutrientes: 1,0 g de superfosfato simples e 0,25 g de cloreto de potássio por litro de solo. O controle de pragas foi realizado, quando necessário, utilizando-se Phosdrin ou Azodrin.

A inoculação foi feita em plantas com cerca de 3 meses de idade. Foram empregadas as metodologias semelhantes às utilizadas por CROSSAN (1958) e FIGUEIREDO (1972).

As suspensões de conídios utilizadas para as inoculações foram preparadas a partir de picnídios obtidos de culturas dos isolados com idade de 35 a 60 dias em meio G5Ni0,1 e apresentavam concentrações ao redor de 10⁶ esporos/ml.

Foram utilizados 2 métodos de inoculação, a saber, por pulverização da suspensão de esporos na parte aérea e por injeção da suspensão na haste. No método da pulverização de esporos, foi adicionado espalhante adesivo Iharaguen na proporção de uma gota para cada 100 ml da suspensão que foi pulverizada pe

lo uso de vaporizadores de laque, dirigindo-se os jatos para as páginas superior e inferior das folhas, proporcionando uma distribuição o mais uniforme possível, evitando-se também o escoamento. As testemunhas foram pulverizadas com água destilada e esterilizada contendo as mesmas proporções do mesmo espalhante adesivo. Logo após, as plantas foram mantidas em condições de câmara úmida, construída pelo uso de lençóis plásticos transparentes e sob proteção contra a isolação, durante cerca de 70 horas. No método da inoculação por injeção de suspensão de esporos, a agulha hipodérmica foi inserida na haste principal de cima para baixo, tendo sido ligeiramente recuada para se proceder a injeção da suspensão de esporos, nessa região entre a casca e o lenho. Nas testemunhas, foi injetada apenas água destilada esterilizada.

O ensaio foi conduzido em condições de casa-de-vegetação, tendo a temperatura variado de 10 - 13°C a 29 - 32°C, respectivamente, faixas de variação das mínimas e máximas diárias; a umidade relativa do ar variou de 30 - 100% durante o dia. Os dados citados foram registrados, continuamente durante o ensaio por termohigrógrafo instalado entre os vasos.

Para as plantas inoculadas por pulverização de esporos, foram feitas avaliações aos 14, 20 e 31 dias após a inoculação e, para as inoculadas por injeção, aos 32 e 38 dias após a inoculação. Para essas avaliações foram atribuídas notas a cada planta, segundo as escalas contidas nos Quadros 2 e 3, respectivamente para as plantas inoculadas por pulverização e por injeção e, a seguir, calculada a média para cada vaso.

Para efeito de análise estatística, os dados obtidos foram transformados para \sqrt{x} .

QUADRO 2 - Escala de notas utilizada para a leitura dos resultados da inoculação por pulverização, nas variedades Embu e Híbrida, com os isolados B-2 e B-3 da *A. phaseolorum* e um isolado de *P. vexans*.

Nota	Sintomas
0,5	ausência de lesões.
1,0	lesões isolados na folha, pequenas, até 1,0 cm na maior dimensão.
2,0	lesão com 1-2 cm ou lesões numerosas (mais de 5 lesões por folha), menores que 1,0 cm.
3,0	lesões grandes ou várias lesões coalescentes, atingindo áreas com mais de 3 cm na maior dimensão.
4,0	seca de ramos ou de ponteiros.

QUADRO 3 - Escala de notas empregada para a leitura dos resultados das variedades Embu e Híbrida, inoculadas por injecção, com os isolados B-2 e B-3 de *A. phaseolorum* e um isolado de *P. vexans*.

Nota	Sintomas
0,5	tecido cicatrizado no ponto de inoculação
1,0	lesão inicial no ponto de inoculação.
2,0	lesão com até 1 cm de comprimento.
3,0	lesão com comprimento variando de 1 a 3 cm.
4,0	lesão maior que 3 cm de comprimento.

4 - RESULTADOS

Os resultados do presente trabalho se encontram expostos segundo os seguintes itens, de acordo com cada ensaio montado.

4.1- Influência do nível de glucose e da fonte e níveis de nitrogênio (relação C/N) na reprodução de *A. phaseolorum*.

Como foi exposto no item 3.2.1, foram montados 2 ensaios para o estudo da influência da relação C/N sobre a reprodução de *A. phaseolorum*.

4.1.1- Ensaio 1

Os resultados médios obtidos no presente ensaio se encontram no Quadro 4 e, devido à formação de picnídios de tamanhos nitidamente diferentes, foi realizada análise estatística separadamente para picnídios grandes, pequenos e total de grandes e pequenos. Os dados originais, bem como a análise estatística se encontram nos Quadros I, II, III e IV, Apêndice). Em casos de significância dos efeitos, acusada pelo teste F, foi feita a aplicação do teste de Tukey para comparação de médias, assinalando-se-as com letras, sendo que médias seguidas de pelo menos uma letra igual não diferem entre si.

QUADRO 4 - Influência do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio (C/N) sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B-2. Jaboticabal, 1971.

Nitrogênio	Número de picnídios/campo nos níveis de glucose (1)														
	Fonte	Nível	5			10			15						
			G (2)	P	G+P	G	P	G+P	G	P	G+P				
Caseína	0,1	4,15	2,55	6,70	4,20	1,75	5,85	2,45	1,35	3,80					
	0,2	4,20	1,55	5,75	5,00	1,85	6,90	1,35	2,60	3,95					
	0,3	0,70	1,50	2,20	3,10	1,45	4,55	1,20	1,25	2,45					
	Média	3,02	1,67	4,88	4,10	1,68	5,77	1,67	1,73	3,40					
NaNO ₃	0,1	3,70	0,40	4,10	2,00	0,35	2,35	1,75	0,80	2,55					
	0,2	0,95	0,65	1,60	2,35	0,80	3,15	2,25	1,15	3,40					
	0,3	2,15	1,50	3,65	1,10	0,95	2,05	2,00	1,20	3,20					
	Média	2,27	0,65	3,12	1,62	0,70	2,52	2,00	1,05	3,05					
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1	9,05	3,95	13,00	1,40	0,50	1,90	0,90	0,80	1,70					
	0,2	6,20	4,45	10,65	2,50	1,35	3,85	1,00	0,75	1,75					
	0,3	7,80	4,25	12,05	1,05	0,45	1,50	4,10	1,35	5,45					
	Média	7,68	4,22	11,90	1,65	0,77	2,42	2,00	0,97	2,97					

(1) - Média de 2 placas, cada placa representada pelo número médio obtido através da contagem de 10 campos de microscópio estereoscópico sob 40 aumentos.

(2) - G - picnídios grandes; P - picnídios pequenos; G + P - soma de picnídios grandes e pequenos.

CV para G = 24,18%
 P = 23,99%
 G+P = 27,10%

A análise da variância dos resultados (Quadro II, A pêndice) mostra que, quando as fontes de N foram caseína ou nitrato de sódio, não houve diferença estatística entre os efeitos de diferentes níveis de glucose e níveis de nitrogênio ao nível de 5% de probabilidade, em relação ao número de picnídios grandes. Houve diferença altamente significativa somente para os êfeitos dos diferentes níveis de glucose, quando a fonte de N utilizada foi sulfato de amônio. Aplicando-se o teste de Tukey para comparação de médias, tem-se que o melhor nível de glucose para formação de picnídios "grandes", quando se utilizou como fonte de N o sulfato de amônio, foi o nível 5 g de glucose/litro de meio. Não houve diferença entre os níveis a 10 a 15 g de glucose/litro.

De um modo geral, não houve diferença entre as 3 fontes de N utilizadas, quanto à formação de picnídios "grandes".

A análise da variância para os dados referentes ao número de picnídios "pequenos" (Quadro III Apêndice), mostra que, quando a fonte de N utilizada foi a caseína, não houve diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade entre os efeitos de diferentes níveis de glucose ou de nitrogênio. Quando a fonte de N foi nitrato de sódio, também, não houve diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade, entre os efeitos de níveis de glucose ou de nitrogênio, entretanto, houve significância para a Interação G x N, motivo pelo qual foram desdobrados os graus de liberdade para a glucose e para a referida interação, desdobramento esse, que mostra (Quadro III) que, apesar da significância para a interação, não houve diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade para os efeito de níveis de glucose dentro dos diferentes níveis de N. A mesma análise da variância (Quadro III) mostra que, quando a fonte de N foi o sulfato de amônio, houve diferença altamente significativa, somente para os efeitos dos diferentes níveis de glucose. O teste de Tukey mostra que o nível 5 foi mais favorável à formação de maior número

de picnídios "pequenos" do que os níveis 10 e 15 que se comportaram de modo semelhante. A análise de variância mostra, também, que houve significância para o efeito das diferentes fontes de N. O teste de Tukey mostra, entretanto, que as médias não diferem entre si.

A análise de Variância (Quadro IV Apêndice), mostra que, quando a fonte de N utilizada foi a caseína, não houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os efeitos de níveis de glucose e nitrogênio sobre o número total de picnídios, grandes e pequenos. Quando a fonte de N foi o nitrato de sódio, o teste F acusou significância para o efeito de níveis de N. Entretanto, o teste de Tukey mostra que as médias não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

A mesma análise da variância mostra que, no caso da utilização de sulfato de amônio como fonte de N, houve diferença altamente significativa somente para os efeitos dos diferentes níveis de glucose. A aplicação do teste de Tukey mostra que o melhor nível de glucose para formação de maior número de picnídios foi o nível 5, sendo que, os níveis 10 e 15 não diferiram entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

Ainda, a mesma análise da variância mostra que não houve significância para o efeito "fontes de nitrogênio", ao nível de 5% de probabilidade, quanto à formação do número total de picnídios, grandes e pequenos.

4.1.2- Ensaio 2

Os resultados médios do presente ensaio, montado para o estudo do efeito do nível de glucose e de fonte de N (caseína e nitrato de sódio), também em diferentes níveis (relação C/N) sobre a reprodução de *A. phaseolorum* se encontram nos Quadros 5 e 6, respectivamente, realizados com os isolados B-2 e B-3. Os dados originais, expostos nos Quadros V e VII do Apêndice, fo

ram transformados em \sqrt{x} para efeito de análise estatística (Quadros VI e VIII, Apêndice)

Para o isolado B-2, a análise da variância dos dados (Quadro VI) mostra que não houve diferença estatística, ao nível de 5% de probabilidade, para os diferentes efeitos do nível de glucose, fonte e nível de nitrogênio sobre a formação de picnídios.

QUADRO 5 - Efeito do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio na formação de picnídios de *A. phaseolorum* (isolado B-2). Jaboticabal, 1973.

Nitrogênio		Número de picnídios / campo nos níveis de glucose (1)	
Fonte	Nível	5	10
Caseína	0,01	1550,83	1400,37
	0,10	1273,07	1203,63
	2,00	-	-
NaNO ₃	0,01	862,21	1070,53
	0,10	1070,53	1307,79
	2,00	914,29	1383,01

(1) - número de picnídios em 108,43 mm² de superfície da placa de Petri, correspondente à área de um campo visual de microscópio estereocópico sob 18 x, média de 3 placas, cada placa representada pela média de 10 contagens.

CV = 16,77%.

QUADRO 6 - Efeito do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio na formação de picnídios de *A. phaseolorum* (isolado B-3). Jaboticabal, 1973.

Nitrogênio		Número médio de picnídios/campo nos níveis de glucose (1)	
Fonte	Nível	5	10
Caseína	0,01	60,67	12,00
	0,10	95,67	72,33
	2,00	-	-
NaNo ₃	0,01	14,00	11,67
	0,10	35,00	46,33
	2,00	35,00	47,00

(1) - Número de picnídios em 108,43 mm² de superfície de placa de Petri, correspondente à área de um campo visual de microscópio estereocópico sob 18 x, média de 3 placas, cada placa representada pela média de 10 contagens.

CV = 27,28%

Para o isolado B-3, a análise de variância dos dados (Quadro VIII, Apêndice) mostra que houve diferença altamente significativa para os efeitos de níveis de glucose e de níveis de nitrogênio dentre os tratamentos cuja fonte de Nitrogênio foi a caseína, tendo sido o nível 5 de glucose e o nível 0,1 de nitrogênio o que proporcionou a formação de maior número de picnídios. Quando a fonte de nitrogênio utilizada foi nitrato de sódio, houve diferença altamente significativa só para os efeitos de ní

veis de nitrogênio. Aplicando-se o teste de Tukey para comparação das médias, tem-se que os níveis 0,1 e 2,0 de nitrogênio se comportaram de forma semelhante e superior ao nível 0,01 na formação de picnídios do isolado B-3 de *A. phaseolorum*. Não houve diferença significativa para níveis de glucose ou significância para a Interação G x N.

Entre os tratamentos com caseína e com nitrato de sódio como fontes de nitrogênio, ainda a análise da variância (Quadro VIII, Apêndice), mostra que houve diferença altamente significativa, tendo sido obtida formação de maior número de picnídios nos tratamentos com caseína.

Além da contagem do número de picnídios formados foram realizadas observações qualitativas dos efeitos de diferentes níveis de glicose e de diferentes fontes e níveis de nitrogênio (Figuras 2, 3, 4 e 5).

Nos tratamentos com caseína como fonte de nitrogênio houve diferenças marcantes no aspecto do crescimento do fungo na placa. Nos níveis 0,01 e 0,1 de nitrogênio formaram-se picnídios visíveis e possíveis de serem contados, com formação de crescimento micelial pouco denso e espalhado por toda a superfície do meio de cultura, uniformemente. No isolado B-3 esse crescimento micelial foi mais denso que no isolado B-2. No nível 2 de nitrogênio, verificou-se que o crescimento micelial se fez de maneira desuniforme através da superfície do meio de cultura, formando-se agrupamentos compactos mais ou menos circulares, de coloração escura na parte central e com uma faixa mais clara nas suas margens. No isolado B-2 o aspecto dos agrupamentos era semelhante quando examinado pela superfície superior, podendo-se verificar que na parte central mais escura houve formação de picnídios, sendo os bordos do agrupamento bem definidos. No isolado B-3, quando examinados pela superfície superior, não se pode observar o aspecto descrito no exame pelo verso, devido à formação de um abundante crescimento micelial, de cor mais clara cobrindo

a superfície superior dos agrupamentos, não permitindo também observar a presença de picnídios, bem como dando um aspecto pouco definido aos bordos do agrupamento, com aspecto radiado. Com ambos os isolados, houve um empardecimento nítido e acentuado do meio de cultura.

Quando a fonte de nitrogênio utilizada foi o nitrato de sódio, como no caso da caseína, houve formação de um crescimento micelial mais abundante no isolado B-3, quando comparado com o crescimento do isolado B-2. Diferentemente dos tratamentos com caseína como fonte de nitrogênio, no caso do nitrato como fonte de nitrogênio o nível de glicose influenciou a coloração do micélio do isolado B-3, e conforme o nível de nitrogênio. Foi tanto mais escura quanto maior o nível de glicose e menor o de nitrogênio, assim no nível 5 de glicose o micélio foi mais escuro no nível 0,01 de nitrogênio do que nos níveis 0,1 e 2,0, porém mais clara que no nível 10 de glicose e 0,01 de nitrogênio.

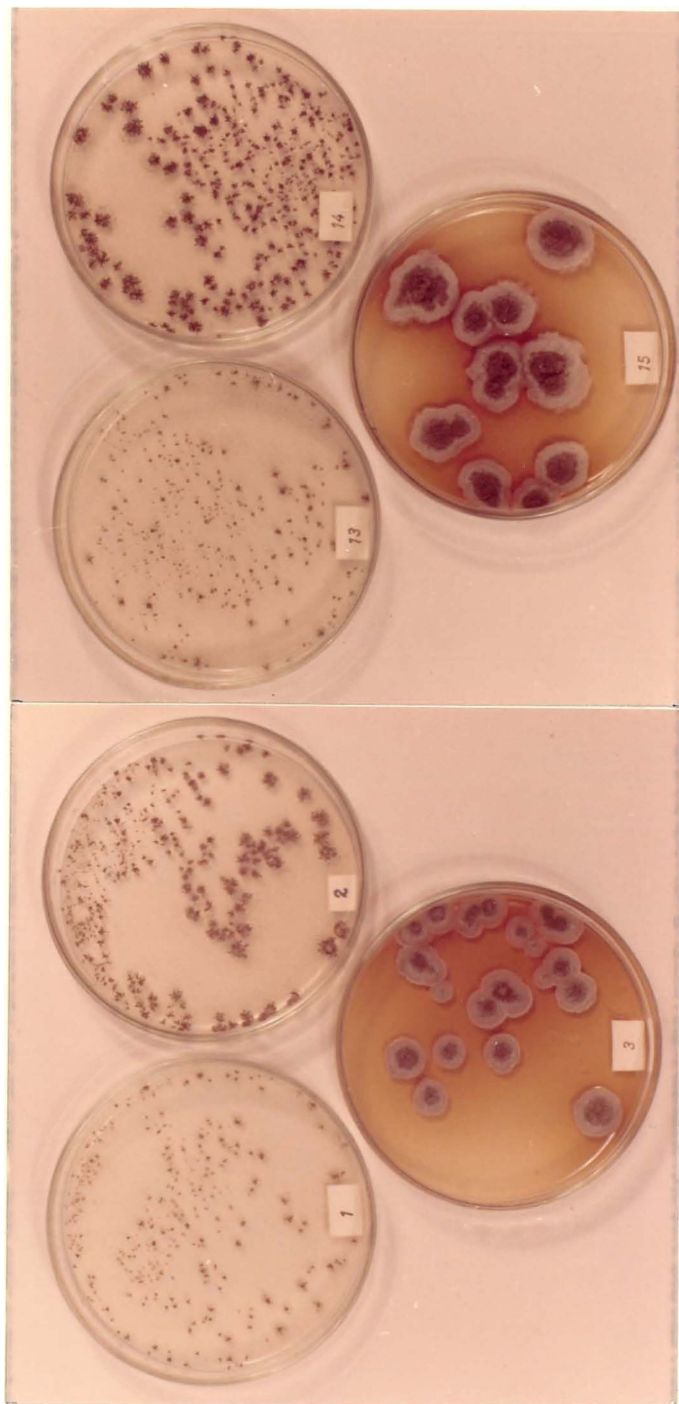


FIGURA 2 - Efeito do nível de glucose e nível de N fornecido pela caseína na reprodução e desenvolvimento micelial de *A. phaseolorum*. (1), (2) e (3) - 5 g de glucose/1 e (13), (14) e (15) - 10 g de glucose/1,e, respectivamente em cada série, 0.01, 0,1 e 2.0 g de N/1, isolado B-2.

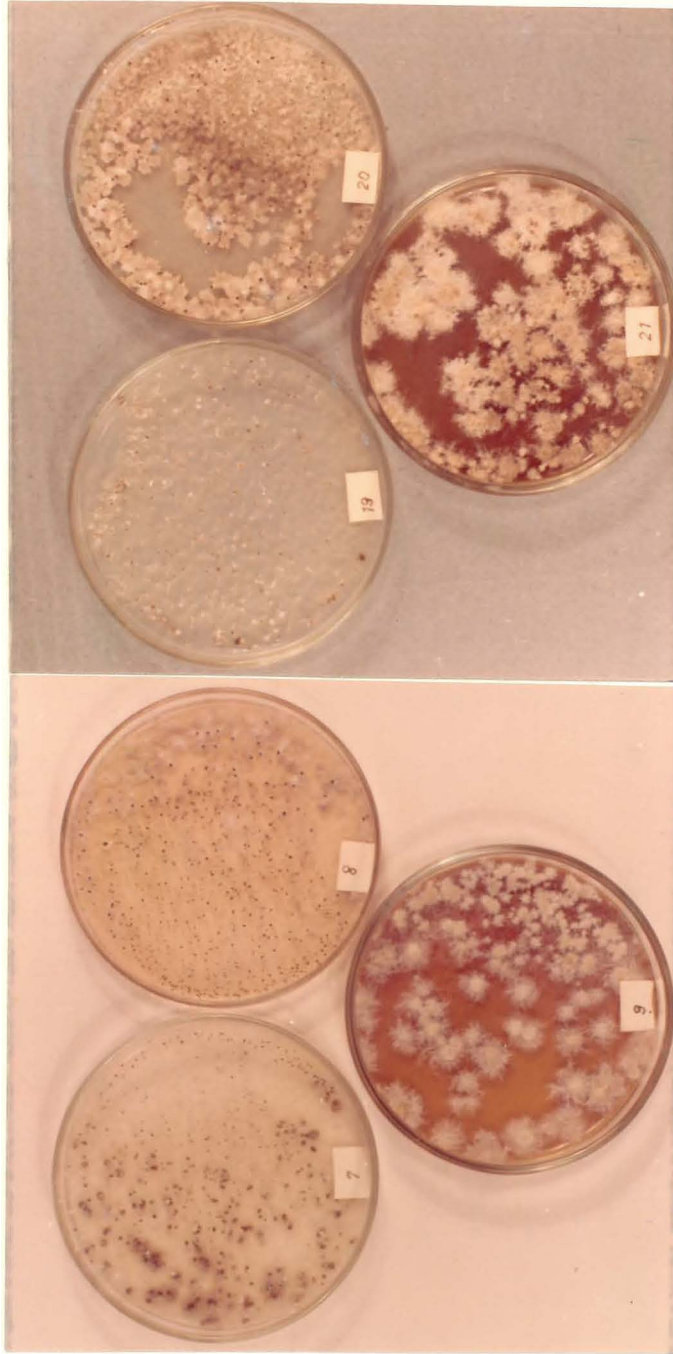


FIGURA 3 - Efeito do nível de glucose e nível de N fornecido pela caseína na reprodução e desenvolvimento micelial de *A. phaseolorum*. (7), (8) e (9) - 5 g de glucose /1 e (19), (20) e (21) - 10 g de glucose/1 e, respectivamente em cada série, 0,01, 0,1 e 2,0 g de N/1, isolado B-3.

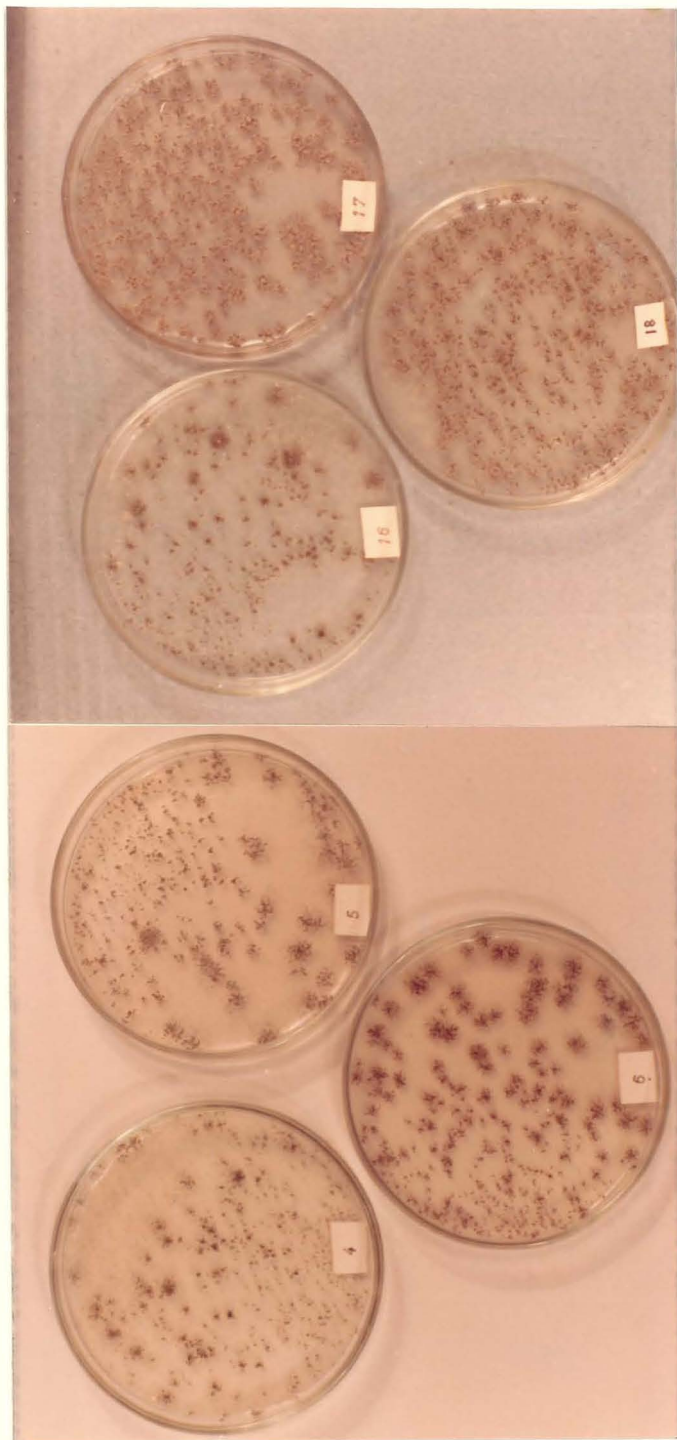


FIGURA 4 - Efeito do nível de glucose e nível de N fornecido pelo nitrate de sódio na reprodução e desenvolvimento micelial de *A. phaseolorum*. (4), (5) e (6) - 5 g de glucose/l e (16), (17) e (18) - 10 g de glucose/l e, respectivamente para cada série, 0,01, 0,1 e 2,0 f de N/l, i solado B-2.

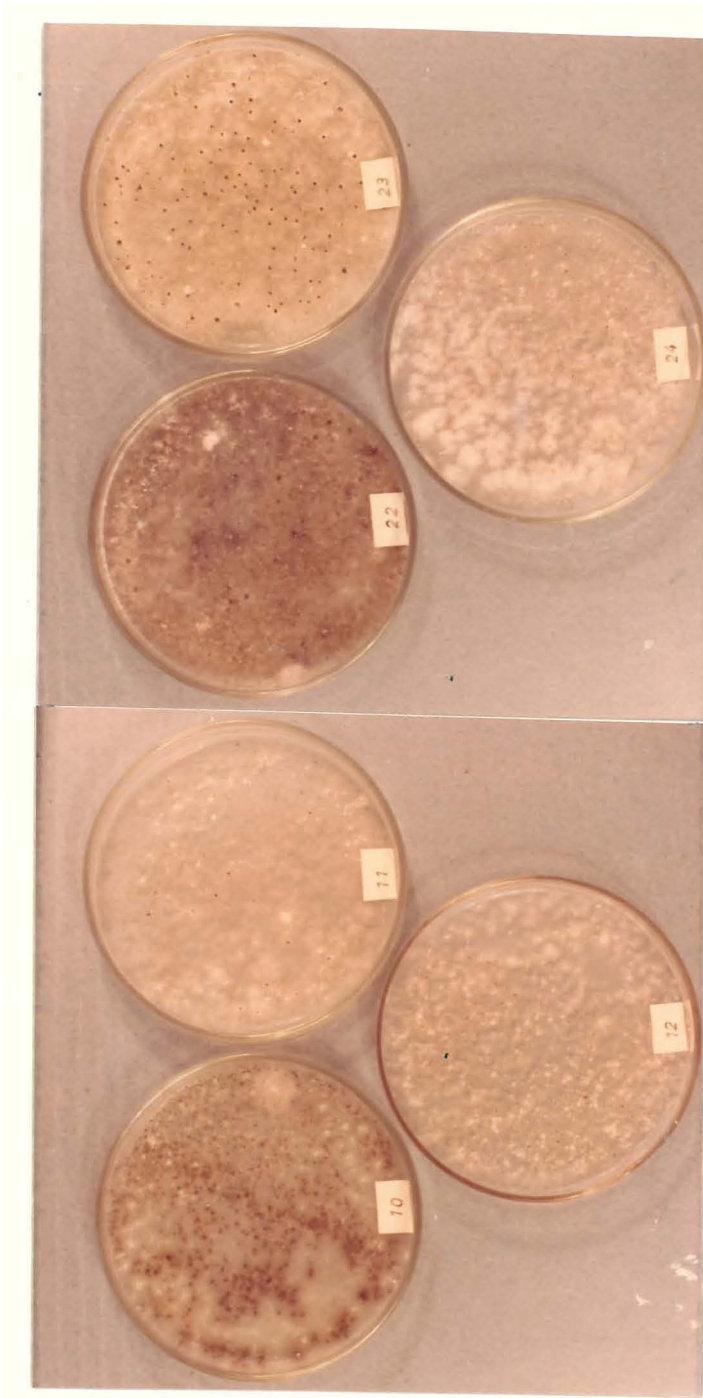


FIGURA 5 - Efeito do nível de glucose e nível de N fornecido pelo nitrato de sódio na reprodução e desenvolvimento micelial de *A. phaseolorum*. (10), (11) e (12) - 5 g de glucose/l e (22) (23) e (24) - 10 g de glucose/l e, respectivamente para cada série, 0,01, 0,1 e 2,0 f de N/l, isolado B-3.

4.2- Influência da luz e da presença do papel de filtro na superfície do meio sobre a reprodução de *A. phaseolorum* em três diferentes meios de cultura.

Os resultados do presente ensaio se encontram resumidos no Quadro 7 e, os dados originais e respectiva análise estatística, nos Quadros IX e X, do Apêndice.

QUADRO 7 - Influência das condições de luz e da sobreposição de papel de filtro na superfície do meio sobre a reprodução de *A. phaseolorum* (isolado B-2) em 3 meios de cultura. Jaboticabal, 1971.

Meio de Cultura	Papel	Número de picnídios/placa sob condições de		
		Luz Alternada	Luz Contínua	Escuro
Berinjela	com	343,0 ⁽¹⁾	152,0	83,0
	sem	760,0	369,0	488,0
Algodão	com	528,0	4,0	110,0
	sem	839,0	23,5	318,0
BDA	com	123,0	750,0	15,5
	sem	6,0	30,0	1,0

(1) - média de 2 placas

CV = 19,21 %

A análise da variância dos dados transformados (Quadro X), mostra que houve diferença altamente significativa para o efeito da presença de papel de filtro dentro do meio de Berinjela. Um exame dos resultados referentes a esse meio mostra que a ausência de papel de filtro sobre o meio proporcionou formação de maior número de picnídios do que com a presença de papel. A mesma análise da variância mostra que houve efeito altamente significativo das diferentes condições de luz nos tratamentos com papel de filtro sobre o meio e efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade para os tratamentos sem papel de filtro. O teste de Tukey, aplicado às médias, mostra que no meio de berinjela com papel de filtro, as melhores condições de luz foram as de luz alternada, sendo, as de luz contínua e escuro, semelhantes. Ainda, no mesmo meio sem papel, as melhores condições foram as de luz alternada, diferindo ao nível de 5% de probabilidade das condições de luz contínua; as condições de escuro foram intermediárias nesse aspecto, não diferindo estatisticamente nem das condições de luz alternada nem das de luz contínua.

No meio de Algodão, também, houve diferença altamente significativa para os efeitos da presença de papel de filtro colocado na superfície do meio, sendo que maiores quantidades de picnídios foram formados nos tratamentos sem papel de filtro. As condições de luz também exerceram influência altamente significativa dentro dos tratamentos com e sem papel de filtro. O teste de Tukey aplicado às médias mostra que, no meio de algodão, as condições de luz foram diferentes entre si, quanto à influência sobre a formação de picnídios, sendo mais favoráveis as de luz alternada, seguindo-se as de escuro e finalmente as de luz contínua, tanto sob as condições com ou sem papel de filtro.

No meio BDA, ainda, a mesma análise da variância (Quadro X), mostra que houve diferença altamente significativa para os efeitos da presença de papel de filtro na superfície do meio de cultura, sendo que a presença do papel de filtro resultou na

formação de maior número de picnídios. Quanto às condições de luz, pode-se ver pelo Quadro X, que houve efeito altamente significativo apenas para os diferentes tratamentos com papel de filtro nesse meio, sendo que entre os tratamentos sem papel de filtro, as diferenças não foram significativas ao nível de 5% de probabilidade. Aplicando-se o teste de Tukey para comparação das médias obtidas sob diferentes condições de luz nos tratamentos com papel de filtro sobre a superfície do meio BDA, tem-se que todas as condições de luz diferiram entre si quanto à influência na formação de picnídios, sendo as mais favoráveis, as de luz contínua, seguidas das de luz alternada e, finalmente, das de escuro.

Ainda, a análise da variância mostra que houve diferença altamente significativa para o efeito dos 3 diferentes meios de cultura testados. O teste de Tukey mostra que todos os três meios de cultura diferiram entre si, quanto à formação de picnídios, de um modo geral. O melhor meio de cultura foi o de berinjela, seguido do de algodão e, em terceiro, o BDA.

Além da contagem do número de picnídios, foram realizadas observações quanto à exsudação de conídios nos picnídios formados sob diferentes condições.

No meio de berinjela ocorreu exsudação de conídios sob as condições de luz alternada, quando foi colocado papel de filtro e, sob as condições de escuro com ou sem papel.

No meio de algodão, a exsudação de conídios foi observada sob as condições de luz alternada ou de escuro com ou sem papel de filtro.

No meio de BDA só ocorreu exsudação de conídios nos tratamentos com papel de filtro e sob as condições de luz alternada ou contínua.

4.3- Influência das condições de luz e do tipo de inóculo sobre a reprodução de *A. phaseolorum*.

Os resultados do presente ensaio se encontram sumariados no Quadro 8. Os dados originais e a análise estatística se encontram nos Quadros XI e XII do Apêndice.

QUADRO 8 - Influência das condições de luz e do tipo de inóculo utilizado sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolados B-2 e B-3. Jaboticabal, 1973.

Isolado	Inóculo	Número de picnídios/campo ⁽¹⁾ formados sob condições de		
		Luz Contínua	Luz Alternada	Escuro
B-2	micélio	107,73	103,33	67,73
	esporo	75,20	64,27	31,73
B-3	micélio	0,19	0,08	0,03
	esporo	6,73	6,63	0,30

(1) - média de 3 placas, cada placa representada pela média de contagem de 10 campos de microscópio estereocópico e expresso em picnídios por 84,91 mm², correspondente à área visual sob 20 aumentos.

CV = 6,17%

Observando-se os resultados da análise de variância (Quadro XII, Apêndice), pode-se verificar que houve diferença altamente significativa entre os 2 isolados estudados. O isolado B-2 produziu um número maior de picnídios do que o isolado B-3.

Para o isolado B-2, houve diferença altamente significativa para formação de picnídios, entre os efeitos do tipo de inóculo utilizado, sendo que houve formação de maior número de picnídios quando o inóculo utilizado foi na forma de disco de micélio do que na forma de suspensão de esporos. Dentro de cada tipo de inóculo, houve influência das condições de luz utilizadas. O teste de Tukey, aplicado para comparação das médias referentes à formação de picnídios sob diferentes condições de luz com a utilização de diferentes tipos de inóculo, mostra que houve formação de picnídios em maior número sob condições de luz contínua e alternada, sem diferenças entre si, do que sob condições de escuro, nesse isolado B-2, inoculado na placa na forma de disco de micélio; houve diferença estatística entre as médias de picnídios formados sob diferentes condições de luz quando o inóculo utilizado foi na forma de suspensão de esporos, tendo sido produzido em maior número sob condições de luz contínua, seguidas das condições de luz alternada e escuro, sendo, portanto, todas as três condições de luz diferentes entre si na influência sobre a formação de picnídios.

Para o isolado B-3, houve, também, diferença altamente significativa entre os efeitos dos diferentes tipos de inóculo utilizados. Para esse isolado, houve formação de maior número de picnídios quando o inóculo utilizado foi na forma de suspensão de esporos. Dentro de cada tipo de inóculo, houve influência das condições de luz, apenas, quando o inóculo utilizado foi na forma de suspensão de esporos, como se pode observar através da análise da variância (Quadro XII). Apli

cando-se o teste de Tukey, nesse caso, tem-se que houve formação de maior número de picnídios sob condições de luz contínua e alternada do que sob condições de escuro, não tendo sido detectadas diferenças entre os efeitos das condições de luz contínua e alternada.

Além das diferenças quantitativas expostas, houve, também, pronunciadas diferenças qualitativas entre os isolados B-2 e B-3, bem como, dentro de cada um dos isolados estudados.

Os picnídios do isolado B-2 eram menores, com tamanhos médios de $300 \times 289 \mu$, do que os do isolado B-3, com tamanhos médios de $583 \times 553 \mu$. Ainda, no isolado B-2 devido à formação de grande número de picnídios, a cultura se apresentou com coloração cinza escura, o que não ocorreu com o isolado B-3 (Figuras 6, 7 e 8).

Dentro do isolado B-2, quando o plaqueamento foi feito com suspensão de esporos, houve formação de grande número de picnídios distribuídos por toda a placa, com exsudação de conídios, sem quase se poder observar a presença de crescimento micelial. Quando o plaqueamento foi feito com discos de micélio, houve formação de crescimento micelial superficial, sendo que os picnídios se formaram, distribuindo-se radialmente, segundo o sentido do crescimento do micélio a partir do bloco de inóculo, situado no centro da placa. Esses picnídios se formaram submersos no meio de cultura e muito próximos uns dos outros, tornando muito difícil a realização da contagem (Figura 6).

Com o isolado B-3, também ocorreram algumas diferenças entre os tratamentos. Quando o plaqueamento foi feito com o uso de suspensão de esporos, houve formação de picnídios bem definidos, superficiais, esparsos, distribuídos pela placa toda, com exsudação de conídios, podendo-se observar, também, a presença de micélio aéreo de coloração esbranquiçada, bem como agrupamentos miceliais em alguns pontos. Quando o inóculo usado foi na forma de discos de micélio, sob as condições de luz contínua

e alternada, houve formação de picnídios numa faixa anular, distante do bloco de inóculo cerca de 2,0 a 2,5 cm, com largura de 0,5 a 0,8 cm; sob condições de escuro, não ocorreu essa distribuição em faixa anular, mas, sim, esparsos na placa e em pequeno número como se pode observar no Quadro de Resultados, bem como na Figura 7.



FIGURA 6 - Efeito das condições de luz e do tipo de inóculo sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B-2. (1), (5) e (9), inóculo na forma de disco de micélio e (2), (6) e (10), inóculo na forma de suspensão de esporos e, respectivamente para cada série, incubação sob condições de luz contínua, luz alternada e escuro.

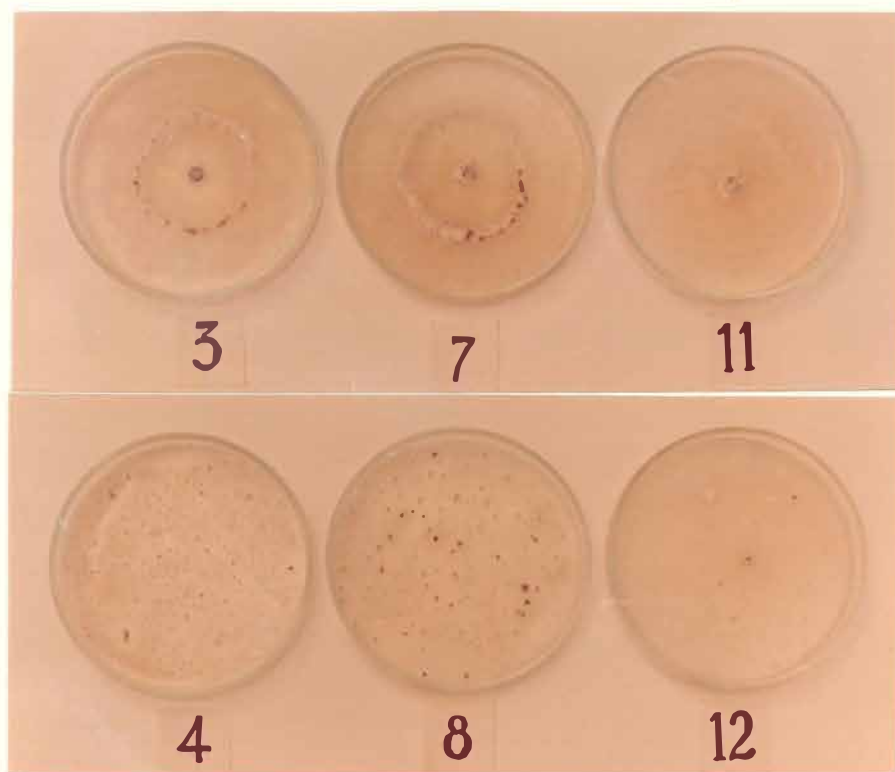


FIGURA 7 - Efeito das condições de luz e do tipo de inóculo sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B - 3. (3), (7) e (11), inóculo na forma de disco de micélio e (4), (8) e (12), inóculo na forma de suspensão de esporos e, respectivamente para cada série, incubação sob condições de luz contínua, luz alternada e escuro.

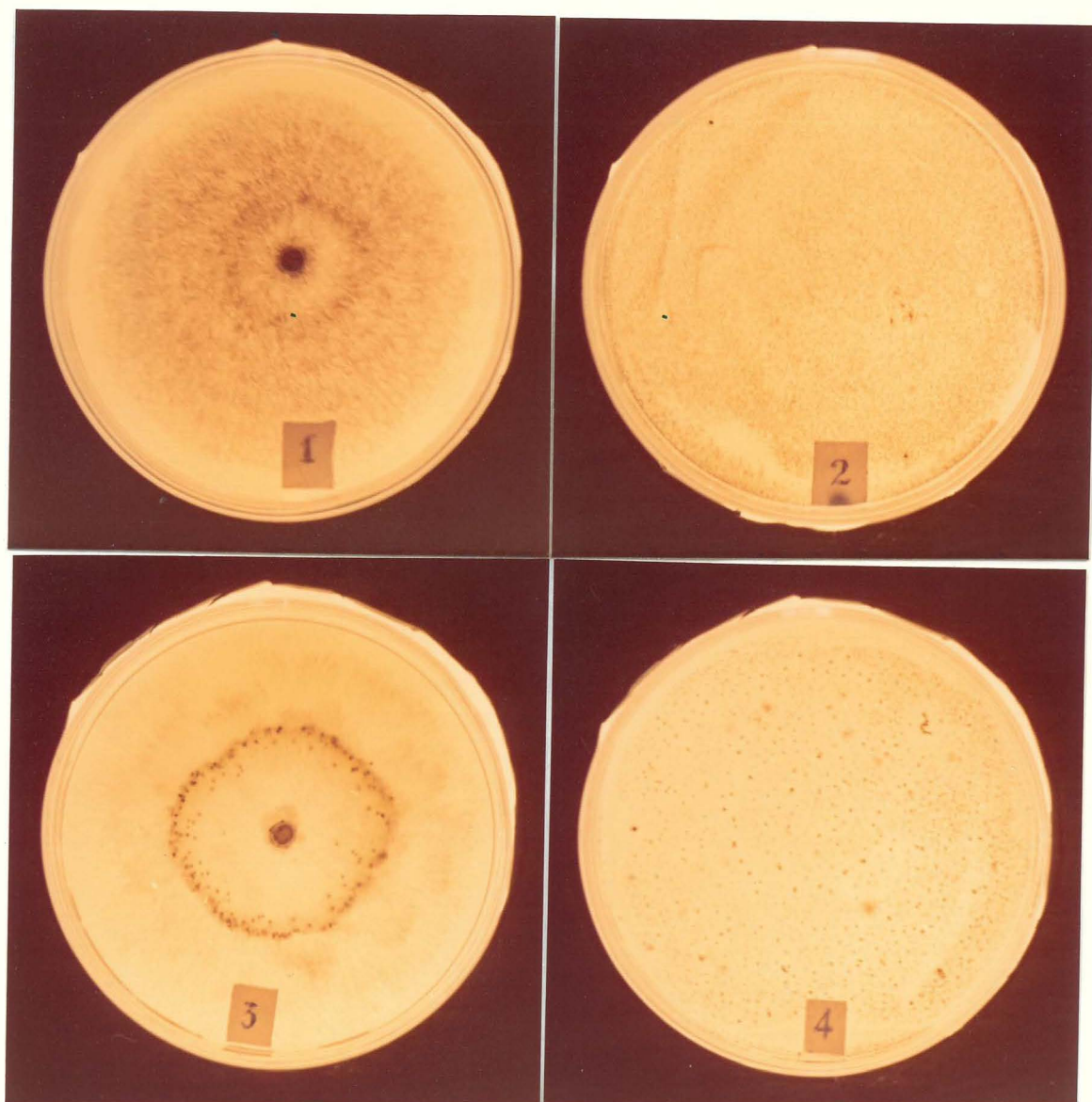


FIGURA 8 - Efeito do tipo de inóculo sobre a reprodução e desenvolvimento micelial de *A. phaseolorum*, vista sob luz transmitida. (1) e (3), inóculo na forma de disco de micélio e (2) e (4), na forma de suspensão de esporos, respectivamente para cada série, isolado B-2 e B-3.

4.4- Influência da irradiação e das condições de luz sobre a reprodução de *A. phaseolorum* em três meios de cultura.

Os resultados do presente ensaio se encontram nos Quadros 9 e 10, resumidamente, sendo que os dados originais e a respectiva análise da variância se encontram nos Quadros XIII, XIV, XV e XVI do Apêndice.

QUADRO 9 - Influência da irradiação e das condições de luz durante a incubação sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B-2. Jaboticabal, 1971

Irradiação com luz UV, tempo em segundos	Incubação condições de luz	Média de notas ⁽¹⁾ atribuídas às placas segundo a formação de picnídios nos meios		
		G5Ni0,2	BDA	MPA
0	Escuro	1,0	2,5	1,0
	Alternada	1,0	1,0	1,0
	Contínua	2,0	2,5	3,5
10	Escuro	2,0	3,0	3,0
	Alternada	2,0	3,0	3,0
	Contínua	3,5	3,0	4,0
30	Escuro	1,0	3,0	3,0
	Alternada	2,0	2,0	3,0
	Contínua	4,0	3,0	4,0
60	Escuro	1,0	4,0	3,0
	Alternada	1,0	2,0	3,5
	Contínua	3,5	2,0	4,0

(1) - média de 2 placas.

CV = 5,36%

Observando-se o Quadro XIV, do Apêndice, verifica-se pela análise da variância, que houve diferença altamente significativa para os efeitos da irradiação quando se utilizou o meio G5Ni0,2. Aplicando-se o teste de Tukey para comparação das médias, tem-se que em todos os tratamentos com irradiação, houve formação de maior número de picnídios e, entre os tratamentos com irradiação, os com 10 e 30 seg. não diferiram entre si, tendo sido superiores ao tratamento com 60 seg. de irradiação. A análise da variância, ainda mostra que houve influência das condições de luz dentro dos diferentes tratamentos quando à irradiação. Aplicando-se o teste de Tukey para comparação das médias dentro desses tratamentos, tem-se que no meio de G5Ni0,2, em todos os tratamentos quanto à irradiação, houve formação de mais picnídios sob condições de luz contínua. Sob condições de luz alternada e escuro não houve diferenças entre si, exceto dentro dos tratamentos com 30 seg. de irradiação, em que no tratamento sob escuro, houve formação de menor número de picnídios.

Para os diferentes tratamentos com a utilização do meio BDA, também houve segundo a análise de variância, diferença altamente significativa para os efeitos da irradiação. Aplicando-se o teste de Tukey para comparação das médias dos diferentes tratamentos segundo à irradiação, tem-se que não houve diferença na formação de picnídios entre os tratamentos irradiados com 10, 30 ou 60 seg., mas todos eles induziram a formação de maior número de picnídios do que o tratamento sem irradiação.

Ainda a análise da variância mostra que houve influência da luz dentro dos tratamentos sem irradiação e dentro dos irradiados com 30 e 60 seg.. O efeito do tratamento com 10 seg. de irradiação não foi influenciado pelas condições de incubação quanto à luz. Com a aplicação do teste de Tukey, verifica-se que dentro dos tratamentos sem irradiação e com 30 seg. de irradiação, as melhores condições para formação de picnídios foram as de luz alternada e de escuro contínuo, igualmente eficien

tes. Já para os tratamentos com 60 seg. de irradiação as melhores condições foram as de escuro contínuo, tendo as de luz alternada e contínua se comportado de modo semelhante entre si.

No meio MPA, também houve diferença altamente significativa para os efeitos da irradiação (Quadro XIV), bem como para os efeitos das condições de luz dentro de cada grupo desses tratamentos. O teste de Tukey aplicado para a comparação das médias dos tratamentos referentes à irradiação mostra que todos os tratamentos com irradiação foram melhores que os sem irradiação na indução à formação de picnídios. A influência das condições de luz dentro dos tratamentos quanto à irradiação foi estudada, sendo aplicado o teste de Tukey, que mostra que, exceto nos tratamentos com 60 seg. de irradiação, as condições mais favoráveis de luz para indução à formação de picnídios foram as de luz contínua. Nos tratamentos com 60 seg. de irradiação as condições de luz contínua foram superiores às de escuro contínuo, sendo as de luz alternada semelhantes às de luz contínua ou de escuro.

Ainda, a análise da variância mostra que houve diferença altamente significativa entre os diferentes meios de cultura quanto à formação de picnídios pelo isolado de *A. phaseolorum* estudado.

O teste de Tukey, aplicado para comparação das médias de picnídios obtidos nos diferentes meios de cultura, mostra que todos os três meios diferiram entre si, tendo-se obtido maior número de picnídios em MPA, seguido de BOA e, finalmente, G5 NiO,2.

QUADRO 10 - Influência da irradiação e das condições de luz durante a incubação sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B-2. Jaboticabal, 1971.

Irradiação com luz UV, tempo em segundos	Incubação condições de luz	Média de notas ⁽¹⁾ atribuídas às placas segundo a exsudação de conídios dos picnídios nos meios de		
		G5Ni0,2	BDA	MPA
0	Escuro	1,0	1,0	1,0
	Alternada	1,0	1,0	1,0
	Contínua	2,0	1,0	1,0
10	Escuro	1,0	1,0	2,0
	Alternada	1,0	1,0	1,0
	Contínua	2,0	1,0	1,0
30	Escuro	1,5	2,0	2,0
	Alternada	1,0	1,0	1,0
	Contínua	3,0	1,5	1,5
60	Escuro	1,0	2,0	1,5
	Alternada	1,0	1,0	1,0
	Contínua	2,5	1,0	2,5

(1) - média de 2 placas

CV = 9,67%

A análise da variância (Quadro XVI) mostra que, para o meio G5Ni0,2 houve diferença significativa ao nível de 5% para o efeito da irradiação e diferença altamente significativa para os efeitos das diferentes condições de luz durante a incubação, em relação à exsudação de conídios. Não houve significância para a interação entre os efeitos da irradiação e das condições de luz. Aplicando-se o teste de Tukey para comparação das médias dos diferentes tratamentos referentes à irradiação, tem-se que houve diferença apenas entre os tratamentos com 30 seg. de irradiação comparados com os de 10 seg. ou sem irradiação, tendo os demais tratamentos se comportado de maneira semelhante, isto é, 30 seg. de irradiação foi semelhante a 60 seg., este, por sua vez, não diferiu de 10 seg. ou sem irradiação.

Quanto à influência da luz, o teste de Tukey mostra que as melhores condições de luz para a exsudação de conídios foram as de luz contínua, tendo as condições de luz alternada e escuro se comportado de modo semelhante.

Para o meio BDA, a análise da variância (Quadro XVI) mostra que houve diferença altamente significativa para os efeitos da irradiação. Aplicando o teste de Tukey para comparação das médias, tem-se que houve diferenças apenas entre os tratamentos com 30 seg. de irradiação e com 10 seg. ou sem irradiação, sendo que não houve diferenças entre os tratamentos com 30 e 60 seg. de irradiação, nem entre 60 e 10 seg. ou sem irradiação, para a exsudação de conídios.

Quanto à influência da luz, para o meio BDA, a análise da variância (Quadro XVI) mostra que não houve efeito das condições de luz dentro dos tratamentos com 10 seg. ou sem irradiação, mas, que houve diferença altamente significativa dentro dos tratamentos com 30 e com 60 seg. de irradiação. O teste de Tukey, aplicado para esses últimos casos mostra que dentro dos tratamentos com 30 seg. de irradiação, as condições de escuro foram mais favoráveis à exsudação de conídios do que as de luz al

ternada, tendo se comportado de maneira semelhante as condições de escuro e luz contínua, bem como as condições de luz contínua e alternada. Dentro dos tratamentos com 60 seg. de irradiação, as condições de escuro contínuo foram mais favoráveis do que as de luz contínua e de alternada, as quais não diferiram entre si.

Para o meio MPA, a análise da variância (Quadro XVI) mostra que houve diferença altamente significativa para os efeitos da irradiação no aspecto referente à exsudação de conídios. Aplicando-se o teste de Tukey, tem-se que os tratamentos com 60 e 30 seg. de irradiação foram mais favoráveis à exsudação de conídios do que os tratamentos sem irradiação e que os tratamentos com 60, 30 ou 10 seg. de irradiação não diferiram entre si, sendo que os tratamentos com 10 seg. de irradiação não diferiram dos tratamentos sem irradiação. Quanto à influência da luz, ainda a análise da variância (Quadro XVI) mostra que houve diferença dentro dos tratamentos com irradiação, isto é, que as condições de luz devem ter influenciado o efeito da irradiação na exsudação de conídios. O teste de Tukey, aplicado às médias obtidas dentro de cada tipo de tratamento quanto à irradiação, mostra que, dentro de 10 seg. de irradiação, as condições de escuro contínuo foram mais favoráveis do que as de luz contínua ou de luz alternada. Dentro de 30 seg. de irradiação, as condições de escuro contínuo foram mais favoráveis do que as de luz alternada, mas foram semelhantes às de luz contínua, que, por sua vez, não diferiram das de escuro contínuo. Dentro dos tratamentos com 60 seg. de irradiação, as condições de luz contínua foram mais favoráveis do que as de escuro contínuo e de luz alternada, as quais não diferiram entre si, quanto à exsudação de conídios.

Ainda a análise da variância dos dados (Quadro XVI, Apêndice) mostra que houve diferença altamente significativa entre os diferentes meios de cultura utilizados. Aplicando-se o teste de Tukey para comparação de médias, tem-se que o meio G5 Ni0,2 foi superior ao meio BDA, que, por sua vez, foi semelhante

ao meio de MPA e este não diferiu do meio G5Ni0,2, sendo, portanto intermediário, quanto à exsudação de conídios.

4.5- Influência da reação hidrogeniônica do meio de cultura sobre o crescimento micelial e reprodução de *A. phaseolorum*.

Como foi exposto sob o item 3.2.5, foram montados 2 ensaios, um para o estudo da influência da reação do meio (pH) sobre o crescimento micelial e outro para o estudo da influência desse fator sobre a reprodução.

4.5.1- Influência sobre o crescimento micelial.

Os resultados do presente ensaio são apresentados graficamente na Figura 9. Os dados originais, bem como a respectiva análise da variância se encontram nos Quadros XVII e XVIII, A pêndice.

A observação do Quadro XVIII mostra que não houve diferença estatística entre os efeitos dos diferentes níveis de pH do meio. Entretanto, se se confeccionar um gráfico relacionando os dados do peso de micélio com os diferentes valores de pH do meio, podemos obter a curva (Figura 9) com aspecto bimodal, mostrando que ocorreu crescimento micelial mais abundante em pH 5,0 e 6,0 - 7,0.

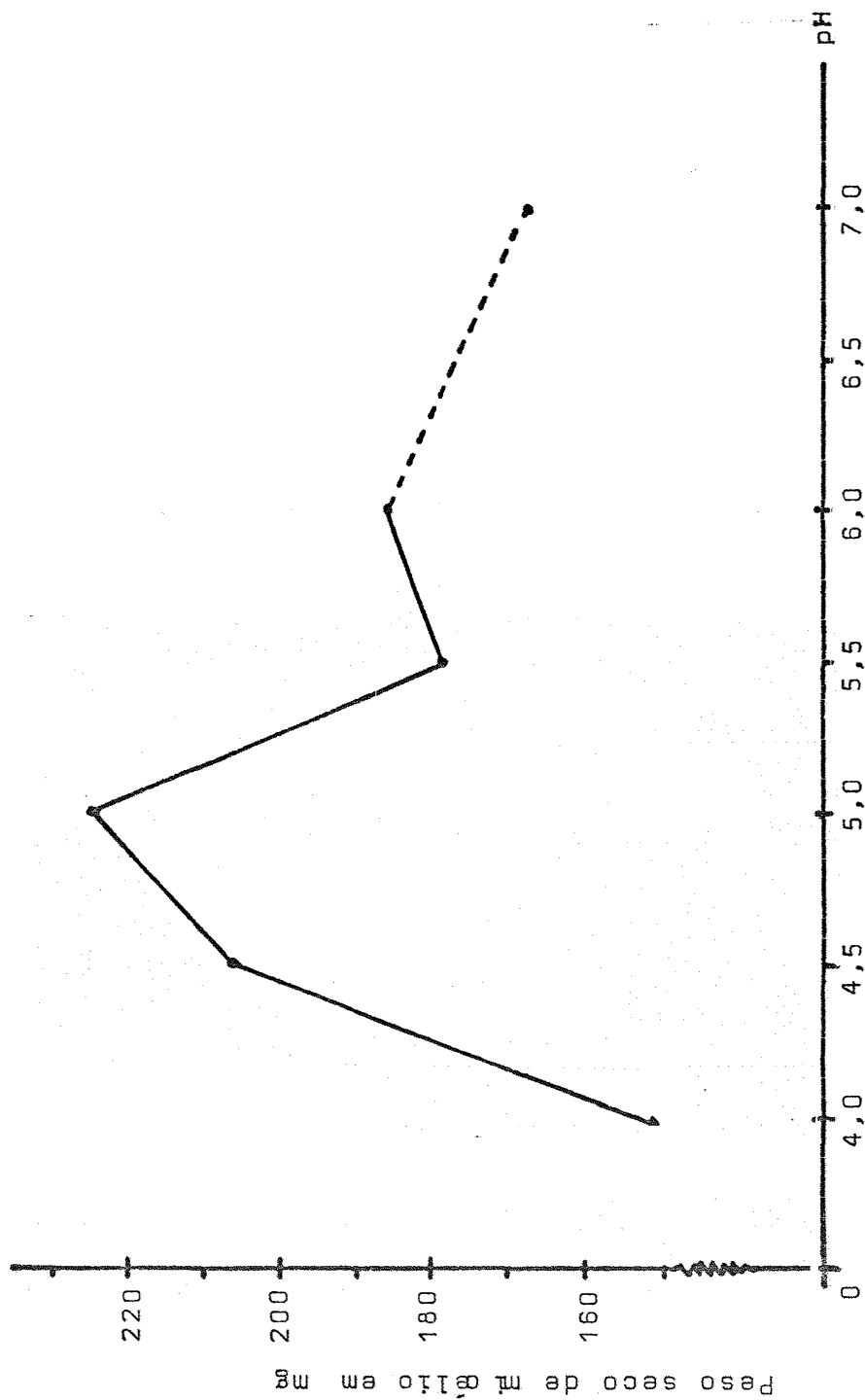


FIGURA 9 - Curva de desenvolvimento micelial de *A. phaseolorum* em meio de BD com diferentes valores de pH.

4.5.2- Influência sobre a reprodução.

Os resultados do presente ensaio se encontram apresentados graficamente, através da Figura 10. Os dados originais, bem como, sua respectiva análise da variância se encontram nos Quadros XIX e XX, do Apêndice.

A análise da variância dos resultados obtidos, contida no Quadro XX, mostra que houve diferença altamente significativa para efeitos dos diferentes níveis de pH.

A aplicação do teste de Tukey, para comparação das médias, mostra que as médias obtidas no tratamento com pH 8,0 foram menores que as obtidas nos tratamentos com pH 4,0, 6,0, 5,5, 5,0 e 6,5; as obtidas no tratamento com pH 7,5 foram menores do que as dos tratamentos com pH 4,0, 6,0, 5,5 e 5,0; as obtidas no tratamento com pH 3,5 foram menores do que as dos tratamentos com pH 4,0, 6,0 e 5,5; as demais médias não diferiram entre si, ao nível de 5% de probabilidade. Portanto, os níveis de pH do meio de G5Ni0,1 mais favoráveis à formação de picnídios foram 4,0, 5,5 e 6,0 que não diferiram dos níveis 5,0, 6,5, 7,0 e 4,5.

Além da contagem do número de picnídios formados, foram feitas, também, observações sobre o tamanho desses picnídios. Houve uma tendência para formação de picnídios menores nos níveis de pH mais baixos e de picnídios maiores nos valores de pH mais elevados. Assim, no nível de pH 3,5, os picnídios eram muito pequenos com tendência a formar agrupamentos; no nível de pH 4,0, os picnídios eram pequenos a médios; nos níveis 4,5, 5,0 e 5,5, médios; nos níveis 6,0 e 6,5, médios a grandes e, nos níveis 7,0, 7,5 e 8,0, grandes. Nos casos de picnídios muito pequenos (pH 3,5), além da tendência em formar agrupamentos, os picnídios não apresentavam formato típico, ao passo que, nos casos de picnídios maiores (pH 7,0, 7,5 e 8,0), estes se apresentavam bem formados, com rosto e de cor preta.

A influência do pH do meio sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, observada no presente ensaio, pode ser ilustrado pela Figura 10.

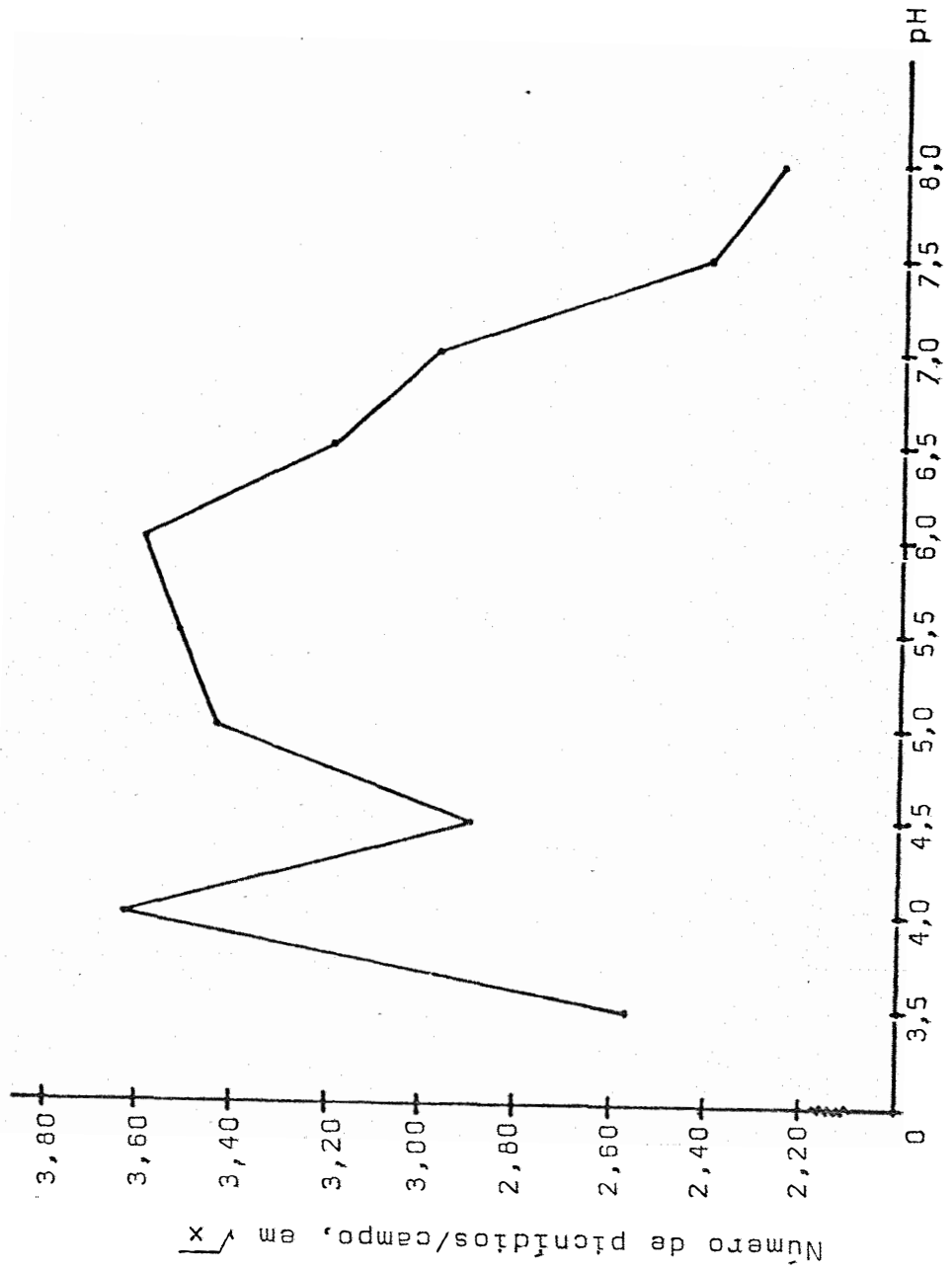


FIGURA 10 - Curva de produção de picnídios de *A. phaseolorum* em meio de cultura com diferentes valores de pH. Dados expressos em \sqrt{x} , onde x representa número de picnídios/campo microscópico sob 64 aumentos.

4.6- Patogenicidade de isolados de *A. phaseolorum* e de *P. vexans* sobre alguns hospedeiros.

Os resultados dos reisolamentos dos fungos inoculados se encontram no Quadro 11.

QUADRO 11 - Reisolamento dos fungos inoculados por pulverização com suspensão de esporos. Jaboticabal, 1974.

Plantas	Reisolamento obtido de plantas inoculadas com os isolados ⁽¹⁾ .			
	B-2 ⁽²⁾	B-3	B-3F	Pv
Ber. Híbrida	+	+	+	+
Ber. Embu	+	+	+	+
Algodoeiro	-	-	-	-
Pimentão	-	-	+	-
Tomateiro	+	+	-	-
Feijoeiro vagem	-	-	-	-
Quiabeiro	-	+	+	-

(1) - o sinal (+) indica reisolamento positivo, isto é, ocorreu formação de picnídios no meio de cultura e o sinal (-) indica reisolamento negativo, isto é, não ocorreu formação de picnídios no meio de cultura.

(2) - os isolados B-2, B-3 e B-3F são de *A. phaseolorum* e Pv de *P. vexans*.

Observando-se o Quadro 11, verifica-se que *P. vexans* foi patogênico só às 2 variedades de berinjela, ao passo que os

diferentes isolados de *A. phaseolorum* foram reisolados também de outras plantas, variáveis conforme o isolado: B-2 de tomateiro, B-3 de tomateiro e quiabeiro e B-3F de pimentão e quiabeiro, além das 2 variedades de berinjela.

Os sintomas apresentados pelas plantas, das quais foi conseguido reisolamento positivo são descritos em seguida.

Plantas de berinjela da variedade Híbrida Piracicaba F₁ - 100 apresentaram sintomas diferentes conforme o isolado.

a) inoculadas com o isolado B-2: necroses de forma irregular acompanhando a nervura e abrangendo parte do limbo foliar; lesão necrótica circular de cor parda atingindo desde 1 mm até 5 cm de diâmetro nas folhas mais novas; queda de folhas; lesão escura circundando a haste, na altura do colo da planta.

b) inoculadas com os isolados B-3 e B-3F: necroses de forma irregular em extensas áreas do limbo foliar acompanhando as nervuras, com até 5 cm de comprimento; lesões circulares claras com 1 cm de diâmetro, com picnídios; lesões necróticas circulares com 2-3 mm numerosas e coalescentes, mais numerosas do que quando inoculadas com B-2 e, mostrando, aparentemente, que B-3 foi mais patogênico que B-2 para a variedade Híbrida.

c) inoculadas com Pv: pontos necróticos, menores que na variedade Embu, nas folhas mais novas; necrose nos bordos da folha; não ocorreu lesão na haste.

Os sintomas apresentados pela variedade Embu, também, variaram muito e foram:

a) inoculadas com o isolado B-2: necrose nas nervuras, queda de folhas, seca da parte apical.

b) inoculadas com os isolados B-3 e B-3F: além dos sintomas citados em (a), ainda apareceram numerosas lesões circulares com 2-3 mm de diâmetro, pardas, coalescentes; nas folhas mais velhas, áreas necróticas irregulares abrangendo grande parte do limbo foliar; lesões escuras na haste, circundando-a e provocando morte das folhas próximas do local da lesão. Aparentemente, o isolado

B-3 mostrou-se mais patogênico que B-2 para a variedade Embu.

c) inoculada com *P. vexans*: necrose das nervuras com 2 - 3 cm de comprimento; numerosas lesões necróticas pardas ou acinzentadas, circulares, nas folhas mais novas, que tendem a coalescer-se; le são necrótica na haste. *P. vexans* mostrou-se, aparentemente, mais patogênico à variedade Embu do que à Híbrida.

No pimentão, inoculado com o isolado B-3F, ocorreram nas folhas numerosos pontos necróticos com coloração marron.

Os sintomas do tomateiro inoculado com B-2 e B-3 fo ram necrose nas nervuras dos folíolos mais novos, seguida por crestamento desses folíolos. Em uma planta inoculada com B-2 ocorreu morte (seca) da gema apical.

Em quiabeiro, inoculado com B-3 e B-3F, ocorreram, nas folhas, pequenas lesões circulares, com 2 - 3 mm de diâmetro, com halo translúcido.

As plantas testemunhas não apresentaram os sintomas citados.

Para o algodoeiro e feijoeiro vagem, não foi conse guido reisolamento positivo.

4.7- Reação das variedades Embu e Híbrida Piracicaba F₁ - 100 aos isolados B-2 e B-3 de *A. phaseolorum* e ao isolado Pv de *P. vexans*.

Os resultados obtidos no presente ensaio se encontram nos Quadros 12 e 13, respectivamente, referentes à inoculação por pulverização e por injeção de suspensão de esporos. Os dados originais e respectivas análises de variância se encontram nos Quadros XXI a XXIV, do Apêndice.

QUADRO 12 - Reação de 2 variedades de Berinjela a 2 isolados de *A. phaseolorum* e a um isolado de *P. vexans*, inoculadas por pulverização de suspensão de esporos. Jaboticabal, 1974.

Isolado	Índice de doença ⁽¹⁾ nas variedades					
	Embu		Híbrida		Média	
	Nota (x)	\sqrt{x}	Nota (x)	\sqrt{x}	Nota (x)	\sqrt{x}
Pv	1,75	1,31 b	0,75	0,86	1,25	1,08 a
B-2	0,92	0,95 c	0,58	0,76	0,75	0,86 b
B-3	2,75	1,64 a	0,67	0,82	1,72	3,23 a
Test.	0,50	-	0,50	-	0,50	-
dms a 5%		0,31		0,31		0,22

(1) - média de 3 vasos, cada vaso com 2 plantas consideradas na avaliação, segundo escala contida no Quadro 2.

CV = 14,96%

A análise da variância (Quadro XXII) dos dados referentes aos índices de doença, obtidos pelo método da inoculação por pulverização, mostra que houve diferença altamente significativa para o efeito dos isolados. O teste de Tukey, considerando-se as variedades Embu e Híbrida, mostra que os índices obtidos com os isolados B-3 e Pv foram semelhantes entre si e maiores do que os obtidos com o isolado B-2. Entretanto, o teste de Tukey aplicado às médias dentro de cada variedade, mostra que dentro da variedade Embu, os 3 isolados diferiram em patogenicidade sendo o mais patogênico, o isolado B-3, seguido do Pv e, finalmente, o menos patogênico, o isolado B-2. Dentro da variedade Híbrida, os 3 isolados se comportaram de modo semelhante.

A mesma análise da variância (Quadro XXII), ainda mostra que houve diferença altamente significativa no comportamento das variedades quando inoculadas com os isolados Pv e B-3. Nesses casos, os maiores índices de doença foram obtidos na variedade Embu. Quando o isolado inoculado foi B-2, não houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre as variedades.

A análise da variância, também, mostrou que houve diferença altamente significativa entre os tratamentos inoculados e não inoculados, como era de se esperar.

QUADRO 13 - Reação de 2 variedades de Berinjela a 2 isolados de *A. phaseolorum* e a um isolado de *P. vexans*, inoculados por injeção de suspensão de esporos. Jaboticabal, 1974.

Isolado	Índice de doença ⁽¹⁾ nas variedades					
	Embu		Híbrida		Média	
	Nota (x)	\sqrt{x}	Nota (x)	\sqrt{x}	Nota (x)	\sqrt{x}
Pv	0,92	0,91 b	0,58	0,76 b	0,75	0,84b
B-2	1,92	1,34 b	2,50	1,57 a	2,21	1,46a
B-3	3,67	1,91 a	2,08	1,42 a	2,88	1,67a
Test.	0,50	-	0,50	-	0,50	-
dms a 5%		0,49		0,49		0,34

(1) - média de 3 vasos, cada vaso com 2 plantas consideradas na avaliação, segundo escala contida no Quadro 3.

CV = 19,72%

A análise da variância das notas atribuídas aos diversos tratamentos (Quadro XXIV) mostra que houve diferença altamente significativa para os efeitos da inoculação com os diversos isolados. O teste de Tukey mostra que, de um modo geral, considerando-se as 2 variedades em conjunto, os isolados B-3 e B-2 de *A. phaseolorum* foram semelhantes entre si e mais patogênico do que Pv de *P. vexans*. Entretanto, o teste de Tukey, aplicado às médias dentro de cada variedade, mostra que, dentro da variedade Embu, apenas o isolado B-3 diferiu dos demais, sendo mais patogênico que B-2 e Pv. Na variedade Híbrida, os isolados B-2 e B-3 não diferiram entre si e foram mais patogênicos do que Pv.

Ainda a análise da variância (Quadro XXIV) mostra que houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre o comportamento das variedades Embu e Híbrida, quando inoculadas com o isolado B-3, tendo sido obtidos índices de doença mais alto na variedade Embu. Não houve diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade entre o comportamento das 2 variedades, quando inoculadas com os isolados B-2 e Pv.

Finalmente, a mesma análise da variância mostra que houve diferença altamente significativa entre os índices de doenças obtidos nos tratamentos inoculados e não inoculados, como era de se esperar.

Além da atribuição de notas às reações das variedades, foram feitas, também, observações sobre os tipos de sintomas apresentados, que se encontram ilustrados pelas Figuras 11 e 12.

As reações das duas variedades foram diferentes, conforme o isolado do fungo quando inoculado pelo método de pulverização de suspensão de esporos.

Na variedade Embu, inoculada com o isolado B-3, os sintomas observados foram os seguintes: lesões circulares de 3 a 6 mm de diâmetro, cinza escuras, que posteriormente se desenvolveram para lesões irregulares, alongadas, acompanhando as nervuras, atingindo comprimento de até 7 cm, afetando extensas áreas foliares. Com a coalescência de várias lesões ocorreu crestamento foliar. Ocorreu, também, com muita frequência a seca de ponteiros. Essa mesma variedade Embu, quando inoculada com o isolado B-2, apresentou os seguintes sintomas: lesões irregulares, de cor cinza no limbo ou lesões alongadas, acompanhando as nervuras com 1 a 4 cm de comprimento. Com a inoculação do isolado Pv de *P. vexans*, a variedade Embu apresentou os seguintes sintomas: lesões grosseiramente circulares e lesões alongadas, acompanhando a nervura foliar, com 3 - 6 cm de comprimento, sendo ambos os tipos de lesões de coloração cinzenta.



FIGURA 11 - Reação da variedade Embu aos isolados B-2 e B-3 de *A. phaseolorum* e PV de *P. vexans*, inoculada por pulverização de suspensão de esporos.



FIGURA 12 - Reação das variedades Embu e Híbrida Piracicaba F₁-100 aos isolados B-2 e B-3 de *A. phaseolorum* inoculadas por injeção de suspensão de esporos.

A variedade Híbrida apresentou, nas folhas, sintomas na forma de pontos necróticos no limbo, numerosos, quando inoculada com o isolado B-2 de *A. phaseolorum* e, raros quando inoculada com o isolado Pv de *P. vexans*. Quando inoculada com o isolado B-3 de *A. phaseolorum*, a variedade Híbrida apresentou, além do sintoma constituído por pontos necróticos, lesões irregulares, cinzentas com dimensões ao redor de 5 x 7 mm.

Em resumo, os tipos e tamanhos das lesões observadas mostram que, aparentemente, o isolado B-3 de *A. phaseolorum* foi mais patogênico que o isolado B-2 do mesmo fungo, ou o isolado Pv de *P. vexans*, em ambas as variedades. Entre as duas variedades, a Híbrida mostrou-se mais resistente que a Embu quando inoculada com qualquer um dos três isolados estudados.

Quando a inoculação foi feita pelo método da injeção de suspensão de esporos na haste, as duas variedades apresentaram reações diferentes conforme o isolado inoculado.

A variedade Embu, quando inoculada com os isolados B-2 ou B-3 de *A. phaseolorum*, apresentou lesões envoltivas na haste, com contornos bem definidos, e, deprimidas, causando amarelamento e queda de folhas inseridas logo acima da lesão. Com o isolado B-3, as lesões apresentavam bordos escuros, centro mais claro, com 2,0 a 8,0 cm de comprimento e abrangendo de metade a toda a circunferência da haste, enquanto que, com o isolado B-2, as lesões se apresentavam escuras, mais ou menos uniformemente, com 0,5 a 4,5 cm de comprimento e abrangendo até a metade da circunferência da haste. Essa mesma variedade, quando inoculada com isolado Pv de *P. vexans*, apresentou cicatrização do tecido no ponto de inoculação, com exceção de uma planta que apresentou uma lesão de cerca de 1,8 cm de comprimento por 1,5 cm de largura sem contornos bem definidos, com centro claro e bordos escuros. A variedade Híbrida, quando inoculada com os isolados B-2 ou B-3 de *A. phaseolorum* apresentou lesões envoltivas abrangendo de 1/4 a 1/2 circunferência da haste, sem contornos bem definidos, de

primidas, de cor pardo-clara, variando de 0,7 a 1,5 cm de comprimento, quando inoculada com o isolado B-2 e de 0,5 a 2,5 cm de comprimento, com o isolado B-3. Quando inoculada com o isolado Pv de *P. vexans*, as plantas dessa variedade Híbrida apresentaram cicatrização dos tecidos no ponto de inoculação.

Aparentemente, o isolado B-3 se apresentou mais patogênico do que o isolado B-2 e este, por sua vez, mais do que o isolado Pv de *P. vexans*. Quanto à reação das duas variedades, a Embu se mostrou mais suscetível do que a Híbrida ao isolado B-3 de *A. phaseolorum*.

5 - DISCUSSÃO

O fato de se ter observado influência do teor de glucose sobre a formação de picnídios só com o sulfato de amônio como fonte de nitrogênio, num dos isolados, sugere a participação de alguma substância formada mais adequadamente nesse meio de cultura e, aparentemente, teores adequados dessa substância devem estar presentes no momento exato em que ocorre a exaustão de nutrientes, quando, segundo o primeiro postulado de Klebs (COCHRANE, 1958), se deve iniciar a formação de picnídios. O fato de ocorrer, também, influência, em relação a outro isolado, com a caseína, indica a ocorrência de variação com o biótipo nas potencialidades de reprodução. Para ambos os casos o melhor nível de glucose foi de 5 g/l de meio. HAWKER (1947) também encontrou que concentrações altas de hexoses, acima de 0,5%, inibiu a produção de peritécios de *Melanospora destruens* e enquanto que glucose ou frutose, em baixas concentrações, favoreceram a frutificação, sacarose, amido, maltose o fizeram em concentrações relativamente altas. HASIJA (1970) verificou que o crescimento vegetativo de *Alternaria citri* e *A. tenuis* aumentou com o aumento da concentração de glucose de 0,5 a 30 g/l, entretanto, a esporulação diminuiu quando se utilizaram concentrações acima de 5 g/l.

Quanto aos níveis de N/l, a faixa de concentração ótima deve estar ao redor de 0,1 a 0,3 g/l. Tanto para a caseína como para nitrato de sódio, o nível 0,01 g/l foi baixo e, 2,0 g de N/l de caseína teve efeito inibidor.

Ainda, ao contrário dos resultados obtidos com o isolado B-2, para o isolado B-3, verificou-se que houve diferença entre o efeito das fontes de nitrogênio, tendo a caseína se mostrado melhor que o nitrato de sódio, na formação de maior número de picnídios.

Conforme o isolado, o nível de glucose influenciou a exsudação de conídios dos picnídios formados, sendo o melhor

nível para o isolado B-2, o de 10 g/l e, para ambos, B-2 e B-3, o melhor nível de N foi 0,1 g/l fornecido pelo nitrato de sódio.

A coloração do micélio, também, variou conforme a fonte de N, nível de glucose e isolado. Nos menores níveis de glucose e de N utilizados, a tonalidade foi mais escura, tendendo para o pardo quando a fonte de N foi nitrato de sódio e o isolado, B-3.

A sobreposição de disco de papel de filtro na superfície do meio de BDA estimulou a produção de picnídios, com efeito oposto nos meios de Berinjela ou de Algodão. Duas hipóteses podem ser levantadas para explicação desse fenômeno: a) o papel de filtro forneceu nutrientes ausentes no meio de BOA. COONS (1916) obteve formação de picnídios em meio constituído só de extrato de papel de filtro; b) o papel de filtro deve ter provocado um empobrecimento do meio de BOA, que é considerado um meio rico em carboidratos e muito complexo na composição; este efeito, entretanto, sobre um meio mais pobre em carboidratos, como possivelmente o são, o de berinjela e de algodão, teria consequências prejudiciais sobre a formação de picnídios.

A luz pode exercer efeito indutor ou inibidor sobre a formação de estruturas de reprodução, sendo que ambos os efeitos podem depender da composição do meio de cultura. O mecanismo, por meio do qual a luz induz a formação de picnídios, deve ser alguma modificação no ambiente interno do fungo, às vezes provocadas também pelo efeito de temperaturas altas (LEONIAN, 1924). COONS (1916) conseguiu obter o mesmo efeito com a adição de substâncias oxidantes ao meio de cultura, como a água oxigenada e outras, enquanto que KHAN (1966) o fez com a adição de AIA. No presente trabalho, no ensaio para estudar o efeito da sobreposição de papel de filtro na superfície do meio, em geral, a luz alternada foi mais favorável e a luz contínua, também, exerceu efeito indutor em alguns casos, mas, em outros, teve efeito nitidamente inibidor em relação ao escuro. Essa variação no efeito dependeu muito do meio de cultura. Quanto à influência das condições de

luz, outros autores chegaram a conclusões semelhantes. KAISER (1973) verificou que a luz influenciou no crescimento e esporulação de *Ascochyta rabiei*, influência essa variável, conforme o meio de cultura e o isolado utilizado e TIMNICK, LILLY & BARNETT (1948) verificaram que a produção peritécios, ascas e ascosporos de *Diaporthe phaseolorum* foi influenciada pelo meio de cultura, pela exposição a luz ultravioleta e à luz visível.

As condições de luz e a sobreposição de papel de filtro influenciaram, também, a exsudação de conídios dos picnídios e nem sempre as melhores condições para formação de picnídios coincidiram com a maior exsudação de conídios. No meio de Berinjela, a presença de papel estimulou a exsudação sob condições de luz alternada, não tendo exercido qualquer influência sob condições de luz contínua ou de escuro; nas condições de luz alternada com papel de filtro e nas de escuro com ou sem papel, ocorreu abundante exsudação. No meio de Algodão, na presença ou ausência de papel de filtro, ocorreu mais exsudação nas condições de luz alternada ou escuro. No meio BDA, ocorreu mais exsudação na presença de papel de filtro sob condições de luz alternada ou contínua.

No ensaio sobre efeito do tipo de inóculo, exposição a luz contínua ou alternada quase sempre teve efeito indutor em relação ao escuro. No ensaio sobre irradiação, algumas vezes, dependendo do meio de cultura e do tempo de exposição, houve efeito indutor ou inibidor em relação ao escuro.

É interessante observar que, aparentemente, os resultados obtidos, em relação à influência da luz, com o meio BDA sem irradiação, não estão de acordo com os obtidos no ensaio com o mesmo meio BDA sem papel de filtro. Essa aparente discordância pode ser atribuída às diferentes fontes de luz utilizadas, uma vez que, naquele ensaio a principal fonte foi a natural, suplementada ou não por lâmpadas incandescentes, enquanto que neste, a única fonte de luz foi a constituída por lâmpadas fluorescentes, o que parece sugerir que o tipo de luz também in

fluência a reprodução do fungo.

O método de plaqueamento pode influenciar a esporulação especialmente no caso de fungos que produzem picnídios ou acérvulos e é possível que os esporos sejam portadores de substâncias indutoras da esporulação na geração seguinte, segundo LILLY & BARNETT (1951). MATHUR, BARNETT & LILLY (1950) sugeriram a presença de vitaminas ou outras substâncias indutoras da esporulação na matriz dos esporos. BARNETT, TIMNICK & LILLY (1950) sugeriram que o rápido esgotamento de nutrientes que ocorre quando se faz plaqueamento com suspensão de esporos é responsável pela indução rápida da esporulação. No presente trabalho, com ambos os isolados ocorreu mais abundante exsudação de picnídios quando o plaqueamento foi feito com suspensão de esporos, embora com um dos isolados houvesse formação de maior número de picnídios quando foi usado disco de micélio como inóculo.

É interessante observar o efeito resultante da interação entre tipo de inóculo e condições de luz, com o isolado B-3. Quando foi utilizado disco de micélio como inóculo, para o isolado B-3, formou-se menor número de picnídios sob quaisquer das três condições de luz estudadas, não tendo ocorrido diferenças quantitativas, porém, com marcadas diferenças qualitativas. Sob condições de luz contínua ou de luz alternada, os picnídios se formaram apenas numa faixa anular bem definida, enquanto que sob condições de escuro, eles se formaram esparsos e distribuídos por toda a placa.

O tamanho dos picnídios obtidos no presente trabalho é geralmente maior que o citado por NAGAI (1961) para *A. abelmoschi* (sinônimo de *A. phaseolorum*), SUTTON & WATERSTON (1966) e ALCORN (1968) para *A. phaseolorum*. Entretanto, HARTER (1918) citou que os picnídios de *A. abelmoschi* são menores no hospedeiro e bem maiores e mais variáveis na forma quando em meio de cultura artificial, o que talvez possa explicar essa aparente discordância.

A irradiação adequada do micélio de fungos com luz ultravioleta tem efeito indutor sobre a esporulação. Na Literatura são encontrados vários exemplos como o relatado por ARAGAKI (1964) com *Alternaria tomato*, DIENER (1955) com *Stemphylium solani*, EKUNDAYO & HASKINS (1969) com *Botryodiplodia theobromae*, LEACH (1961, 1962 a e 1962 b) com *Helminthosporium oryzae*, vários fungos e *A. pisi*, respectivamente, STEVENS (1928) com *Glomerella cingulata*, TIMNICK, LILLY & BARNETT (1948 e 1951) com *Diaporthe phaseolorum* e *Diaporthe phaseolorum* var. *batatatis*. Na literatura, existem algumas explicações para o modo de indução da esporulação pela luz ultravioleta: LILLY & BARNETT (1951), citam que devido ao fato de a luz UV poder ser letal conforme o comprimento de onda e tempo de exposição, pode-se admitir ocorrência de injúria nas células expostas e subsequente liberação de substâncias com efeito indutor (LILLY & BARNETT, 1951). Quanto a esse aspecto, é interessante observar a citação de LILLY & BARNETT (1951) de alguns autores como RANDS (1917), KUNKEL (1918) e McCALLAN & CHAN (1944) que utilizaram a mutilação de micélio de *Alternaria* para estimular a esporulação. LEACH (1965), citado por TRIONE & LEACH (1969) e por VAN DEN ENDE & CORNELIS (1970), trabalhou com colônias de 5 fungos irradiadas com luz próxima a UV e conseguiu isolar do micélio uma substância que teve máxima absorção em 310 nm e foi designada P 310. Essa substância esteve presente no extrato aquoso de micélio tratado com luz ultravioleta mas esteve ausente ou em muito baixa concentração no extrato de colônias deixadas no escuro. A produção de P 310 foi correlacionada com esporulação, sem considerar se o fungo requer ou não luz para esporulação. P 310 foi encontrado somente em micélio esporulante, e não em micélio vegetativo ou em meio de cultura. Segundo TRIONE & LEACH (1969) é possível que a indução da esporulação em fungos irradiados com luz ultravioleta envolva a ativação de enzimas controladoras da esporogênese. VAN DEN ENDE & CORNELIS (1970), estudaram a indução da esporulação em *Sclero-*

tinia fructicola e em alguns outros fungos e a produção da substância P 310. A produção dessa substância foi muito maior em micélio irradiado com luz de comprimento de onda curta e aumentou com a intensidade de luz. A produção de P 310 não foi comum para todos os fungos. No presente trabalho, em geral, a irradiação estimulou a formação de picnídios, sendo que em alguns casos, a exposição por 60 seg provocou diminuição da intensidade do estímulo, sugerindo que a exposição por tempo mais prolongado pode ter efeito oposto

Embora a análise estatística não tenha apontado diferença significativa entre os pesos de micélio obtido nos diferentes níveis de pH testados, o gráfico (Figura 9), construído com a média obtida nos diferentes tratamentos, mostrou uma curva de crescimento de aspecto bimodal com o pico máximo em pH 5,0, o mínimo entre os picos em pH 5,5, dados esses que não diferem muito dos obtidos por CROSSAN (1958) que relatou ocorrência de crescimento máximo em valores de pH entre 5,0 e 6,0 e mínimo entre os picos entre 5,5 e 6,0 bem como dos dados obtidos por FIGUEIREDO & TERANISHI (1969), que relataram o nível ótimo de pH para crescimento entre 5,5 e 6,0. Diferiram, entretanto, dos dados citados por TREGGI & FIRPI (1967), que encontraram a melhor faixa de pH para *A. abelmoschi* entre 7,5 - 8,4.

O pH do meio de cultura pode influenciar também a formação de picnídios e essa influência pode ser expressa num gráfico, segundo uma curva, também, de aspecto bimodal, com um máximo em pH 4,0 e o segundo pico em pH 6,0, com o mínimo entre os picos em pH 4,5. O tamanho dos picnídios obtidos aumentou com a elevação do pH do meio e, levando-se em conta o número e o tamanho dos picnídios, o valor mais favorável de pH se localiza entre pH 6,0 a 7,0.

A influência do pH do meio de cultura sobre a reprodução de outros fungos já foi estudada por vários autores como CAMPBELL (1958) e KIMATI (1970), trabalhando, respectivamente, com *Ceratocystis* e *Glomerella cingulata*.

Observando-se a descrição dos sintomas obtidos com a inoculação de isolados de *A. phaseolorum* e de *P. vexans* em diversos hospedeiros (item 4.6) verifica-se que os resultados obtidos estão de acordo, em alguns casos, com os descritos na Literatura mas, em outros, apesar da obtenção de reisolamentos positivos, se apresentam diferentes.

Assim, os sintomas obtidos em berinjela, variedades Embu ou Híbrida, são semelhantes aos encontrados em condições de campo, naturalmente, ou aos descritos na Literatura tanto para as condições de campo, como para as condições de inoculações artificiais (CHUPP & SHERF, 1960; FIGUEIREDO & TERANISHI, 1969; GALLI & col., 1968; HARTER, 1914; TERANISHI & FIGUEIREDO, 1968).

Os isolados de *A. phaseolorum* apresentaram graus de patogenicidade diferentes sobre as variedades de berinjela utilizadas. Fato semelhante foi relatado por FIGUEIREDO (1972). O isolado B-3, aparentemente, foi mais patogênico que o isolado B-2 em relação às duas variedades de berinjela, Embu e Híbrida. As reações da variedade Híbrida, quando inoculada com *P. vexans*, demonstraram a maior resistência dessa variedade quando comparada com as reações da variedade Embu.

Em pimentão os sintomas obtidos com a inoculação do isolamento B-3F de *A. phaseolorum*, não coincidem com os descritos na Literatura, por FIGUEIREDO (1972). O mesmo fato ocorreu em tomateiro, em relação aos isolados B-2 e B-3 do mesmo fungo quando comparado com os sintomas descritos por ALCORN (1968), FIGUEIREDO & TERANISHI (1969), FIGUEIREDO (1972). Em quiabeiro, também, os sintomas obtidos com a inoculação dos isolados B-3 e B-3F não coincidem com as descrições de ELLIS (1950) e NAGAI (1961). É interessante observar que os outros autores relataram que são raras as infecções em folhas de quiabeiro, como CHUPP & SHERF (1960) e HARTER (1918). É possível que as lesões obtidas neste trabalho sejam iniciais e que, por certas razões, não evoluíram.

Em feijoeiro, só foram obtidos alguns resultados po

sitivos, em testes preliminares, em plântulas das quais se obteve o isolado B-3F, por reisolamento. Em algodoeiro não foi obtido nenhum isolamento positivo, portanto, considerado como não tendo ocorrido infecção.

Os resultados discordantes com os dados da literatura ou a não ocorrência da infecção em algumas plantas, consideradas hospedeiras, podem ser atribuídas ou à diferença nas características de resistência das plantas conforme a variedade ou a linhagem ou à variação da patogenicidade de diferentes isolados do fungo ou, ainda, às condições ambientes. Um simples exame do Quadroll, referente aos resultados de reisolamento, mostra que ocorre variação na patogenicidade de diferentes isolados, ou até mesmo de reisolados. Assim, em pimentão só ocorreu infecção quando inoculado com o isolado B-3F (reisolamento a partir de B-3 do feijoeiro), em tomateiro, com os isolados B-2 e B-3 e, em quiabeiro, com B-3 e B-3F. Fatos semelhantes são citados por CROSSAN (1958) que relatou a ocorrência de um isolado até mesmo mais patogênico a outras espécies de plantas do que à plantada qual foi obtida originalmente, e por ALCORN (1968) que observou reações de resistência em berinjela inoculada com isolado de *A. phaseolorum* obtido de *Phaseolus vulgaris*. Ainda CROSSAN (1958) relatou que um dos isolados de *A. phaseolorum* (*A. lycopersici* de Baarn, Holanda) diferiu dos demais com que trabalhou, induzindo sintomas na forma de pontos necróticos em quiabeiro, tomateiro e em algumas variedades de feijoeiro, sendo que na maioria das variedades dessa leguminosa não obteve nenhuma reação. A não ocorrência de sintomas em feijoeiro, neste trabalho, pode ser explicada também pelo fato de a penetração desse fungo ser favorecida pela presença de ferimentos ou estado de enfraquecimento da planta. ALCORN, (1968) observou que raramente ocorria infecção em folhas de feijoeiro sem ferimentos e SUTTON & WATERSTON (1966) observaram infecções em culturas danificadas ou enfraquecidas. Quanto ao algodoeiro, CROSSAN (1958) e FIGUEIREDO & TERANISHI (1969), obtive

ram apenas sintomas brandos em algodoeiro inoculado com alguns isolados de *A. phaseolorum*. Também as condições ambientes parecem exercer influência muito importante sobre o mecanismo de infecção. BIRD (1963) relatou que as temperaturas ótimas para *A. gossypii* (atualmente considerado *A. phaseolorum*) variaram de isolado para isolado numa faixa de 18 - 28°C, para três isolados testados. PERSON (1961), inoculando isolados de *Ascochyta* obtidos de 16 hospedeiros, conseguiu reproduzir os sintomas em 12 dias, quando as plantas permaneceram em câmara úmida a temperatura de 18,4°C por 60 horas. A temperatura do ambiente do presente trabalho foi superior à do trabalho citado.

P. vexans só causou infecção em berinjela, ao passo que todos os isolados de *A. phaseolorum* foram patogênicos também a outras plantas, além de berinjela, em conformidade com as citações encontradas na Literatura.

No ensaio montado para o estudo das reações das variedades Híbrida e Embu de berinjela, foi obtida confirmação de que ocorre variação de patogenicidade entre isolados de *A. phaseolorum*, que se manifesta conforme a variedade ou o método de inoculação, e, nesses casos B-3 foi, geralmente, mais patogênico do que B-2 de *A. phaseolorum* ou Pv de *P. vexans*.

Quanto à reação das variedades aos isolados, a variedade Embu se mostrou altamente suscetível quando inoculada com o isolado B-3 de *A. phaseolorum* ou Pv de *P. vexans*. De um modo geral, portanto, a variedade Híbrida se comportou como mais resistente que a variedade Embu em relação a qualquer dos 3 isolados de fungos. Em parte, estes resultados estão de acordo com os citados por FIGUEIREDO (1972) pois esse autor verificou que a berinjela Híbrida Piracicaba F₁-100, aparentemente, se comportou como resistente a *P. vexans*, formando apenas lesões pequenas e pouco numerosas, mas tão suscetível quanto outras variedades testadas a *A. phaseolorum*.

Quanto aos métodos de inoculação, o da pulverização de suspensão de esporos foi mais adequado, permitindo diferen

ciar melhor os graus de resistência.

É interessante observar que as lesões apresentadas pela variedade Híbrida foram geralmente menores nas folhas quando inoculada por pulverização, ou na haste, quando inoculada por injeção, e estas últimas, além de menores, se apresentaram com aspectos diferentes das apresentadas pela variedade Embu. A manifestação de reações de resistência, especialmente quando inoculada com *P. vexans*, pela variedade Híbrida, tanto quando o inóculo foi pulverizado como quando injetado, sugere resistência a colonização pelo patógeno, pois, como observaram HOWARD & DESROSIERS (1941), *P. vexans* germina e penetra tanto em variedades de berinjela suscetível como em resistentes.

6 - CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos no presente trabalho com *Ascochyta phaseolorum* Sacc., podem-se tirar as seguintes conclusões:

- 6.1 - Para a formação de picnídios, o melhor nível de glucose (C) foi o de 5 g/litro de meio quando a fonte de N foi o sulfato de amônio para um dos isolados e com 0,1 g de N/l da caseína para outro isolado estudado. Também os níveis 0,1 ou 2,0 g de N/l do nitrato de sódio, independentemente do nível de glucose, foram mais favoráveis à formação de picnídios para um dos isolados;
- 6.2 - Para a exsudação de conídios, o melhor nível de glucose foi o de 10 g/l para um dos isolados e 0,1 g de N/l fornecido pelo nitrato de sódio ;
- 6.3 - O nível de 2,0 g de N/l fornecido pela caseína provocou profundas modificações no crescimento micelial, induzindo a formação de agrupamentos compactos;
- 6.4 - A sobreposição de discos de papel de filtro na superfície do meio de cultura estimulou a formação de picnídios em BDA, tendo exercido efeito oposto em meio de berinjela ou de algodão ;
- 6.5 - A sobreposição de papel de filtro estimulou também a exsudação de conídios em BDA, bem como no meio de berinjela, embora tivesse desfavorecido a produção de picnídios nesse meio; no meio de algodão não exerceu influência neste aspecto;
- 6.6 - O plaqueamento com suspensão de esporos induziu a formação de maior número de picnídios num

dos isolados e, quanto ao outro isolado, embora não tenha sido o método mais adequado para formação de picnídios, o foi para a exsudação de conídios;

- 6.7 - A irradiação do micélio às 48 h de idade, geralmente, estimulou a formação de maior número de picnídios, estímulo esse variável com o tempo de exposição à luz UV, com o meio de cultura e com as condições de incubação;
- 6.8 - Quanto à exsudação de conídios, geralmente a exposição por 30 seg foi mais favorável;
- 6.9 - O tipo e o regime de luz durante a incubação influenciam a formação de picnídios e, dependendo do meio de cultura, do tipo de inóculo para plaqueamento e da irradiação, ou as condições de luz alternada ou, as de luz contínua foram mais favoráveis em relação às de escuro; dependendo desses mesmos fatores, as condições de luz contínua podem exercer efeito inibidor;
- 6.10 - A influência da reação hidrogeniônica (pH) do meio de cultura pode ser expressa por uma curva bimodal, sendo que, para crescimento micelial, o pico máximo se localiza em pH 5,0, com o mínimo entre os picos em pH 5,5 e, para formação de picnídios, os picos máximos se localizam em pH 4,0 e 6,0 com o mínimo em pH 4,5;
- 6.11 - Ocorre variação entre diferentes isolados do fungo quanto às características morfológicas e fisiológicas, inclusive quanto a patogenicidade;
- 6.12 - A variedade Híbrida Piracicaba F₁-100 de berinjela pode-se comportar como resistente a al

guns isolados de *A. phaseolorum* da mesma forma que a *P. vexans*, sendo essa resistência, provavelmente do tipo de resistência ao desenvolvimento;

6.13 - O método da pulverização de suspensão de esporos se mostrou mais adequado para permitir a diferenciação dos graus de severidade de doença;

6.14 - Os isolados de *A. phaseolorum* foram patogênicos também a outras espécies vegetais enquanto que *P. vexans* só o foi à berinjela.

7 - RESUMO

No presente trabalho foram estudados aspectos sobre a fisiologia da reprodução e sobre a patogenicidade de *Ascochyta phaseolorum* Saccardo.

Através da realização de ensaios sob condições "in vitro" em placas de Petri ou em frascos erlenmeyers foi estudada a influência de vários fatores sobre a reprodução. Essa influência variou, em alguns casos, com o isolado, e muitas vezes se mostrou altamente complexa. Resumidamente, algumas das condições mais favoráveis foram: nível de 5 g de glucose/litro com sulfato de amônio ou com 0,1 g de N da caseína (casaminoácido) para formação de picnídios, ou ainda, 0,1 e 2,0 g de N do Nitrato de sódio, independentemente do nível de glucose e, para exsudação de conídios foi o de 10 g de glucose e 0,1 g de N. nitrato de sódio por litro de meio; a sobreposição de disco de papel de filtro na superfície do meio estimulou, em BDA, a produção de picnídios e, embora não o tenha feito em meio de algodão e berinjela, neste último, estimulou a exsudação de conídios; suspensão de esporos foi o inóculo para plaqueamento mais favorável à reprodução do fungo. A irradiação do micélio jovem com luz UV ou incubação sob condições de luz alternada tem efeito indutor sobre a formação de picnídios, sendo que incubação à luz contínua também tem efeito indutor, mas dependendo de outros fatores, como composição do meio pode ter efeito inibitório. A influência do pH do meio pode ser expressa por uma curva de aspecto bimodal tanto em relação ao peso seco de micélio como em relação ao número de picnídios. Variabilidade foi observada entre os isolados do fungo em relação à morfologia e fisiologia da reprodução.

Através de testes de patogenicidade conduzidos ou em casa de vegetação ou em salas climatizadas se observou a ocorrência de variação também quanto à patogenicidade de diferentes isolados do fungo. A variedade Híbrida Piracicaba F₁-100 de berinjela pode-se comportar como resistente a alguns isolados de A.

phaseolorum da mesma forma como o é a *P. vexans*, sendo, aparentemente, mais relacionada com o desenvolvimento do patógeno do que com a penetração; o método mais adequado de inoculação para diferenciar os graus de severidade de doença foi o da pulverização de suspensão de esporos. Testes de inoculação em diferentes espécies vegetais mostraram que os isolados de *A. phaseolorum* foram patogênicos também a outras espécies vegetais enquanto que *P. vexans* só o foi às variedades de berinjela.

8 - SUMMARY

In this paper, the results of a study about the factors affecting reproduction and about the pathogenicity of *Ascochyta phaseolorum* Saccardo are presented.

The influence of some factors on the pycnidium production and spore exudation was studied by laboratory assays in Petri dishes or in erlenmeyer flasks. This influence was, some times, highly complex and varied with the fungus isolate utilized. The major conclusions about the most favorable conditions may be summarized as follow: level of 5 g of glucose/liter of medium with ammonium sulphate N or with 0,1 g of N of casein (casamino-acid) or, independently of the glucose level, 0,1 and 2,0 g of sodium nitrate N/l were more favorable to pycnidium production, and, for the spore exudation, 10 g of glucose/l and 0,1 g of sodium nitrate spore exudation, 10 g of glucose/l and 0,1 g of sodium nitrate nitrogen/l; covering surface of the medium with filter paper discs increased pycnidium production on PDA and decreased on cotton plant or eggplant extract medium but, in the last medium, it favored spore exudation. The method of plate inoculation with spore suspension was more favorable to sporulation than micelium disc inoculation method. Young micelium irradiation with UV light or incubation of the plates under alternating light exposition induced pycnidium production and also continuous exposition to light had induction effect, but, sometimes, in the dependence of other conditions, it may inhibit pycnidium production. The influence of the reaction of the medium on the micelial growth and on the pycnidium production may be expressed by a bimodal pattern curve. Morphological and physiological variation was observed among different fungus isolates.

Through pathogenicity assays conducted in the greenhouse or in the growth room it was detected variation in pathogenicity among different isolates of the fungus; "Hibrida Piracicaba, F₁-100" egg-plant cultivar may show resistance reaction to some isolates

of *A. phaseolorum* in the same way as it is resistant to *P. vexans*. This resistance reaction of this cultivar seems to be a resistance reaction to the development of the pathogen. The more suitable plant inoculation method to grading different severity degrees of the disease was that of spraying spore suspension. By inoculating several plant species it was detected pathogenicity of *A. phaseolorum* to other plants while *P. vexans* was pathogenic only to egg-plants.

9 - BIBLIOGRAFIA

- ALCORN, J.L. Occurrence and host range of *Ascochyta phaseolorum* in Queensland. Aust. J. biol. Sci., 21:1143-1151. 1968.
- ARAGAKI, M. Relation of radiation and temperature to the sporulation of *Alternaria tomato* and other fungi. Phytopathology, 54:565-569. 1964.
- BARNETT, H.L., TIMNICK, M.B. & LILLY, V.G. Method of inoculation and the production of spores by *Guignardia bidwellii* and other fungi in culture. Phytopathology, 40(1): 1. 1950.
- BIRD, L.S. Cultural growth at different temperatures of *Ascochyta gossypii* from Georgia, Alabama, and Texas. Phytopathology, 53:621-622. 1963.
- BOEREMA, G.H. *Ascochyta phaseolorum* synonymous with *Phoma exigua*. Neth. J. Pl. Path. 78:113-115. 1972
- CAMPBELL, R.N. Nutrient requirements for the production of perithecia by *Ceratocystis variospora* and other species. Amer. J. Bot., 45:263-270. 1958.
- CHUPP, C. & SHERF, A.F. Vegetable diseases and their control. New York, The Ronald Press Co, 1960. v, 693p.
- COCHRANE, V.W. Physiology of fungi. New York, John Wiley & Sons, Inc., 1958. xiii, 524p.
- COONS, G.H. Factors involved in the growth and the pycnidium formation of *Plenodomus fuscomaculans*. J. Agric. Res., V(16): 713-769. 1916
- CROSSAN, D.F. Comparative studies on species of *Ascochyta* from okra, bean, and cotton in North Carolina. Phytopathology, 43:469. 1953.
- CROSSAN, D.F. The relationships of seven species of *Ascochyta* occurring in North Carolina. Phytopathology, 48:248-255. 1958.
- DIENER, U.L. Sporulation in pure culture by *Stemphylium solani*. Phytopathology, 45:141-145. 1955

- EKUNDAYO , J.A. & HASKINS, R.H. Pycnidium production by *Botryodiplodia theobromae*. I. The relation of light to the induction of pycnidia. Can. J. Bot., 47:1153-1156. 1969 .
- ELLIS, O.E. *Ascochyta* blight of okra in western North Carolina. Phytopathology, 40:1056-1058. 1950.
- ELLIS, D.E. *Ascochyta* leaf spot of bean in North Carolina. Plant Dis. Repr., 36(1):12. 1952
- FIGUEIREDO, M.B. Estudos fisiológicos e sorológicos sobre o fungo *Ascochyta phaseolorum* Sacc. e sobre a doença por ele causada em berinjela (*Solanum melongena* L.) e em outras plantas cultivadas. Tese de doutoramento apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1972. 130p. Mimeografado.
- FIGUEIREDO, M.B. & TERANISHI, J. Doença causada por *Ascochyta phaseolorum* Sacc. em berinjela (*Solanum melongena* L.). Arq. Inst. Biol., 36(2):109-116. 1969.
- GALLI, F., TOKESHI, H., CARVALHO, P.C.T., BALMER, E., KIMATI, H., CARDOSO, C.O.N. & SALGADO, C.L. Manual de Fitopatologia-Doenças das Plantas e seu Controle. São Paulo, Biblioteca Agrônômica Ceres, 1968, ix, 640p.
- HARTER, L.L. Fruit rot, leaf spot, and stem blight of the egg-plant caused by *Phomopsis vexans*. Jour. Agric. Res. 2(5):331-338. 1914.
- HARTER, L.L. A hitherto-unreported disease of okra. J. Agr. Res., XIV(5):207-212. 1918.
- HASIJA, S.K. Physiological studies of *Alternaria citri* and *A. tenuis*. Mycologia, 62:289-295. 1970.
- HAWKER, L.E. Further experiments on growth and fruiting of *Melanospora destruens* Shear. in the presence of various carbohydrates, with special reference to the effects of glucose and of sucrose. Annals of Botany, XI(42):245-260. 1947.
- HAWKER, L.E. The physiology of reproduction in fungi. Cambridge, Cambridge Univ. Press, 1957. viii, 128p.

- HIX, S.M. & BAKER, R. Physiology of sexual reproduction in *Hypomyces solani* f. *cucurbitae*. I. Influence of carbon and nitrogen. *Phytopathology*, 54:584-586. 1964.
- HOLDEMAN, C.L. & GRAHAN, T.W. Ascochyta leaf spot in tobacco plants beeds in South Carolina. *Plant Dis. Reprtr.*, 36(1):8. 1952.
- HOWARD, F.L. & DESROSIERS, R. Studies on the resistance of egg-plant varieties to Phomopsis blight. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci* 39:337-340. 1941.
- KAISER, W.J. Factors affecting growth, sporulation, pathogenicity, and survival of *Ascochyta rabiei*. *Mycologia*, 65:444 - 457. 1973.
- KHAN, M. Substitution of light by Indolyl-3-acetic acid in the sporulation of *Sclerotinia fructigena*. *Nature*, 212(5):640. 1966.
- KIMATI, H. *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et V. Schrenk. f. sp. *phaseoli* n. f., fase ascógena do agente causal da antracnose do feijoeiro. Tese de doutoramento apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1970. 35p. [Mimeografado].
- KUMAR, M. & GROVER, R.K. Effect of carbon sources on the growth of *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitz. *Indian Phytopathology*, XX(3): 189-195. 1967.
- LEACH, C.M. The sporulation of *Helminthosporium oryzae* as affected by exposure to near ultraviolet radiation and dark periods. *Can. J. Bot.*, 39:705-715. 1961.
- LEACH, C.M. Sporulation of diverse species of fungi under near-ultraviolet radiation. *Can. J. Bot.*, 40:151-161. 1962a.
- LEACH, C.M. The quantitative and qualitative relationship of ultraviolet and visible radiation to the induction on reproduction in *Ascochyta pisi*. *Can. J. Bot.*, 40:1577-1602. 1962b.
- LEONIAN, L.H. A study of factors promoting pycnidium-formation in some Sphaeropsidales. *Amer. J. Bot.*, II: 19-50. 1924.

- LILLY, V.G. & BARNETT, H.L. Physiology of the fungi. New York, McGraw-Hill Book Co., 1951. xii, 464p.
- MATHUR, R.S., BARNETT, H.L. & LILLY, V.G. Sporulation of *Colletotrichum lindemuthianum* in culture. Phytopathology, 40:104-114. 1950
- NAGAI, H. Estudos preliminares sobre a "Queima do quaibeiro (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench.)" na Baixada Fluminense. Agronomia, 19(3-4):46-55. 1961.
- PELLETIER, R.L. & KEITT, G.W. *Venturia inaequalis* (CKE) Wint. VI. Amino acids as sources of nitrogen. Am. J. Bot. 41:362-371. 1954.
- PERSON, L.H. A method of maintaining viability and ability to sporulate in isolates of *Ascochyta*. Phytopathology, 51:797-798. 1961.
- SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. Metodos Estadisticos. Mexico, Continental, SA., 1966. 626p. 2.^a reimpression de la 5.^a edición en ingles.
- SPRAGUE, R. & JOHNSON, A.G. *Ascochyta* leaf spots of cereals and grasses in United States. Mycologia, 42:523-553. 1950
- STEVENS, F.L. The sexual stage of fungi induced by ultraviolet rays. Science, 67(1742):514-515. 1928.
- SUTTON, B.C. & WATERSTON, J.M. *Ascochyta phaseolorum* - CMI Descr. Pathog. Fung & Bact., Set 9, n^o 81. 1966.
- TERANISHI, J. & FIGUEIREDO, M.B. Podridões em frutos e hastes de berinjela (*Solanum melongena* L.) causadas por *Ascochyta phaseolorum* Sacc.. O Biológico, XXXIV(9):206-208. 1968.
- THOMPSON, G.E. A comparison of *Ascochyta abelmoschi* Harter and *A. gossypii* Sydow in culture and inoculation experiments. (Abstr.) Phytopathology, 43(5):293-294. 1953.
- TIMNICK, M.B., LILLY, V.G. & BARNETT, H.L. The influence of light and other factors upon the sporulation of *Diaporthe phaseoli* from Soy Bean. (Abstr.) Amer. J. Bot., 35(10):804. 1948.

- TIMNICK, M.B., LILLY, V.G. & BARNETT, H.L. Factors affecting sporulation of *Diaporthe phaseolorum* v. *batatatis* from Soybean. *Phytopathology*, 41(4):327-336. 1951.
- TREGGI, G. & FIRPI, M. Qualche ricerca sulla fisiologia di alcune specie del gen. *Ascochyta*. *Agricoltura Italiana*, (Estratto) Marzo-Aprile 1967:47-66.
- TRIONE, E.J. & LEACH, C.M. Light-induced sporulation and sporogenic substances in fungi. *Phytopathology*, 59:1077-1083. 1969.
- VAN DEN ENDE, G. & CORNELIS, J.J. The induction of sporulation in *Sclerotinia fructicola* and some other fungi and the production of "P 310". *Neth. J. Pl. Path.* 76:183-191. 1970.

10 - APÊNDICE

QUADRO I - Influência do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio (C/N) sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B-2. Jaboticabal, 1971.

Tratamentos			Número de picnídios por campo (1) microscópio nas repetições					
Nível de Gluc.	nitrogênio		I			II		
	fonte	nível	G	P	G+P	G	P	G+P
5	caseína	0,1	6,00	3,80	9,80	2,30	1,30	3,60
		0,2	2,70	0,80	3,50	5,70	2,30	8,00
		0,3	0,30	2,40	2,70	1,10	0,60	1,70
10		0,1	4,90	1,10	6,00	3,50	2,20	5,70
		0,2	7,10	2,50	9,70	2,90	1,20	4,10
		0,3	5,70	2,70	8,40	0,50	0,20	0,70
15		0,1	4,20	2,00	6,20	0,70	0,70	1,40
		0,2	0,90	3,20	4,10	1,80	2,00	3,80
		0,3	1,90	2,10	4,00	0,50	0,40	0,90
5	nitrato de sódio	0,1	2,20	0,00	2,20	5,20	0,80	6,00
		0,2	1,70	0,50	2,20	0,20	0,80	1,00
		0,3	2,20	2,80	5,00	2,10	0,20	2,30
10		0,1	2,30	0,30	2,60	1,70	0,40	2,10
		0,2	2,70	0,40	3,10	2,00	1,20	3,20
		0,3	1,80	1,80	3,60	0,40	0,10	0,50
15		0,1	3,10	0,80	3,90	0,40	0,80	1,20
		0,2	2,10	1,20	3,30	2,40	1,10	3,50
		0,3	2,80	1,70	4,50	1,20	0,70	1,90
5	sulfato de amônio	0,1	6,40	2,10	8,50	11,70	5,80	17,50
		0,2	5,30	2,10	7,40	7,10	6,80	13,90
		0,3	5,80	2,60	8,40	9,80	5,90	15,70
10		0,1	0,30	0,10	0,40	2,50	0,90	3,40
		0,2	3,90	1,90	5,80	1,10	0,80	1,90
		0,3	1,60	0,70	2,30	0,50	0,20	0,70
15		0,1	0,70	1,10	1,80	1,10	0,50	1,60
		0,2	1,80	1,40	3,20	0,20	0,10	0,30
		0,3	6,40	2,40	8,80	1,80	0,30	2,10

(1) - Número médio de picnídios em 10 campos ao acaso, sob 40 aumentos.

(G) - Picnídios grandes

(P) - Picnídios pequenos

(G + P) - Soma de picnídios grandes e pequenos

QUADRO II - Análise de variância dos dados contidos no Quadro I, transformados para $\sqrt{x + 1}$, referentes à influência do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B-2, avaliada através da contagem de picnídios grandes por campo microscópico sob 40 aumentos.

Causa de Variação	GL	SQ	QM	F
Glucose (G)	2	1,1024	0,5512	2,64
Níveis de N (N)	2	1,1168	0,5584	2,68
Interação G x N	4	0,4764	0,1191	0,571
(Dentro de Caseína)	(8)	(2,6956)	-	-
Glucose (G)	2	0,0312	0,0156	0,075
Níveis de N (N)	2	0,1200	0,0600	0,288
Interação G x N	4	0,6884	0,1721	0,825
(Dentro de Nitrato de sódio)	(8)	(0,8396)	-	-
Glucose	2	6,8349	3,4174	16,39 **
Níveis de N (N)	2	0,1666	0,0833	0,400
Interação G x N	4	1,1234	0,2808	1,35
(Dentro de sulfato de amônio)	(8)	(8,1249)	-	-
Entre fontes de N	2	1,0713	0,5356	2,57
(Tratamentos)	(26)	(12,7314)	-	-
Resíduo	27	5,6299	0,2085	-
Total	53	18,3613	-	-

** = significativo a 1%

CV = 24,18%

TESTE DE TUKEY

Glucose d. amônio	Médias
5	2,92 a
10	1,58 b
15	1,65 b

dms a 5% = 0,65

QUADRO III - Análise da variância dos dados contidos no Quadro I, transformados para $\sqrt{x + 1}$, referentes ao número de picnídios "Pequenos" formados por campo microscópico sob 40 aumentos.

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Glucose (G)	2	0,0076	0,0038	0,028
Nível de N (N)	2	0,1321	0,0660	0,484
Interação G x N	4	0,2194	0,0548	0,401
(Dentro de Caseína)	(8)	(0,3591)	-	-
Nível de N	2	0,1581	0,0790	0,579
Glucose d. Nitrato 0,1	2	0,0409	0,0204	0,149
Glucose d. Nitrato 0,2	2	0,0366	0,0183	0,134
Glucose d. Nitrato 0,3	2	0,0282	0,0141	0,103
(Dentro de Nitrato de sódio)	(8)	(0,2639)	-	-
Glucose (G)	2	3,2401	1,6200	11,87 **
Nível de N(N)	2	0,0439	0,0220	0,161
Interação G x N	4	0,1371	0,0343	0,251
(Dentro de sulfato de amônio)	(8)	(3,4211)	-	-
Entre fontes de N	2	1,0353	0,5176	3,79 *
(Tratamentos)	(26)	(5,0794)	-	-
Resíduo	27	3,6863	0,1365	-
Total	53	8,7657	-	-

* = significativo a 5%

** = significativo a 1%

CV = 23,99%

TESTE DE TUKEY

a)	Glucose d. Amônio	Média	b)	Fontes de N	Média
	5	2,24 a		Caseína	1,63
	10	1,31 b		Nitrato de sódio	1,34
	15	1,38 b		Sulfato de amônio	1,64
	dms a 5% = 0,53			dms a 5% = 0,31	

QUADRO IV - Análise de variância dos dados contidos no Quadro I, transformados para $\sqrt{x + 1}$, referentes ao número total de picnídios (grandes e pequenos) formados por campo microscópico sob 40 aumentos.

Causa de Variação	GL	SQ	QM	F
Glucose (G)	2	0,6805	0,3402	0,941
Nível de N (N)	2	1,3301	0,6650	1,84
Interação G x N	4	0,2285	0,0571	0,158
(Dentro de Caseína)	(8)	(2,2391)	-	-
Glucose (G)	2	0,0748	0,0374	0,103
Nível de N (N)	2	0,0088	0,0044	0,012 *
Interação G x N	4	0,6312	0,1578	0,437
(Dentro de Nitrato de Sódio)	(8)	(0,7148)	-	-
Glucose (G)	2	11,7202	5,8601	16,21 **
Nível de N (N)	2	0,1334	0,0667	0,185
Interação G x N	4	1,2970	0,3242	0,897
(Dentro de Sulfato de amônio)	(8)	(13,1506)	-	-
Entre fontes de N	2	2,1959	1,0980	3,04
(Tratamentos)	(26)	(18,3004)	-	-
Resíduo	27	9,7585	0,3614	-
Total	53	28,0589	-	-

* - significativo a 5%

** - significativo a 1%

CV = 27,10%

TESTE DE TUKEY

a) Nível de Nitrato	Média	b) Glucose d. amônio	Média
0,1	1,96	5	3,55 a
0,2	1,91	10	1,78 b
0,3	1,94	15	1,89 b

dms a 5% = 0,86

dms a 5% = 0,86

QUADRO V - Efeito do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio na formação de picnídios de *A. phaseolorum* (isolado B-2). Jaboticabal, 1973.

Tratamentos			Número de picnídios (1) por campo microscópico nas repetições		
Nível de Gluc.	nitrogênio		I	II	III
	fonte	nível			
5	caseína	0,01	1.701,28	1.163,12	1.788,08
		0,1	1.197,84	833,28	1.788,08
		2,0	-	-	-
	nitrato de sódio	0,01	503,44	1.111,04	972,16
		0,1	1.354,08	954,80	902,72
		2,0	1.006,88	555,52	1.180,48
10	caseína	0,01	1.736,00	694,40	1.770,72
		0,1	1.249,92	972,16	1.388,80
		2,0	-	-	-
	nitrato de sódio	0,01	1.093,68	954,80	1.163,12
		0,1	1.718,64	885,36	1.319,36
		2,0	1.163,12	2.048,48	937,44

(1) - Média de 10 campos visuais por placa de Petri em microscópio estereoscópico de 18 aumentos.

QUADRO VI - Análise da variância dos dados contidos no Quadro V, transformados em \sqrt{x} , referentes ao efeito do nível de glucose e da fonte e nível de N na formação de picnídios de *A. phaseolorum*, isolado B-2.

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Glucose (G)	1	7,5367	7,5367	0,23
Nitrogênio (N)	1	27,5124	27,5124	0,84
Interação G x N	1	2,5854	2,5854	0,078
(Dentro de Caseína)	(3)	(37,6345)	-	-
Glucose (G)	1	94,3938	94,3938	2,87
Nitrogênio (N)	2	36,4456	18,2228	0,55
Interação G x N	2	10,9737	5,4868	0,17
(Dentro de Nitrato de sódio)	(5)	(141,8131)	-	-
Caseína Vs. Nitrato	1	96,8734	96,8734	2,94
(Tratamento)	(9)	(276,3210)	-	-
Resíduo	20	658,7004	32,9350	-
Total	29	935,0214	-	-

CV = 16,77%

QUADRO VII - Efeito do nível de glucose e da fonte e nível de nitrogênio na formação de picnídios de *A. phaseolorum* (isolado B-3). Jaboticabal, 1973.

Tratamento			Número de picnídios (1) por campo microscópico nas repetições		
Nível de Gluc.	nitrogênio		I	II	III
	fonte	nível			
5	caseína	0,01	100	41	41
		0,1	109	135	43
		2,0	-	-	-
	nitrato de sódio	0,01	14	8	20
		0,1	28	35	42
		2,0	38	26	41
10	caseína	0,01	17	13	6
		0,1	53	33	131
		2,0	-	-	-
	nitrato de sódio	0,01	10	22	3
		0,1	57	50	32
		2,0	46	28	67

(1) - média de 10 campos visuais por placa de Petri em microscópio estereoscópico de 18 aumentos.

QUADRO VIII - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XII, transformados em \sqrt{x} , referentes ao efeito do nível de glucose e da fonte e nível de N na formação de picnídios de *A. phaseolorum*, isolado B-3.

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Glucose (G)	1	23,4361	23,4361	8,50 **
Nitrogênio (N)	1	33,7010	33,7010	12,23 **
Interação G x N	1	5,9784	5,9784	2,17
(Dentro de Caseína)	(3)	(63,1155)	-	-
Glucose (G)	1	0,7730	0,7730	0,28
Nitrogênio (N)	2	33,3509	16,6754	6,05 **
Interação G x N	2	1,8269	0,9134	0,33
(Dentro de Nitrato de sódio)	(5)	(35,9508)	-	-
Caseína Vs. Nitrato	1	23,6096	23,6096	8,57 **
(Tratamento)	(9)	(122,6759)	-	-
Resíduo	20	55,1114	2,7556	-
Total	29	177,7873	-	-

** - significativo a 1%

CV = 27,28%

TESTE DE TUKEY

Níveis de N (fonte nitrato)	Médias
0,01	3,44 b
0,1	6,33 a
2,0	6,32 a

dms a 5% = 2,43

QUADRO IX - Influência das condições de luz e da sobreposição de papel de filtro na superfície do meio sobre a reprodução de *A. phaseolorum* (isolado B-2) em três meios de cultura. Jaboticabal, 1971.

Tratamentos			Número de picnídios por campo (1) nas repetições	
Luz	Papel	Meio	I	II
Alternada	com	Ber.	324	362
		Alg.	390	666
		BDA	138	108
	sem	Ber.	804	716
		Alg.	738	940
		BDA	6	6
Contínua	com	Ber.	56	248
		Alg.	6	2
		BDA	882	618
	sem	Ber.	272	466
		Alg.	20	27
		BDA	51	9
Escuro	com	Ber.	62	104
		Alg.	92	128
		BDA	12	19
	sem	Ber.	642	334
		Alg.	334	302
		BDA	2	0

(1) - Média de 10 campos de microscópio estereoscópio de 40 aumentos.

QUADRO X - Análise da variância dos dados contidos no Quadro IX, transformados em $\sqrt{x + 1}$, referentes à influência das condições de luz e presença de papel de filtro em 3 meios de cultura.

Causa de Variação	GL	SQ	QM	F
Papel	1	283,6297	283,6297	40,94 **
Luz d. de c/ papel	2	95,3857	47,6928	6,88 **
Luz d. de s/ papel	2	75,3802	37,6901	5,44 *
(Dentro de Meio de Berinjela)	(5)	(454,3956)	-	-
Papel	1	87,8584	87,8584	12,68 **
Luz d. de c/ papel	2	430,2716	215,1358	31,06 **
Luz d. de s/ papel	2	576,8947	288,4474	41,64 **
(Dentro de Meio de Algodão)	(5)	(1.095,0248)	-	-
Papel	1	368,7426	368,7426	53,23 **
Luz d. de c/ papel	2	568,8939	284,4470	41,06 **
Luz d. de s/ papel	2	15,1300	7,5650	1,09
(Dentro de BDA)	(5)	(952,7665)	-	-
Entre os Meios	2	537,5962	268,7981	38,80 **
(Tratamentos)	(17)	(3.039,7830)	-	-
Resíduo	18	124,6929	6,9274	-
Total	35	3.164,4759	-	-

* - significativo a 5%

** - significativo a 1%

CV = 19,21

TESTE DE TUKEY

a) Luz dentro d c/ papel de filtro - Meio de Berinjela

Luz d. de c/ papel	Médias
Alternada	18,54 a
Contínua	11,67 b
Escuro	9,10 b

dms a 5% = 6,72

b) Luz dentro de s/ papel de filtro - Meio de Berinjela

Luz d. de s/ papel	Médias
Alternada	27,58 a
Contínua	19,06 b
Escuro	21,93 ab

dms a 5% = 6,72

c) Luz dentro de c/ papel de filtro - Meio de Algodão

Luz d. de c/ papel	Médias
Alternada	22,80 a
Contínua	2,18 c
Escuro	10,50 b

dms a 5% = 6,72

d) Luz dentro de sem papel de filtro - Meio de Algodão

Luz d. de s/ papel	Médias
Alternada	28,93 a
Contínua	4,94 c
Escuro	17,86 b

dms a 5% = 6,72

e) Luz dentro de c/ papel de filtro - Meio de BDA

Luz d. de c/ papel	Médias
Alternada	11,12 b
Contínua	27,30 a
Escuro	4,04 c

dms a 5% = 6,72

f) Entre os meios de cultura

Meios de cultura	Médias
Berinjela	17,96 a
Algodão	14,53 b
BDA	8,61 c

dms a 5% = 2,74

QUADRO XI - Influência das condições de luz e do tipo de inóculo utilizado sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolados B-2 e B-3. Jaboticabal, 1973.

Tratamentos			Número de picnídios (1) obtidos por 84,91 mm ² de superfície no meio de cultura G 5 Ni 0,1 nas repetições		
Luz	Isolado	Inóculo	I	II	III
contínua	B-2	micélio	104,40	100,80	118,00
		esporo	78,40	66,80	80,40
	B-3	micélio ⁽²⁾	0,26	0,16	0,15
		esporo	6,00	6,10	8,10
alternada	B-2	micélio	103,60	107,60	98,80
		esporo	62,80	64,80	65,20
	B-3	micélio ⁽²⁾	0,06	0,05	0,13
		esporo	4,90	8,10	6,90
escuro	B-2	micélio	62,80	72,80	67,60
		esporo	24,40	34,40	36,40
	B-3	micélio ⁽²⁾	0,02	0,04	0,03
		esporo	0,50	0,20	0,20

(1) - Média de 10 contagens por placa de Petri, salvo nos casos assinalados com (2) em que a contagem foi feita em toda a placa e posteriormente feita a conversão para picnídios por 84,91 mm²; correspondente à área de um campo microscópico sob 20 aumentos.

QUADRO XII - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XI transformados em \sqrt{x} , referentes à influência da luz e do tipo de inóculo utilizado sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolados B-2 e B-3.

Causa de Variação	GL	SQ	QM	F
Inóculo	1	20,9520	20,9520	238,91 **
Luz d. de micélio	2	8,4302	4,2151	48,06 **
Luz d. de esporo	2	15,5214	7,7607	88,49 **
(Dentro do Isolado B-2)	(5)	(44,9036)	-	-
Inóculo	1	11,5840	11,5840	132,09 **
Luz d. de micélio	2	0,1057	0,0528	0,602
Luz d. de esporo	2	8,3243	4,1622	47,46 **
(Dentro do Isolado B-2)	(5)	(20,0139)	-	-
Isol. B-2 Vs. Isol. B-3	1	494,6176	494,6176	5.639,88 **
(Tratamentos)	(11)	(559,5352)	-	-
Resíduo	24	2,1040	0,0877	-
Total	35	561,6392	-	-

** - significativo a 1%

CV = 6,17%

TESTE DE TUKEY

a) Influência da luz para o caso de utilização de micélio como inóculo, Isol. B-2

Luz d. de micélio	Médias
contínua	10,37 a
alternada	10,16 a
escuro	8,22 b

dms a 5% = 0,60

b) Influência da luz para o caso de utilização de suspensão de esporos como inóculo, Isol. B-2

Luz d. de esporos	Médias
contínua	8,66 a
alternada	8,01 b
escuro	5,61 c c

dms a 5% = 0,60

c) Influência da luz para o caso de utilização de esporos como inóculo, Isol. B-3

Luz d. de esporos	Médias
contínua	2,59 a
alternada	2,56 a
escuro	0,54 b

dms a 5% = 0,60

QUADRO XIII - Influência da irradiação e das condições de luz durante a incubação sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B-2. Jaboticabal, 1971.

Tratamentos			Notas atribuídas segundo a formação de picnídios nas repetições (1)	
Irradiação	Luz	Meio	I	II
10 seg	Escuro	G5Ni0,2	2	2
		BDA	3	3
		MPA	3	3
	Alternada	G5Ni0,2	2	2
		BDA	3	3
		MPA	3	3
	Contínua	G5Ni0,2	4	3
		BDA	3	3
		MPA	4	4
30 seg	Escuro	G5Ni0,2	1	1
		BDA	3	3
		MPA	3	3
	Alternada	G5Ni0,2	2	2
		BDA	2	2
		MPA	3	3
	Contínua	G5Ni0,2	4	4
		BDA	3	3
		MPA	4	4
60 seg	Escuro	G5Ni0,2	1	1
		BDA	4	4
		MPA	3	3
	Alternada	G5Ni0,2	1	1
		BDA	2	2
		MPA	4	3
	Contínua	G5Ni0,2	4	3
		BDA	2	2
		MPA	4	4
s/irrad.	Escuro	G5Ni0,2	1	1
		Alternada	1	1
		Contínua	2	2
	Escuro	BDA	3	2
		Alternada	1	1
		Contínua	2	3
	Escuro	MPA	1	1
		Alternada	1	1
		Contínua	4	3

(1) - Notas atribuídas segundo escala contida no Quadro I, cada repetição representada por uma placa de Petri.

QUADRO XIV - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XIII, transformados em \sqrt{x} , referentes à influência da irradiação e das condições de luz sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, avaliadas através da formação de picnídios.

Causa de Variação	GL	SQ	QM	F
Irradiação	3	0,6463	0,2154	31,22 **
Luz d. de s/ irradiação	2	0,2241	0,1120	16,23 **
Luz d. de 10 seg	2	0,2760	0,1380	20,00 **
Luz d. de 30 seg	2	1,0108	0,5054	73,25 **
Luz d. de 60 seg	2	0,9976	0,4988	72,29 **
(Dentro do meio G5N10,2)	(11)	(3.1549)	-	-
Irradiação	3	0,3899	0,1300	18,84 **
Luz d. de s/ irradiação	2	0,4332	0,2166	31,39 **
Luz d. de 10 seg	2	0,00	0,00	-
Luz d. de 30 seg	2	0,1365	0,0682	9,88 **
Luz d. de 60 seg	2	0,4641	0,2320	39,62 **
(Dentro do meio BDA)	(11)	(1.4238)	-	-
Irradiação	3	1,3529	0,4510	65,36 **
Luz d. de s/ irradiação	2	0,9976	0,4988	72,29 **
Luz d. de 10 seg	2	0,0972	0,0486	7,04 **
Luz d. de 30 seg	2	0,0972	0,0486	7,04 **
Luz d. de 60 seg.	2	0,0728	0,0364	5,28 *
(Dentro do meio MPA)	(11)	(2,6178)	-	-
Entre os meios de cultura	2	1,3863	0,6932	100,46 **
(Tratamentos)	(35)	(8,5828)	-	-
Resíduo	36	0,2482	0,0069	-
Total	71	8,8310		

* - significativo a 5%

** - significativo a 1%

CV = 5,36%

TESTE DE TUKEY - Formação de picnídios

a) Irradiação - Meio G5N10,2

Irradiação d. G5N10,2	Media
s/ irrad.	1,14 c
10 seg	1,56 a
30 seg	1,47 a
60 seg	1,29 b

dms a 5% = 0,13

b) Luz dentro de s/ irradiação - Meio G5N10,2

Luz d. de s/ irrad.	Média
Escuro	1,00 b
Alternada	1,00 b
Contínua	1,41 a

dms a 5% = 0,20

c) Luz dentro de 10 seg de irradiação - Meio G5N10,2

Luz d. de 10 seg	Média
Escuro	1,41 b
Alternada	1,41 b
Contínua	1,86 a

dms a 5% = 0,20

d) Luz dentro de 30 seg de irradiação - Meio G5N10,2

Luz d. de 30 seg	Média
Escuro	1,00 c
Alternada	1,41 b
Contínua	2,00 a

dms a 5% = 0,20

e) Luz dentro de 60 seg de irradiação - Meio G5N10,2

Luz d. de 60 seg	Média
Escuro	1,00 b
Alternada	1,00 b
Contínua	1,86 a

dms a 5% = 0,20

f) Irradiação - Meio BDA

Irradiação d. BDA	Média
s/ irrad.	1,38 b
10 seg	1,73 a
30 seg	1,62 a
60 seg	1,61 a

dms a 5% = 0,13

g) Luz dentro de s/ irradiação - Meio BDA

Luz d. de irrad.	Média
Escuro	1,57 a
Alternada	1,00 b
Contínua	1,57 a

dms a 5% = 0,20

h) Luz dentro de 30 seg de irradiação - Meio BDA

Luz d. de 30 seg	Média
Escuro	1,73 a
Alternada	1,41 b
Contínua	1,73 a

dms a 5% = 0,20

i) Luz dentro de 60 seg de irradiação - Meio BDA

Luz d. de 60 seg	Média
Escuro	2,00 a
Alternada	1,41 b
Contínua	1,41 b

dms a 5% = 0,20

j) Irradiação - Meio MPA

Irradiação d. MPA	Média
s/ irrad.	1,29 -b
10 seg	1,82 a
30 seg	1,82 a
60 seg	1,86 a

dms a 5% = 0,13

k) Luz dentro de sem irradiação - Meio MPA

Luz d. de s/ irrad.	Média
Escuro	1,00 b
Alternada	1,00 b
Contínua	1,86 a

dms a 5% = 0,20

l) Luz dentro de 10 ou 30 seg de irradiação - Meio MPA

Luz d. de 10 ou 30 seg	Média
Escuro	1,73 b
Alternada	1,73 b
Contínua	2,00 a

dms a 5% = 0,20

m) Luz dentro de 60 seg de irradiação - Meio MPA

Luz d. de 60 seg	Média
Escuro	1,73 b
Alternada	1,86 ab
Contínua	2,00 a

dms a 5% = 0,20

n) Entre meios

Meio	Média
G5N10,2	1,36 c
BDA	1,58 b
MPA	1,70 a

dms a 5% = 0,06

QUADRO XV - Influência da irradiação e das condições de luz durante a incubação sobre a reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B-2. Jaboticabal, 1971.

Tratamento			Notas atribuídas segundo a exsudação de conídios nas repetições (1)	
Irradiação	Luz	Meio	I	II
10 seg	Escuro	G5Ni0,2	1	1
		BDA	1	1
		MPA	2	2
	Alternada	G5Ni0,2	1	1
		BDA	1	1
		MPA	1	1
	Contínua	G5Ni0,2	2	2
		BDA	1	1
		MPA	1	1
30 seg	Escuro	G5Ni0,2	2	1
		BDA	2	2
		MPA	2	2
	Alternada	G5Ni0,2	1	1
		BDA	1	1
		MPA	1	1
	Contínua	G5Ni0,2	3	3
		BDA	2	1
		MPA	2	1
60 seg	Escuro	G5Ni0,2	1	1
		BDA	2	2
		MPA	2	1
	Alternada	G5Ni0,2	1	1
		BDA	1	1
		MPA	1	1
	Contínua	G5Ni0,2	3	2
		BDA	1	1
		MPA	3	2
s/irrad.	Escuro	G5Ni0,2	1	1
		BDA	1	1
		MPA	2	2
	Alternada	BDA	1	1
		BDA	1	1
		MPA	1	1
	Contínua	BDA	1	1
		MPA	1	1
		MPA	1	1

(1) Notas atribuídas segundo escala contida no Quadro I, cada repetição representada por uma placa.

QUADRO XVI - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XV, transformados em \sqrt{x} , referentes à influência da irradiação e das condições de luz durante a incubação, avaliada através da atribuição de notas segundo exsudação de confídios em 3 meios de cultura.

Causa de Variação	GL	SQ	QM	F
Irradiação (Ir)	3	0,1227	0,0409	3,35 *
Luz (L)	2	1,3673	0,6836	56,03 **
Interação Ir x L	6	0,0811	0,0135	1,11
(Dentro do meio G5Ni0,2)	(11)	(1,5711)	-	-
Irradiação	3	0,1891	0,0630	5,16 **
Luz d. de s/ irradiação	2	0,0	-	-
Luz d. de 10 seg	2	0,0	-	-
Luz d. de 30 seg	2	0,1680	0,0840	6,89 **
Luz d. de 60 seg	2	0,2241	0,1120	9,18 **
(Dentro do meio BDA)	(11)	(0,5813)	-	-
Irradiação	3	0,2246	0,0749	6,14 **
Luz d. de s/ irradiação	2	0,0	-	-
Luz d. de 10 seg	2	0,2241	0,1120	9,18 *
Luz d. de 30 seg	2	0,1680	0,0840	6,89 *
Luz d. de 60 seg	2	0,3334	0,1667	13,66 **
(Dentro do meio MPA)	(11)	0,9503	-	-
Entre meios de cultura	2	0,1425	0,0712	5,84 **
(Tratamentos)	(35)	(3,2453)	-	-
Resíduo	36	0,4386	0,0122	-
Total	71	3,6839	-	-

* - significativo a 5%

** - significativo a 1%

CV = 9,67%

TESTE DE TUKEY - exsudação de confídios

a) Irradiação - Meio G5N10,2

Irradiação d. G5N10,2	Média
s/ irrad.	1,14 b
10 seg	1,14 b
30 seg	1,31 a
60 seg	1,19 ab

dms a 5% = 0,17

b) Influência da luz - Meio G5N10,2

Luz d. G5N10,2	Média
Escuro	1,05 b
Alternada	1,00 b
Contínua	1,53 a

dms a 5% = 0,27

c) Irradiação - Meio BDA

Irradiação d. BDA	Média
s/ irrad.	1,00 b
10 seg	1,00 b
30 seg	1,20 a
60 seg	1,14 ab

dms a 5% = 0,17

d) Luz dentro de 30 seg de irradiação - Meio BDA

Luz d. de 30 seg	Média
Escuro	1,41 a
Alternada	1,00 b
Contínua	1,20 ab

dms a 5% = 0,27

e) Luz dentro de 60 seg da irradiação - Meio BDA

Luz d. de 60 seg	Média
Escuro	1,41 a
Alternada	1,00 b
Contínua	1,00 b

dms a 5% = 0,27

f) Irradiação - Meio MPA

Irradiação d. MPA	Média
s/ irrad.	1,00 b
10 seg	1,14 ab
30 seg	1,20 a
60 seg	1,26 a

dms a 5% = 0,17

g) Luz dentro de 10 seg de irradiação - Meio MPA

Luz d. de 10 seg	Média
Escuro	1,41 a
Alternada	1,00 b
Contínua	1,00 b

dms a 5% = 0,27

h) Luz dentro de 30 seg de irradiação - Meio MPA

Luz d. de 30 seg	Média
Escuro	1,41 a
Alternada	1,00 b
Contínua	1,20 ab

dms a 5% = 0,27

i) Luz dentro de 60 seg de irradiação - Meio MPA

Luz d. de 60 seg	Média
Escuro	1,20 b
Alternada	1,00 b
Contínua	1,57 a

dms a 5% = 0,27

j) Entre os meios de cultura

Meios	Média
GSN10,2	1,19 a
BDA	1,09 b
MPA	1,15 ab

QUADRO XVII - Peso seco de micélio de *A. phaseolorum*, cultivado em meio líquido de batata-dextrose com diferentes níveis de pH. Jaboticabal, 1971.

pH	Peso seco de micélio em mg obtido nas repetições				Média
	I	II	III	IV	
4,0	201,7	194,9	124,8	85,5	151,7
4,5	229,4	224,7	169,9	201,3	206,3
5,0	250,8	237,2	234,0	180,1	225,5
5,5	240,6	162,8	208,3	105,5	179,3
6,0	163,7	234,9	203,5	145,8	187,0
7,0	176,9	187,0	164,6	145,7	168,6

QUADRO XVIII - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XVII, referentes ao peso seco de micélio de *A. phaseolorum*, cultivado em BD com diferentes níveis de pH.

Causa da variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	13.997,96	2.799,5920	1,64
Resíduo	18	30.677,02	1.704,2789	-
Total	23	44.674,98		

CV = 22,15%

QUADRO XIX - Influência da reação hidrogeniônica do meio de cultura na reprodução de *A. phaseolorum*, isolado B-2, em G5N10,1. Jaboticabal, 1972

pH	Número de picnídios por campo microscópico sob 64 aumentos nas repetições (1)			
	I	II	III	IV
3,5	7,1	5,1	8,6	5,9
4,0	11,5	14,5	16,4	10,6
4,5	8,5	8,1	5,7	11,7
5,0	15,8	10,3	11,9	9,8
5,5	16,4	10,0	13,0	10,5
6,0	12,2	10,9	16,2	13,0
6,5	10,0	10,9	7,0	13,7
7,0	7,0	10,5	7,5	10,8
7,5	8,4	5,1	3,5	6,8
8,0	3,9	3,8	5,5	7,6

(1) Os dados representam média de 10 campos por repetição.

QUADRO XX - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XIX transformados para \sqrt{x} , referentes à influência da reação hidrogeniônica do meio na reprodução de *A. phaseolorum*

Causa de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	9	9,3204	1,0356	7,19 **
Resíduo	30	4,3221	0,1441	-
Total	39	13,6425	-	-

** - significativo a 1%

CV = 12,45

TESTE DE TUKEY

pH	Médias	pH	Médias
3,5	2,57 bcd	6,0	3,60 a
4,0	3,63 a	6,5	3,20 abc
4,5	2,90 abcd	7,0	2,98 abcd
5,0	3,44 ab	7,5	2,41 cd
5,5	3,52 a	8,0	2,26 d

dms a 5% = 0,91

QUADRO XXI - Reação de 2 variedades de Berinjela a 2 isolados de *A. phaseolorum* e a um isolado de *P. vexans*, inoculados por pulverização. Jaboticabal, 1974.

Tratamento		Índice de doença obtido nas repetições (1)		
Isolado	Variedade	I	II	III
Pv	Embu	2,00	1,25	2,00
	Híbrida	0,75	0,50	1,00
B-2	Embu	0,75	0,75	1,25
	Híbrida	0,75	0,50	0,50
B-3	Embu	3,00	3,50	1,75
	Híbrida	0,75	0,75	0,50
Test.	Embu	0,50	0,50	0,50
	Híbrida	0,50	0,50	0,50

(1) Média de 2 plantas por vaso, indicando o índice de doença, segundo escala de notas contida no Quadro 2.

QUADRO XXII - Análise de variância dos dados contidos no Quadro XXI, transformados em \sqrt{x} , referentes à reação de variedades de Berinjela a 2 isolados de *A. phaseolorum* e a um isolado de *P. vexans*, inoculados por pulverização.

Causa de Variação	GL	SQ	QM	F
Isolados	2	0,4182	0,2091	9,91 **
Variedade d. de Pv	1	0,3082	0,3082	14,61 **
Variedade d. de B-2	1	0,0542	0,0542	2,57
Variedade d. de B-3	1	1,0168	1,0168	48,19 **
(Dentro de Inoculados)	(5)	(1,7974)	-	-
Dentro de não Inoculados	1	0,0	0,0	-
Inoculados Vs. não Inocul.	1	0,5443	0,5443	25,80 **
(Tratamentos)	(7)	(2,3417)	-	-
Resíduo	16	0,3375	0,0211	-
Total	23	2,6792	-	-

** - significativo a 1%

CV = 14,96%

TESTE DE TUKEY - Reação das variedades à inoculação por pulveri-
zação

a) Entre isolados em Embu + Híbrida

Isolado	Média
Pv	1,09 a
B-2	0,86 b
B-3	3,23 a

dms a 5% = 0,22

b) Isolados dentro da var. Embu:

Isolado d. var. Embu	Média
Pv	1,31 b
B-2	0,95 c
B-3	1,64 a

dms a 5% = 0,31

c) Isolados dentro da var. Híbrida

Isolado d. var. Híbrida	Média
Pv	0,86
B-2	0,76
B-3	0,82

dms a 5% = 0,31

QUADRO XXIII - Reação de 2 variedades de Berinjela a 2 isolados de *A. phaseolorum* e a um isolado de *P. vexans*, inoculados por injeção. Jaboticabal, 1974.

Tratamentos		Índice de doença obtido nas repetições (1)		
Isolado	Variedade	I	II	III
Pv	Embu	1,75	0,50	0,50
	Híbrida	0,75	0,50	0,50
B-2	Embu	2,50	0,75	2,50
	Híbrida	2,50	2,00	3,00
B-3	Embu	3,50	3,50	4,00
	Híbrida	3,00	1,25	2,00
Test.	Embu	0,50	0,50	0,50
	Híbrida	0,50	0,50	0,50

(1) Média de 2 plantas por vaso, indicando o índice de doença segundo escala de notas contidas no Quadro 3.

QUADRO XXIV - Análise da variância dos dados contidos no Quadro XXIII, transformados em \sqrt{x} , referentes à reação de 2 variedades de Berinjela a 2 isolados de *A. phaseolorum* e a um isolado de *P. vexans*, inoculados por injeção.

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Isolados	2	2,2279	1,1140	20,98 **
Variedade d. de Pv	1	0,0338	0,0338	0,637
Variedade d. de B-2	1	0,0794	0,0794	1,50
Variedade d. de B-3	1	0,3650	0,3650	6,87 *
(Dentro de Inoculados)	(5)	(2,7061)	-	-
Dentro de não Inoculados	1	0,0	0,0	-
Inoculados Vs. não Inoculados	1	1,6805	1,6805	31,65 **
(Tratamentos)	(7)	(4,3866)	-	-
Resíduo	16	0,8499	0,0531	-
Total	23	5,2365	-	-

* - significativo a 5%

** - significativo a 1%

CV = 19,72%

TESTE DE TUKEY - Reação das Variedades à inoculação por injeção

a) Entre isolados em Embu + Híbrida

Isolado	Média
Pv	0,84 b
B-2	1,46 a
B-3	1,67 a

dms a 5% = 0,34

b) Isolados dentro da var. Embu

Isolado d. var. Embu	Média
Pv	0,91 b
B-2	1,34 b
B-3	1,91 a

dms a 5% = 0,49

c) Isolados dentro da variedade Híbrida

Isolados d. var. Híbrida	Média
Pv	0,76 b
B-2	1,57 a
B-3	1,42 a

dms a 5% = 0,49