

ERLEI MELO REIS  
Engenheiro Agrônomo  
UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
Secretaria da Agricultura  
R.G.S.

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO DE  
*Colletotrichum dematium* f. *truncata* (Schw.)  
Von ARX NA REAÇÃO DE VARIEDADES DE SOJA  
(*Glycine max* (L.) Merr.)

Orientador: Prof. Dr. Hiroshi Kimati

Tese apresentada à Escola  
Superior de Agricultura  
"Luiz de Queiroz", da U-  
niversidade de São Paulo,  
para obtenção do Grau de  
Mestre.

PIRACICABA - São Paulo  
1973

E R R A T A

<u>Página</u>	<u>Onde se lê:</u>	<u>Leia-se :</u>
1 (9ª linha)	<u>Colleletotrichum</u>	<u>Colletotrichum</u>
5 (5ª linha)	apresentam	apresentam
7 (título)	Preparo de suspensão de esporos...	Preparo da sus- pensão...
7 (19ª linha)	Drigalski	Drigalsky
8 (3ª linha)	Colônia	Colônia
20 (4ª linha)	Phs.	phs.
29 (título 4.6)	...Reação de "r" va- riedades...	Reação de 5 va- riedades...
38 (19ª linha)	...quando superpuse- rem...	...quando super- puseram...
46 (3ª linha)	...fitopatológicas..	...fitopatológi- cos...
46 (8ª linha)	<u>Glomerela cingulata</u>	<u>Glomeralla cin- gulata</u>
46 (15ª linha)	<u>Ascohyta pisi</u>	<u>Ascochyta pisi</u>
47 (16ª linha)	Burgess.	Burgess.

A

meus pais,

esposa

e

filhos

DEDICO

## A G R A D E C I M E N T O S

Nossos agradecimentos:

À Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, à Universidade de Passo Fundo, à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" os quais tornaram possível a participação no Curso de Pós-Graduação e a materialização desta pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul pela bolsa recebida.

Ao professor dr. Hiroshi Kimati, pela valiosa colaboração como orientador deste trabalho e pela revisão dos originais.

Aos professores dr. Eric Balmer e dr. Clélio L. Salgado pela prestimosa colaboração na revisão dos originais e sugestões.

Ao dr. Décio Barbin do Departamento de Matemática e Estatística, por sua colaboração na parte estatística deste trabalho.

Ao dr. C. Allison pela versão para o inglês do resumo.

Aos colegas Peri Veiga e Antônio D. de Toledo.

Aos demais colegas do Curso de Pós-Graduação de Fitopatologia

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



# I N D I C E

	Página
1 - INTRODUÇÃO .....	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA .....	2
3 - MATERIAIS E MÉTODOS .....	6
3.1 - Influência de meios de cultura e superposi- ção de papel de filtro na esporulação de <i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	6
3.1.1 - Isolado .....	6
3.1.2 - Meios de Cultura e Tratamentos ...	6
3.1.3 - Preparo da suspensão de esporos, mē- todo de plaqueamento e incubação .	7
3.1.4 - Método de Avaliação .....	7
3.2 - Influência do pH na esporulação de <i>C. dema-         tium</i> f. <i>truncata</i> .....	8
3.3 - Influência da luz na esporulação de <i>C. dema-         tium</i> f. <i>truncata</i> .....	8
3.4 - Reação de 93 variedades de soja a <i>C. dema-         tium</i> f. <i>truncata</i> .....	9
3.4.1 - Isolado .....	9
3.4.2 - Obtenção do inóculo (e preparo) ...	9
3.4.3 - Método de inoculação .....	9
3.4.4 - Variedades utilizadas .....	10
3.4.5 - Método de avaliação .....	10
3.5 - Reação de 8 variedades de soja a <i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	11
3.6 - Influência da concentração do inóculo na rea- ção de 5 variedade de soja a <i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	11

4 - RESULTADOS .....	17
4.1 - Influência de meios de cultura e superposição de papel de filtro na esporulação de <i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	17
4.2 - Influência do pH na esporulação de <i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	18
4.3 - Influência da luz na esporulação de <i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	20
4.4 - Reação de 93 variedades de soja a <i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	21
4.5 - Reação de 8 variedades de soja a <i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	27
4.6 - Influência da concentração do inóculo na reação de variedade de soja a <i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	29
5 - DISCUSSÃO .....	38
6 - CONCLUSÕES .....	42
7 - RESUMO .....	43
8 - SUMMARY .....	44
9 - BIBLIOGRAFIA .....	45
10 - APÊNDICE .....	49

## 1 - INTRODUÇÃO

A cultura da soja no Brasil, 3º produtor mundial dessa leguminosa, tem experimentado, nos últimos anos, uma taxa de crescimento de 32% ao ano, bastante superior à verificada pela produção mundial (\*). Este vertiginoso crescimento se faz à custa da expansão da área de plantio, sem, muitas vezes, levar em consideração as doenças, fatores negativos da produção que podem, nessas circunstâncias, causar sérios transtornos. Uma dessas doenças é a Antracnose, causada por *Colletotrichum dematium* f. *truncata* (Schw.) Von ARX, que na falta de mais estudos, não se pode afirmar com exatidão quanto de prejuízos esteja acarretando mas que, pelas observações de campo, aparece frequentemente causando "damping-off" e morte prematura de plantas.

O presente trabalho tem por objetivo a pesquisa de fontes de resistência à Antracnose em "seedlings" de soja, controlando-se a concentração de inóculo, importante fator que se deve levar em consideração em trabalhos dessa natureza, como já foi realçado por WALKER (24). Tendo em vista a falta de dados quanto à obtenção do inóculo, pré-requisito essencial para trabalhos de inoculação controlada, também se estudou a influência de alguns fatores na esporulação do agente de Antracnose, para facilitar os trabalhos subsequentes.

-.-.-.-.  
--.---.---  
-.-.-.-.  
(\* ) - Dados do Prognóstico 72/73



## 2 - REVISÃO DE LITERATURA:

A Antracnose da soja foi constatada pela primeira vez, em 1917, por Takimoto, em Suigen, Coréia, e o organismo envolvido foi identificado, por Hemi, como *Colletotrichum glycines* Hori (LEHMAN & WOLF (13)). Esses últimos autores foram os primeiros a fazer teste de patogenicidade e reisolamento satisfazendo os postulados de Koch. Estudos morfológicos e de inoculação cruzada desenvolvidos por HOLDEMAN (8) e TIFFANY & GILMAN (18) levaram os últimos autores a concluir que *Colletotrichum glycines* Hori é indistinguível de *Colletotrichum truncatum* (Schw). Andrus & Moore, devendo prevalecer este nome por prioridade. VON ARX (22), em sua revisão taxonômica do gênero *Colletotrichum*, agrupou as espécies com conídios fusiformes, com largura média de 4 micra, numa espécie única, *Colletotrichum dematium*, dentro da qual *C. dematium* f. *truncata* é a forma especializada sobre leguminosas. Tal colocação foi baseada em TIFFANY & GILMAN (18) e admite como hospedeiros desse fungo: *Phaseolus vulgaris*, *P. lunatus*, *Medicago sativa*, *Melilotus alba*, *Trifolium pratense*, *Glycine max*, *Vicia villosa*, *Lotus purshianus*, *Pisum sativum* e *Trifolium repens*, VON ARX (22). Essas considerações fazem supor que o fungo da Antracnose da soja não apresenta raças virulentas, porém apenas raças agressivas, conforme conceituadas por Van der PLANK (21), apesar de TIFFANY & GILMAN (18), corroborando trabalho de HOLDEMAN (8), terem observado que iso-



lados de soja foram levemente mais patogênicos à soja e isolados de feijão de Lima levemente mais patogênicos ao feijão de Lima.

Os danos ocasionados pela Antracnose na soja foram, primeiramente descritos por LEHMAN & WOLF (13) que a consideraram uma doença de caule e vagens, atingindo seus mais destrutivo estágio de desenvolvimento no fim do verão, quando as vagens estão amadurecendo, especialmente durante períodos chuvosos; plantas afetadas, irregularmente distribuídas no campo, podem ser facilmente reconhecidas em consequência de sua morte prematura. Posteriormente, LING (14) descobriu que o fungo era um importante fator na morte de "seedlings", causando "damping-off" de pré e pós-emergência. TIF FANY (17), examinando mais intensamente o desenvolvimento do parasita em relação ao do hospedeiro, chegou à conclusão que a semente contaminada era responsável por três tipos de infecção sobre soja: 1) morte de pré-emergência; 2) crestamento de "seedlings" e 3) estabelecimento de micélio interno sem sintoma. Investigando detalhadamente o terceiro tipo, descobriu que o micélio de cotilédones infectados se estabelece nas células corticais do caule sem aparente efeito sobre elas e permanece localizado até que a época do florescimento, quando, então, reassume o crescimento, penetrando na parte inferior do caule, pecíolos, folhas, vagens e sementes em desenvolvimento, ainda sem a manifestação imediata de sintomas. Observou finalmente, que na maturidade do hospedeiro, sob con-

dições apropriadas, o fungo pode frutificar abundantemente sobre caules e vagens assim infectados.

No Brasil, o primeiro relato da ocorrência do fungo da Antracnose da soja foi feito por TOCHETTO e cols. (19) que o identificaram como *Colletotrichum truncatum*. Anteriormente VIEGAS (23) citara um *Colletotrichum* em soja, porém, sem especificá-lo e sem se referir ao local exato de sua ocorrência, se no Brasil ou em outro país da América do Sul. Bem recentemente, ISSA (9), abordando problemas fitopatológicos da soja na safra 72/73, reponsabilisa a Antracnose como a principal causa do "mosqueado" de plantas amareladas no meio de plantas normais e chama a atenção para a possibilidade de a doença se tornar sério problema no futuro.

Os trabalhos sobre Antracnose em soja são muito escassos, não tendo sido encontrada, na literatura disponível, nenhuma referência quanto à pesquisa de fontes de resistência, apesar de TIFFANY (17) sugerir a existência de resistência, quando comenta que a doença se tornou de importância potencial devido ao uso de técnicas agronômicas e genéticas para obter seleções melhor adaptadas para usos específicos e estações de cultivo.

Pesquisa de fontes de resistência necessita de conhecimento prévio sobre obtenção do inóculo, método de inoculação e classificação de plantas quanto à reação patológica. Quanto a inoculação, LING (14) conseguiu bons resultados, mais tarde repetidos por TIFFANY (17), inoculando as semen-

tes por imersão em suspensão de esporos.

A obtenção de inóculo de *Colletotrichum* da soja foi apenas referida por TIFFANY (17) que o conseguiu em meio de BDA, ou em haste de soja esterelizada, 5 a 7 dias após a inoculação, mas sem apresentar dados quantitativos. Tendo em vista o grande número de fatores que podem influir na esporulação de fungos em geral, como nutrição, pH, luz, etc., HAWKER (6), é evidente que faltam estudos abordando esses aspectos.

O problema da classificação quanto à reação patológica foi abordado por GAUMANN (5) que, considerando ser a resistência ou suscetibilidade um fenômeno relativo, cita seis diferentes critérios possíveis de serem usados para avaliar variações quantitativas de suscetibilidade. Um desses critérios, o limiar numérico de infecção, é explicado por Gaumann com um exemplo baseado em dados de HEALD (7): se são necessários 5.000 esporos por planta para induzir 60% de infecção de série na variedade de trigo Jenkins club e mais ou menos 100.000, i. é, 20 vezes mais, na variedade Marquis, então o primeiro é mais suscetível que o último.

Num contexto mais amplo de controle de fatores ambientais na seleção de variedades resistentes, WALKER (24) analisa alguns trabalhos em que a concentração do inóculo desempenha importante papel, principalmente em doenças cuja resistência é do tipo quantitativo.



### 3 - MATERIAIS E MÉTODOS:

A presente investigação foi realizada nos laboratórios e casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, Piracicaba, entre outubro de 1972 e agosto de 1973.

#### 3.1 - Influência de meios de cultura e superposição de papel de filtro na esporulação de *C. dematiun* f. *truncata*.

##### 3.1.1 - Isolado:

A cultura utilizada foi isolada de vagens de soja, variedade Bragg, coletada, no município de Marau, R.G.S., em 03/04/1972. Após reprodução de sintomas por inoculação de sementes da variedade Bragg o fungo foi identificado, confrontando-se-o com as descrições de LEHMAN & WOLF (13), ANDRUS & MOORE (1), TIFFANY (17) e Von ARX (22). A cultura foi mantida no decorrer dessa investigação, recobrando-se a superfície da cultura, em tubo de ensaio contendo BDA, com uma camada de óleo, conforme DADE (4).

##### 3.1.2 - Meios de cultura e tratamentos:

Foram testados 4 meios de cultura (V-8 agar, farinha de aveia agar, BDA e meio de glucose nitrato), com e sem superposição de papel de filtro na superfície dos meios



solidificados, perfazendo um total de 8 tratamentos. Os meios de V-8 agar (Suco V-8, 300 ml,  $\text{CaCO}_3$ , 4,5 g; agar, 15 g; e água q.s.p. 1.000 ml) de farinha de aveia agar (farinha de aveia, 60g; agar, 12g; e água, q.s.p. 1.000 ml) e BDA (Extra<sub>to</sub> de batata, 200g; dextrose, 20g; agar, 12g; e água, q.s.p. 1.000 ml) foram feitos segundo TUITTE (20) e o de glucose nitrato (Glucose, 5g;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0,6g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,5g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1g; agar, 20g e água q.s.p. 1.000 ml) segundo KIMATI & GALLI (11), todos com pH inicial ajustado a 6,0 antes da autoclavagem. Tais meios, após esterilização em autoclave (15 minutos e 1 atmosfera), foram vertidos em caixas de Petri de modo a se ter 4 repetições por tratamento.

### 3.1.3 - Preparo de suspensão de esporos, método de plaqueamento e incubação:

A suspensão de esporos foi preparada, utilizando-se conídios produzidos em tubos de ensaio, com BDA inclinado, com 7 a 10 dias de idade, na proporção de 1 tudo de cultura par 125 ml de água esterilizada. 0,1 ml dessa suspensão foi transferida e espalhada com alça de Drigalsky. As placas foram mantidas em condições ambientais de laboratório e a temperatura oscilou de 25 a 33°C.

### 3.1.4 - Método de avaliação:

A avaliação foi feita pela contagem do número de conídios por placa de Petri, em Homocitômetro. Para isto,

foram tomadas 4 amostras e contados 5 campos em cada lâmina. A suspensão foi obtida por lavagem e pincelamento superficial da colônia, procurando-se remover apenas conídios.

### 3.2 - Influência do pH na esporulação de *C. dematium* f. *truncata*:

Neste ensaio foi usado o meio de aveia agar, ajustando-se o pH, com HCl 0,1 N ou Na OH 0,1 N, antes da autoclavagem, para os seguintes valores: 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5 e 7,0. O isolado, preparo da suspensão, método de plaqueamento etc., foram semelhantes ao do ensaio anterior. Foi superposto papel de filtro, na superfície do meio, devido aos resultados positivos do ensaio anterior. As placas foram deixadas em condições ambientais de laboratório e a temperatura oscilou de 19 a 24°C.

### 3.3 - Influência da lua na esporulação de *C. dematiun* f. *truncata*:

Para este ensaio, utilizou-se o meio de aveia agar com papel de filtro superposto na superfície do meio e o pH ajustado para 4,5, devido aos resultados anteriormente obtidos ser este o melhor. A metodologia de obtenção da suspensão de conídios, plaqueamento, etc., foi semelhante 3.1.3. A incubação se deu sob as seguintes condições luminosas: No interior da Biotronete Mark III com luz contínua; com regime luminoso de 12 horas de luz e 12 horas de escuro; e com es-

curidão contínua. Um tratamento foi deixado em condições ambientais de laboratório. No interior da Biotronette a fonte luminosa consistiu de 2 tubos fluorescentes General Electric de 40 watts, luz do dia, r 40 ID e a distância da fonte a superfície foi de 27 cm. A escuridão foi obtida pelo envolvimento das placas de Petri com folhas de alumínio. Nessas condições foram incubadas durante 12 dias e a temperatura oscilou de 25 a 30º C.

### 3.4 - Reação de 93 variedades de soja a *C. dematium* f. *truncata*

#### 3.4.1 - Isolado:

O isolado usado neste ensaio foi o mesmo descrito em 3.1.1.

#### 3.4.2 - Obtenção e preparo do inóculo:

A metodologia da obtenção do inóculo foi semelhante e descrita em 3.1.3. Nos primeiros ensaios utilizou-se o meio de BDA e depois as combinações que melhor resultados deram com incubação em luz contínua.

#### 3.4.3 - Método de inoculação:

Na inoculação seguiu-se a técnica descrita por LING (14) e TIFFANY (17), com ligeiras modificações, i. é, a juste da concentração de esporos e tempo de exposição da se-



mente ao inóculo. A concentração do inóculo foi determinada por contagem em Hemocitômetro e por diluição foi ajustada para  $1,5 \times 10^6$  conídios por ml, número este baseado em ensaios preliminares de calibração da concentração. As sementes foram inoculadas pela imersão na suspensão dos conídios. Teve-se o cuidado de separar as sementes de cada vaso (dez) em caixas de Petri, tendo recebido 10 ml da suspensão do inóculo. As sementes das testemunhas receberam apenas água estéril. Após a inoculação procedeu-se imediatamente a semeadura em vasos de alumínio com as seguintes dimensões: 15 cm de diâmetro na boca, 10 cm de diâmetro na base e 16 cm de altura. O substrato para o cultivo das plantinhas foi solo autoclavado.

#### 3.4.4 - Variedades utilizadas:

As variedades de soja utilizados neste ensaio são apresentadas no quadro nº 1.

#### 3.4.5 - Métodos de avaliação:

Nos ensaios de reação varietal foram utilizados 2 métodos de avaliação: 1) peso das plantinhas desenvolvidas, aos 20 dias após o plantio (as plantinhas foram colhidas sendo em seguida, colocadas em estufa à temperatura de 75-80°C, até se obter a constância de peso) e 2) contagem do número de plantas que sobreviveram. Com o primeiro método foram avaliados 3 ensaios, feitos em épocas diferentes, cujos resul



tados estão no quadro nº 8. Com o segundo método avaliaram-se 2 ensaios, realizados em épocas diferentes, cujos resultados são apresentados no quadro nº 9.

### 3.5 - Reação de 8 variedades de soja a *C. dematium* f. *truncata*

As variedades de soja utilizadas neste ensaio selecionadas no experimento 3.4. foram as seguintes: IAC 1; PF-7134; Bragg; Pelicano; PF-7139; PF-7118, as quais apresentaram reações de resistência superior as demais, enquanto que para comparação acrescentou-se a variedade Hill, muito suscetível. Como a variedade Davis, a mais cultivada no RGS, não havia anteriormente, sido testada, foi acrescentada neste ensaio para conhecer-se a sua reação, seguiu-se a mesma metodologia descrita em 3.1.1., 3.4.2. e 3.4.3.

### 3.6 - Influência da concentração do inóculo na reação de 5 variedades de soja a *C. dematium* f. *truncata*

Para este ensaio foram escolhidas as variedades IAC-1, Bragg, Pelicano, Davis e Hill, as quais apresentaram reações de alta resistência, resistência intermediária e alta suscetibilidade. Deixou-se utilizar a variedade PF-7134 por apresentar baixa germinação, e em seu lugar foi colocada a variedade Davis. O isolado e a metodologia de inoculação foi semelhante a 3.4.3., com exceção da concentração do inóculo que foi calibrada por diluições sucessivas, após con-

tagem em Hemocitômetro, para:  $7,5 \times 10^5$ ,  $1,5 \times 10^6$ ,  $3,0 \times 10^6$  e  $6,0 \times 10^6$  de conídios por ml. Neste ensaio avaliou-se o número de plantinhas emergidas, o número de plantinhas que sobreviveram e finalmente, determinou-se o peso seco das últimas.

QUADRO 1: Variedades de soja utilizadas:

Variedade	Origem	Procedência
1. BIENVILLE	Estados Unidos	Coop. de Marau-RS
2. BRAGG	Estados Unidos	Coop. de Marau-RS
3. DAVIS	Estados Unidos	Coop. de Marau-RS
4. HALLE-7	Estados Unidos	Coop. de Marau-RS
5. HARDEE	Estados Unidos	Coop. de Marau-RS
6. HILL	Estados Unidos	Coop. de Marau-RS
7. L-326	I. A. C.	Coop. de Marau-RS
8. ABURA	(?)	I. A. C.
9. ALIANÇA-1	(?)	I. A. C.
10. ARAÇATUBA-2	I. A. C.	I. A. C.
11. ARAÇATUBA-7	I. A. C.	I. A. C.
12. IAC-1	I. A. C.	I. A. C.
13. IAC-2	I. A. C.	I. A. C.
14. MINEIRA	Estados Unidos	I. A. C.
15. PELICANO	Estados Unidos	I. A. C.
16. VIÇOJA	Estados Unidos	I. A. C.
17. PF-7017	IPEAS-EEPF-RS	IPEAS-EEPF-RS
18. PF-7018	" " "	" " "
19. PF-7020	" " "	" " "
20. PF-7024	" " "	" " "
21. PF-7025	" " "	" " "
22. PF-7026	" " "	" " "
23. PF-7028	" " "	" " "



Variedade	Origem	Procedência
24. PF-7029	IPEAS-EEPF-RS	IPEAS-EEPF-RS
25. PF-7037	" " "	" " "
26. PF-7038	" " "	" " "
27. PF-7039	" " "	" " "
28. PF-7040	" " "	" " "
29. PF-7043	" " "	" " "
30. PF-7046	" " "	" " "
31. PF-7052	" " "	" " "
32. PF-7054	" " "	" " "
33. PF-7056	" " "	" " "
34. PF-7057	" " "	" " "
35. PF-7059	" " "	" " "
36. PF-7060	" " "	" " "
37. PF-7061	" " "	" " "
38. PF-7063	" " "	" " "
39. PF-7067	" " "	" " "
40. PF-7113	" " "	" " "
41. PF-7114	" " "	" " "
42. PF-7115	" " "	" " "
43. PF-7117	" " "	" " "
45. PF-7118	" " "	" " "
46. PF-7119	" " "	" " "
47. PF-7120	" " "	" " "



Variedade	Origem	Procedência
48. PF-7122	IPEAS-EEPF-RS	IPEAS-EEPF-RS
49. PF-7123	" " "	" " "
50. PF-7124	" " "	" " "
51. PF-7125	" " "	" " "
52. PF-7126	" " "	" " "
53. PF-7127	" " "	" " "
54. PF-7128	" " "	" " "
55. PF-7129	" " "	" " "
56. PF-7130	" " "	" " "
57. PF-7131	" " "	" " "
58. PF-7132	" " "	" " "
59. PF-7133	" " "	" " "
60. PF-7134	" " "	" " "
61. PF-7135	" " "	" " "
62. PF-7136	" " "	" " "
63. PF-7137	" " "	" " "
64. PF-7138	" " "	" " "
65. PF-7139	" " "	" " "
66. PF-7141	" " "	" " "
67. PF-7142	" " "	" " "
68. PF-7143	" " "	" " "
69. PF-7144	" " "	" " "
70. PF-7145	" " "	" " "

Variedade	Origem	Procedência
71. PF-7146	IPEAS-EEPF-RS	IPEAS-EEPF-RS
72. PF-7147	" " "	" " "
73. PF-7148	" " "	" " "
74. PF-7149	" " "	" " "
75. PF-7150	" " "	" " "
76. PF-7168	" " "	" " "
77. PF-7169	" " "	" " "
78. PF-7170	" " "	" " "
79. PF-7172	" " "	" " "
80. PF-7173	" " "	" " "
81. PF-7174	" " "	" " "
82. PF-7175	" " "	" " "
83. PF-7176	" " "	" " "
84. PF-7177	" " "	" " "
85. PF-7178	" " "	" " "
86. PF-7179	" " "	" " "
87. PF-7180	" " "	" " "
88. PF-7182	" " "	" " "
89. PF-7183	" " "	" " "
90. PF-7184	" " "	" " "
91. PF-7185	" " "	" " "
92. PF-7187	" " "	" " "
93. PF-7188	" " "	" " "

OBS: Até a var. 16 a procedência foi indicada segundo Kiihl e Myiasaca (10)

4 - RESULTADOS:4.1 - Influência de meios de cultura e superposição de papel de filtro na esporulação de *C. dematium* f. *truncata*

Os resultados deste ensaio estão apresentados no quadro nº 2.

QUADRO 2: Influência de meios de cultura e super-posição de papel de filtro na esporulação de *C. dematium* f. *truncata*:

Tratamentos	Número de conídios ( $\times 10^8$ ) por placa nas repetições				
	1a.	2a.	3a.	4a.	5a.
BDA	8,00*	7,25	8,10	7,45	7,70
BDA + PF**	8,60	8,10	8,90	8,15	8,43
Glucose Nitrato	2,75	2,95	2,60	2,75	2,76
Gluc. Nitrato+PF	4,60	4,30	3,95	3,30	4,03
V-8	7,65	5,75	4,30	5,70	5,85
V-8+PF	7,10	8,15	9,05	9,35	6,07
Aveia	27,40	31,20	27,80	28,40	28,70
Aveia+PF	32,40	30,30	29,10	28,50	30,07

(\*) = Média de quatro contagens

(\*\*) = PF=Papel de filtro

A análise de variância do ensaio 4.1. é apresentada no quadro nº 3.



QUADRO 3: Análise da variância do ensaio 4.1.:

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Meios de cultura	3	3.323,56	1.107,85	938,86**
Papel de filtro	1	17,70	17,70	15,00**
Int. meios de cultura x papel de filtro	3	3,55	1,18	1,00
Resíduo	24	28,40	1,18	
Total	31	3.373,21		

\*\* = significativo ao nível de 1% de probabilidade

Teste de Tukey para 4 tratamentos (meios):

$\Delta = 1,50$  a 5% de probabilidade

C.V. = 9,83%

Os resultados mostram diferenças significativas entre os meios de cultura neste ensaio. A análise da variância também mostrou que a presença dos discos de papel de filtro sobre os meios solidificados aumentou significativamente a produção de esporos.

#### 4.2 - Influência do pH na esporulação de *C. dematium* f. *truncata*:

No quadro nº 4 são apresentados os resultados deste ensaio.

QUADRO 4: Influência do pH na esporulação de *C. dematium* f. *truncata*:

Tratamento	Número de conídios ( x10 <sup>8</sup> ) por placa nas repet.				
	1a.	2a.	3a.	4a.	Média
4,5	22,75*	22,50	25,00	26,00	24,06
5,0	16,50	16,75	20,75	16,10	17,53
5,5	15,25	16,50	17,00	19,25	17,00
6,0	15,00	17,75	17,50	17,00	17,00
6,5	20,00	20,00	17,00	19,00	19,00
7,0	11,50	12,00	14,00	11,00	12,13

(\*) = Média de quatro contagens

A análise da variância deste ensaio é apresentada no quadro nº 5.

QUADRO 5: Análise da variância do ensaio 4.2.:

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Tratamentos	5	296,87	59,37	22,32**
Resíduo	18	47,80	2,66	
Total	23	23	344,67	

(\*\*) = significativo ao nível de 1% de probabilidade

Teste de Tukey:  $\Delta = 3,67$  a 5% de probabilidade

C.V. = 9,16%

A análise da variância revelou significação na produção de conídios para o meio de cultura com pH 4,5, onde foi superior aos demais tratamentos. Quanto à produção de esporos para os meios com pHs 5,0 a 6,5 não houve diferenças significativas entre os mesmos. A esporulação em pH 7,0 foi significativamente inferior aos demais tratamentos e com formação abundante de setas mais do que nos demais meios.

4.3 - Influência da luz na esporulação de *C. dematium* f. *truncata*:

Os resultados deste ensaio são apresentados no quadro nº 6.

QUADRO 6: Influência da luz na esporulação de *C. dematium* f. *truncata*

Tratamentos	Número de conídios ( $\times 10^8$ ) por placa nas repetições				
	1a.	2a.	3a.	4a.	Média
Escuridão contínua					
interior Biotronette	0,20*	0,15	0,15	0,15	0,16
Fotoperíodo de 12 horas, int. Biotronette	12,00	16,00	20,25	20,00	17,00
Ambiente de laborat.	37,50	34,50	24,50	32,00	32,12
Luz cont. Biotronette	116,00	107,00	90,00	101,00	104,75

(\*) = Média de quatro contagens



A análise da variância do ensaio 4.3., é apresentada no quadro nº 7.

QUADRO 7: Análise da variância do ensaio 4.3.

Causa da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	3	25.432,12	8.478,71	268,48**
Resíduo	12	378,98	31,58	
Total	15	25.815,10		

(\*\*) = significativo ao nível de 1% de probabilidades

Teste de Tukey  $\Delta = 11,8$  a 5% de probabilidade

C.V. = 14,59%

A análise da variância deste ensaio revelou diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade entre todos os tratamentos de luz a que foi submetido *C. dematium f. truncata*. O melhor regime luminoso foi o de luz contínua no interior da Biotronette, onde houve a maior produção de conídios.

#### 4.4 - Reação de 93 variedades de soja a *C. dematium f. truncata*

Os resultados obtidos para a reação de 93 variedades são apresentados nos quadros 8 e 9.

Os primeiros ensaios em número de 3 foram estabelecidos em: 24.10.72, 5.11.72 e 24.11.72 e seus resultados estão no quadro nº 6.

QUADRO 8: Reação de 42 variedades de soja a *C. dematium* f.  
*truncata*:

Nº variedade	Peso em gramas	
	Testemunhas*	Inoculadas**
1. PF-7059	3,60	1,90
2. PF-7113	3,70	1,05
3. PF-7114	2,65	0,98
4. PF-7133	5,24	0,87*
5. PF-7060	4,66	0,82
6. PF-7063	3,72	0,70
7. ARAÇATUBA-7	4,92	0,65
8. PF-7131	4,62	0,62
9. PF-7061	2,94	0,55
10. PF-7115	3,16	0,53
11. PF-7187	2,67	0,53
12. PF-7136	3,65	0,49
13. PF-7176	2,81	0,48
14. PF-7141	2,66	0,35
15. PF-7128	3,79	0,34
16. PF-7129	3,92	0,34
17. PF-7117	2,85	0,32
18. PF-7046	3,84	0,32
19. PF-7168	3,83	0,32
20. PF-7182	2,85	0,32
21. PF-7116	4,48	0,30

Nº variedade	Peso em gramas	
	Testemunhas*	Inoculadas **
22. PF-7138	2,92	0,28
23. ABURA	3,16	0,21
24. PF-7170	2,82	0,19
25. PF-7130	4,52	0,14
26. PF-7180	3,09	0,13
27. ARAÇATUBA-2	4,78	0,16
28. PF-7052	5,00	0,12
29. PF-7185	2,50	0,10
30. PF-7172	2,84	0,07
31. PF-7178	2,45	0,07
32. PF-7175	2,83	0,07
33. PF-7173	1,99	0,06
34. PF-7183	2,04	0,05
35. PF-7067	1,96	0,05
36. PF-7132	5,44	0,00
37. PF-7177	3,29	0,00
38. PF-7169	1,96	0,00
39. PF-7188	5,92	0,00
40. PF. 7174	2,04	0,00
41. ALIANÇA-1	3,95	0,00
42. HILL	2,00	0,00

(\*) = Peso da plantas, contida em um vaso

(\*\*) = Peso das plantas média de três repetições



Os ensaios cujos resultados estão no quadro nº 9, foram em número de dois estabelecimentos em: 11.12.72 e 17.01.73.

QUADRO 9: Reação de 51 Variedades de soja a *C. dematium* f. *truncata*:

Nº Variedade	% de plantas que sobreviveram	
	Testemunhas *	Inoculadas **
43. IAC-1	80	60
44. PF-7118	100	55
45. BRAGG	100	43
46. PF-7054	100	40
47. PF-7134	100	30
48. PF-7146	80	30
49. PELICANO	90	30
50. PF-7139	100	20
51. PF-7124	100	20
52. PF-7018	90	20
53. PF-7148	100	15
54. PF-7145	90	15
55. PF-7043	70	15
56. PF-7040	90	15
57. L-326	100	15
58. BIENVILLE	95	15
59. PF-7028	90	10
60. PF-7147	90	10
61. PF-7024	100	10
62. PF-7020	50	10
63. PF-7149	90	10

Nº Variedade	% de plantas que sobreviveram	
	Testemunhas *	Inoculadas **
64. PF-7123	80	10
65. PF-7038	70	10
66. I.A.C.-2	80	6,6
67. VIÇOJA	90	6,6
68. PF-7184	80	6,6
69. PF-7039	100	6,6
70. PF-7122	90	6,6
71. PF-7125	80	6,6
72. PF-7056	100	6,6
73. PF-7017	90	0
74. PF-7144	100	0
75. PF-7037	100	0
76. PF-7127	100	0
77. HARDEE	70	0
78. PF-7126	80	0
79. PF-7057	90	0
80. PF-7029	30	0
81. PF-7141	100	0
82. PF-7125	100	0
83. PF-7119	90	0
84. PF-7150	70	0
85. HALLE-7	90	0
86. PE-7137	90	0



Nº Variedades	% de plantas que sobreviveram	
	Testemunhas *	Inoculadas **
87. PF-7142	100	0
88. PF-7179	80	0
89. PF-7026	90	0
90. PF-7026	90	0
91. PF-7025	90	0
92. MINEIRA	90	0
93. PF-7124	80	0

(\*) = % de plantas que sobreviveram num vaso (1 repetição)

(\*\*) = % de plantas que sobreviveram, média de três repetições

#### 4.5 - Reação de 8 variedades de soja a *C. dematium* f. *truncata*:

Os resultados da inoculação de 8 variedades de soja, selecionadas em ensaios anteriores, são apresentados no quadro nº 10. Os dados de cada repetição estão apresentados no apêndice.

QUADRO 10: Reação de 8 variedades de soja a *C. dematium* f. *truncata* na concentração de conídios por ml.

Variedades	Número médio de plantas que sobreviveram*			
	Nºs reais		Nºs transformados/x	
	Testem.	Inocul.	Testem.	Inocul.
IAC-1	7,33*	6,00	2,71	2,44a**
Bragg	10,00	4,33	3,16	2,06a
PF-7134	8,33	3,67	2,89	1,90a
Pelicano	9,67	2,67	3,11	1,61a
PF-7139	5,67	2,00	2,38	1,38b
PF-7118	9,00	1,67	3,00	1,27b
Davis	9,67	1,00	3,11	0,80b
Hill	8,67	0,33	2,94	0,33b

(\*) = média de repetições

(\*\*) = grupo de plantas que diferiu estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade do grupo (b).

A análise da variância do ensaio 4.5., é apresentado no quadro nº 11.

Estes resultados mostram que as variedades IAC-1, Bragg e Pelicano, diferiram significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, das variedades PF-7139, PF-7118, Davis e Hill. Os resultados aqui obtidos comprovaram o comportamento destas variedades em ensaios anteriores.

Este ensaio foi estabelecido em 14.02.73 e colhido em 6.03.73.

QUADRO 11: Análise da variância do ensaio 4.5.:

Causa da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Variedades	7	5,11	0,7300	8,42296**
Inoculações	1	9,82	9,8200	113,3949**
Inter. VxI	7	21,06	3,0086	34,7413**
Resíduo	32	2,77	0,0866	

(\*\*) = significativo ao nível de 1% de probabilidade

C.V. = 13,4%

As diferenças mínimas significativas para o teste de Tukey, foram:

1. Ao nível de 5% de probabilidade:  $\Delta = 0,89$
2. Ao nível de 1% de probabilidade:  $\Delta = 0,1472$

#### 4.6 - Influência da concentração do inóculo na reação de variedades de soja a *C. dematium* f. *truncata*:

Este ensaio foi estabelecido em 20.8.73 e a avaliação do número de plantas emergidas realizada em 30.8.73; o número de plantas que sobreviveram em 04.09.73 e a colheita em 07.09.73; pesagem em 10.09.73.

Os resultados do ensaio 4.6. são apresentados no quadro nº 12. Os dados de cada repetição estão apresentados no apêndice



QUADRO 12: Influência da concentração do inóculo de *C. dematium* f. *truncata* na reação de 5 variedades de soja no estágio de "seedling":

Variedades	Número médio de plantas emergidas/vaso				
	Test.	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
IAC-1	9,50*	8,50	9,00	9,00	8,50
Bragg	9,00	6,75	8,00	5,75	5,25
Pelicano	10,00	5,75	4,50	3,00	2,75
Davis	9,00	3,25	3,00	3,75	1,25
Hill	9,50	3,25	4,00	2,00	1,00
	Número médio de plantas que sobrev. por vaso				
IAC-1	9,50*	7,75	8,75	8,75	8,25
Bragg	9,00	4,50	3,00	3,50	2,00
Pelicano	9,75	2,75	1,75	0,75	1,00
Davis	8,75	0,75	1,00	0,25	0,50
Hill	8,50	1,25	0,50	0,25	0,0
	Peso seco em g/vaso				
IAC-1	2,49*	2,24	2,17	2,17	1,59
Bragg	2,16	1,05	0,55	0,58	0,36
Pelicano	2,24	0,31	0,24	0,15	0,21
Davis	1,82	0,01	0,26	0,03	0,07
Hill	1,55	0,40	0,05	0,03	0,00

(\*) = Média de 4 repetições

C<sub>1</sub> = 7,5 x 10<sup>5</sup> conídios por ml; C<sub>2</sub> = 1,5 x 10<sup>6</sup> conídios por ml;

C<sub>3</sub> = 3,0 x 10<sup>6</sup> conídios por ml; C<sub>4</sub> = 6,0 x 10<sup>6</sup> conídios por ml.

A análise da variância do ensaio nº 4.6. é apresentada no quadro nº 13.

QUADRO 13: Análise da variância do ensaio 4.6., avaliado pela contagem do nº de plantas que emergiram.

Causa da variação	G.L.	SQ.	QM.	F.
Variedades (V)	4	338,2600	84,56500	56,38**
Concentrações (C)	4	374,6600	93,6650	62,40**
Interação V x C	16	114,7400	7,1712	4,78**
Tratamentos	24	827,6600	34,4858	22,99**
Resíduo	75	112,5000	1.5000	
Total	99	940,1600		

(\*\*) = significativo ao nível de 1% de probabilidade.

C.V. = 21,41%

A diferença mínima significativa para o teste de Tukey foi:

1. Ao nível de 5% de probabilidade:  $\Delta = 1,1132$

Como houve significação na interação V x C, o desdobramento de variedades dentro de concentrações e apresentado no quadro 14 da análise da variância.

QUADRO 14: Análise da variância do desdobramento de variedades dentro de concentrações.

Causa da variação	G.L.	S.Q.	QM	F.
Variedades dentro de C <sub>1</sub>	4	2,8000	0,7000	0,47
Variedades dentro de C <sub>2</sub>	4	83,0000	20,7500	13,83**
Variedades dentro de C <sub>3</sub>	4	86,0000	21,5000	14,33**
Variedades dentro de C <sub>4</sub>	4	122,7000	30,6750	20,45**
Variedades dentro de C <sub>5</sub>	4	158,5000	39,6250	26,42**

(\*\*) = significativo ao nível de 1% de probabilidade

Teste de Tukey a 5% de probabilidade = 1,1132

MÉDIAS:

$$\hat{m} = V_1/C_1 = 9,50$$

$$\hat{m}_{V_1/C_2} = 3,25$$

$$\hat{m}_{V_1/C_3} = 4,00$$

$$\hat{m}_{V_1/C_4} = 2,00$$

$$\hat{m}_{V_1/C_5} = 1,00$$

$$\hat{m}_{V_2/C_1} = 9,00$$

$$\hat{m}_{V_2/C_2} = 6,75$$

$$\hat{m}_{V_2/C_3} = 5,75$$

$$\hat{m}_{V_2/C_4} = 5,75$$

$$\hat{m}_{V_2/C_5} = 5,25$$

$$\hat{m}_{V_3/C_1} = 9,00$$

$$\hat{m}_{V_3/C_2} = 3,25$$

$$\hat{m}_{V_3/C_3} = 3,00$$

$$\hat{m}_{V_3/C_4} = 3,75$$

$$\hat{m}_{V_3/C_5} = 1,25$$

$$\hat{m}_{V_4/C_1} = 9,50$$

$$\hat{m}_{V_4/C_2} = 8,50$$

$$\hat{m}_{V_4/C_3} = 9,00$$

$$\hat{m}_{V_4/C_4} = 9,00$$

$$\hat{m}_{V_4/C_5} = 8,50$$

$$\hat{m}_{V_4/C_1} = 10,00$$

$$\hat{m}_{V_4/C_2} = 5,75$$

$$\hat{m}_{V_5/C_3} = 4,50$$

$$\hat{m}_{V_5/C_4} = 3,00$$

$$\hat{m}_{V_5/C_5} = 2,75$$

A análise da variância do ensaio 4.6., com a avaliação feita pelo número de plantas que sobreviveram é a-



presentada no quadro nº 15.

QUADRO 15: Análise da variância do ensaio 4.6., avaliado pela contagem do número de plantas que sobreviveram por vaso.

Causa da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Variedades (V)	4	553,6400	138,4100	90,46**
Concentrações (C)	4	614,6400	153,6600	100,43**
Interação V x C	16	153,1600	9,5725	6,26**
Tratamentos	(24)	1321,4400	55,0600	35,99**
Resíduo	75	114,7500	1,5300	

(\*\*) = significativo ao nível de 1% de probabilidade

C.V. = 30,24%

A diferença mínima significativa para o teste de Tukey foi:

1. Ao nível de 5% de probabilidade:  $\Delta = 1,7427$

Sendo a interação Variedade x Concentração significativa fêz-se a análise da variância que está apresentada no quadro 16.

QUADRO 16: Análise da variância do desdobramento de variedades dentro de concentrações.

Causa da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Variedades dentro de C <sub>1</sub>	4	3.5000	0,8750	0,57
Variedades dentro de C <sub>2</sub>	4	128,8000	32,2000	21,04++
Variedades dentro de C <sub>3</sub>	4	179,5000	44,5000	29,33++
Variedades dentro de C <sub>4</sub>	4	212,2000	53,0500	34,67++
Variedades dentro de C <sub>5</sub>	4	182,8000	45,7000	29,87++

(++) = Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Teste de Tukey de 5% de probabilidade e  $\Delta = 1,7427$

MÉDIAS:

$\hat{m}v_1/c_1 = 8,50$	$\hat{m}v_2/c_1 = 9,00$	$\hat{m}v_3/c_1 = 8,75$
$\hat{m}v_1/c_2 = 1,25$	$\hat{m}v_2/c_2 = 4,50$	$\hat{m}v_3/c_2 = 0,75$
$\hat{m}v_1/c_3 = 0,50$	$\hat{m}v_2/c_3 = 3,00$	$\hat{m}v_3/c_3 = 1,00$
$\hat{m}v_1/c_4 = 0,25$	$\hat{m}v_2/c_4 = 3,50$	$\hat{m}v_3/c_4 = 0,25$
$\hat{m}v_1/c_5 = 0,00$	$\hat{m}v_2/c_5 = 2,00$	$\hat{m}v_3/c_5 = 0,50$
$\hat{m}v_4/c_1 = 9,00$	$\hat{m}v_5/c_1 = 9,75$	
$\hat{m}v_4/c_2 = 7,75$	$\hat{m}v_5/c_2 = 2,75$	
$\hat{m}v_4/c_3 = 8,75$	$\hat{m}v_5/c_3 = 1,75$	
$\hat{m}v_4/c_4 = 8,75$	$\hat{m}v_5/c_4 = 0,75$	
$\hat{m}v_4/c_5 = 8,25$	$\hat{m}v_5/c_5 = 1,00$	

A análise da variância do ensaio 4.6., com a avaliação feita pela pesagem das plantas que sobreviveram por vaso, está no quadro nº 17.

QUADRO 17: Análise da variância do ensaio 4.6., avaliado pela pesagem das plantas que sobreviveram.

Causa da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Variedades (V)	4	40,9649	10,2412	96,16++
Concentrações (C)	4	33,7924	8,4481	79,32++
Interação C x C	16	5,9288	0,3705	3,48++
Tratamentos	(24)	80,6861	3,3619	31,57++
Resíduo	75	7,9938	0,1065	

(\*\*) = significativo ao nível de 1% de probabilidade

C.V. = 35,77%

A diferença mínima significativa para o teste de Tukey foi:

1. Ao nível de 5% de probabilidade:  $\Delta = 0,4597$

Sendo a interação Variedades x Concentrações significativa, fêz-se o desdobramento e a respectiva análise da variância é apresentada no quadro nº 18.



QUADRO 18: Análise da variância do desdobramento de variedades dentro de concentrações.

Causa da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Variedades dentro de C <sub>1</sub>	4	2,2052	0,5513	5,18**
Variedades dentro de C <sub>2</sub>	4	12,5414	3,1603	29,67**
Variedades dentro de C <sub>3</sub>	4	11,9735	2,9933	28,11**
Variedades dentro de C <sub>4</sub>	4	13,3266	3,3316	31,28**
Variedades dentro de C <sub>5</sub>	4	6,7468	1,6867	15,84**

(\*\*) = significativo ao nível de 1% de probabilidade

Teste de Tukey a 5% de probabilidade  $\Delta = 0,4597$

MÉDIAS:

$\hat{m}v_1/c_1 = 1,5450$	$\hat{m}v_2/c_1 = 2,1625$	$\hat{m}v_3/c_1 = 1,8225$
$\hat{m}v_1/c_2 = 0,3950$	$\hat{m}v_2/c_2 = 1,0450$	$\hat{m}v_3/c_2 = 0,0125$
$\hat{m}v_1/c_3 = 0,0475$	$\hat{m}v_2/c_3 = 0,5450$	$\hat{m}v_3/c_3 = 0,2550$
$\hat{m}v_1/c_4 = 0,0250$	$\hat{m}v_2/c_4 = 0,6825$	$\hat{m}v_3/c_4 = 0,0325$
$\hat{m}v_1/c_5 = 0,0000$	$\hat{m}v_2/c_5 = 0,3575$	$\hat{m}v_3/c_5 = 0,0725$
$\hat{m}v_4/c_1 = 2,4925$	$\hat{m}v_5/c_1 = 2,2400$	
$\hat{m}v_4/c_2 = 2,2400$	$\hat{m}v_5/c_2 = 0,3075$	
$\hat{m}v_4/c_3 = 2,1650$	$\hat{m}v_5/c_3 = 0,2400$	
$\hat{m}v_4/c_4 = 2,1725$	$\hat{m}v_5/c_4 = 0,1525$	
$\hat{m}v_4/c_5 = 1,5800$	$\hat{m}v_5/c_5 = 0,2125$	

Nos três métodos de avaliação, a variedade IAC-1 foi a mais resistente, enquanto que as demais foram susce-

tíveis. A variedade Bragg apresentou reação intermediária.

A medida que houve aumento na concentração do inóculo houve maior incidência da doença nos "seedlings".

Todas as variedades, exceto a IAC-1, mostraram grande destruição dos cotilédones pela ação do fungo da Antracnose. A variedade IAC-1, apresentou apenas alguns pontos avermelhados nos cotilédones, com pouca redução na emergência, porém, à medida que foi submetida a maiores concentrações do inóculo teve uma redução no crescimento, somente detectado pela pesagem.

A análise da correlação entre o número de plantas que sobreviveram e o peso das mesmas, apresentou  $r=0,9771$  com  $t = 41,74$  altamente significativo.

5 - DISCUSSÃO:

Fungos requerem, obviamente, condições genéticas e ambientais favoráveis para esporulação e, naturalmente, qualquer estudo fisiológico tende a enfatizar um ou dois fatores em reprodução que são manipulados pelo pesquisador (COCHRANE (3)). Os 3 primeiros ensaios refletem, especificamente no caso de *Colletotrichum dematium* f. *truncata*, essas afirmações genéricas. Devido à escassez de estudos com *C. dematium* f. *truncata*, os resultados são originais para a espécie, sendo apenas possível o confronto parcial quanto ao meio de cultura; existem meios de cultura (V-8 agar e Aveia agar) estatisticamente superiores ao BDA, usado anteriormente por TIFFANY (17). Em termos genéricos os resultados seguem o que se pode esperar de esporulação em fungos: a importância do meio de cultura e do pH HAWKER (6) e COCHRANE (3), da superposição do papel de filtro LUKES (15), MCDONAL & MARTENS (16) e BEAN (2) e exposição luminosa (LEACH (12)).

LUKES (15), MACDONAL & MARTENS (16) e BEAN (2), obtiveram um aumento na produção de esporos de *Helminthosporium* spp. e *Alternaria* spp. quando superpuserem aos meios de cultura solidificados, papel de filtro. Porém nenhuma explicação dão ao fato e aventa-se, aqui, a possibilidade de que o aumento da superfície esporulante conferida pelo papel de filtro, seja a responsável pela maior esporulação.



Com relação a influência da luz sobre a esporulação de fungos, TUIITE (20) relata que alguns fungos respondem positivamente à luz, alguns são indiferentes e outros esporulam melhor no escuro ou requerem um período de escuro como estímulo. Nesta classificação *C. dematium* f. *truncata*, enquadra-se entre aqueles que necessitam de luz contínua para a produção máxima de conídios, i. é, regime de luz contínua no interior da Biotronette.

O efeito indutor de esporulação da luz fluorescente em muitos fungos foto sensíveis é, segundo LEAHC (12), devido ao espectro de ultravioleta de 300 a 400nm presente em pequena, mas, significativa quantidade. É possível que o mesmo fenômeno se repita com *C. dematium* f. *truncata*.

Os ensaios sobre esporulação, receberam tratamentos estatísticos, mostrando diferenças quantitativas entre tratamentos, e, essa maneira de abordagem do problema de esporulação é muito importante, pois, como COCHRANE (3) já chamava a atenção, a maioria de nosso conhecimento sobre reprodução de fungos, se origina de dados essencialmente qualitativos e alguns problemas requerem dados quantitativos sobre intensidade de esporulação, particularmente para estudos nutricionais em que é mais do tipo quantitativo do que qualitativo.

A maioria das variedades de soja atualmente em cultivo no Rio Grande do Sul, são de procedência Norte Americana e, no presente trabalho, mostrara-se suscetíveis como a

Hill, Davis, Hardee e Bienville o que evidencia, provavelmente, uma agressividade diferente do isolado usado, ou condições ambientais também diferentes, daquelas que ocorrem nos Estados Unidos, pois TIFFANY (17) comenta que a doença se tornou de importância potencial devido ao uso de técnicas genéticas para obter seleções melhor adaptadas para usos específicos. Portanto, os resultados aqui obtidos com relação à reação varietal, não estão de acordo com o expresso por Tiffany, pois, apenas a variedade IAC-1, mostrou-se resistente, enquanto que as americanas mostraram-se suscetíveis.

O método de avaliação dos três primeiros ensaios (peso das plantas sobreviventes), cujos resultados estão no quadro 8, é equivalente ao dos 2 ensaios subsequentes (número de plantas sobreviventes), cujos resultados estão no quadro 9, de vez que existe correlação, estatisticamente significativa entre número e peso de plantas sobreviventes como ficou demonstrado no último ensaio.

O fato de ocorrer subdesenvolvimento nas plantas inoculadas não deve ser inteiramente devido a lesões cotiledonares, pois, a variedade resistente IAC-1, apesar de mostrar lesões superficiais diminutas apresentara subdesenvolvimento. Provavelmente, essa redução no porte das plantas, deve-se a infecção que foi provada por TIFFANY (17).

Os resultados do último ensaio põem de manifesto a importância de se controlar o fator concentração de inóculo na seleção de variedades resistente, funcionando a

concentração como fator de pressão de seleção e, podendo se escolher o nível de resistência da seleção. Tais resultados estão de acordo com WALKER (24) que ressalta a importância de se controlar vários fatores, inclusive concentração de inóculo, na triagem de variedades resistentes.



## 6 - CONCLUSÕES:

Do presente trabalho podem ser retiradas as seguintes conclusões:

- 6.1 - Para obtenção de abundante inóculo de *Colletotrichum dematium* f. *truncata* é preciso levar em consideração a temperatura de 19 - 33°C: o meio de cultura (Aveia-a-gar), a superposição de papel de filtro, o pH (4,5) e o regime luminoso (luz contínua no interior da Biotronette).
- 6.2 - Além dos sintomas descritos na literatura, a inoculação de *C. dematium* f. *truncata* em sementes de soja acarreta o subdesenvolvimento da planta.
- 6.3 - É possível selecionar variedades de soja resistentes a *C. dematium* f. *truncata* pelo critério de limiar númeroco de infecção.

7 - RESUMO:

O presente trabalho versa sobre método de seleção de variedades de soja resistentes a *Colletotrichum dematium* f. *truncata*. Primeiramente, foi feito um estudo da influência de alguns fatores na obtenção de inóculo, chegando-se à conclusão que o melhor meio foi o de aveia-agar, com superposição de papel de filtro, com pH 4,5 e sob condições de luz contínua. Calibrando-se a concentração de inóculo para  $1,5 \times 10^6$  conídios por ml, 93 variedades de soja foram submetidas à inoculação, em condições de casa de vegetação, sendo então, classificadas em ordem decrescente de resistência. Cinco (5) variedades, resistentes e suscetíveis selecionadas foram submetidas a 4 concentrações de inóculo ( $7,5 \times 10^5$ ;  $1,5 \times 10^6$ ;  $3,0 \times 10^6$  e  $6,0 \times 10^6$  conídios por ml), tendo-se observado que o aumento de inóculo proporcionou um aumento na incidência da doença, em % de "seedlings" doentes e/ou subdesenvolvimento da planta.

8 - SUMMARY:

The present research deals with a method of selection of varieties of soybean resistant to *Colletotrichum dematium* f. *truncata*. A study of the influence of some factors in obtaining inoculum was studied first with the conclusion that the best medium was oat-agar with a filter paper on top, pH of 4,5 and under conditions of continuous light. The concentration of inoculum was calibrated at  $1,5 \times 10^6$  conidia per ml. Ninety-three varieties of soybean were inoculated in the greenhouse and later classified in decreasing order of resistance. Five varieties were tested at 4 concentrations of the inoculum ( $7,5 \times 10^5$ ;  $1,5 \times 10^6$ ;  $3,0 \times 10^6$  and  $6,0 \times 10^6$  conidia per ml). It had been observed that the increase of the inoculum concentrations resulted in increase in disease incidence, in the diseased seedlings and/or under development of the plants.



9 - BIBLIOGRAFIA:

- 1 - ANDRUS, C.F. & W. D. Moore, 1935. *Colletotrichum truncata* (Schw.), N. COMB., on garden and lima Bean. *Phytopathology* 25:121-125.
- 2 - BEAN, G. A. & R. D. Wilcoxson. 1964. *Helminthosporium* leaf spot of bluegrass. *Phytopathology* 54:1065-1071
- 3 - COCHRANE, V. W. 1958. *Physiology of fungi*. John Wiley and Sons, Inc., New York. XIII + 524 pp.
- 4 - DADE, H. A. & J. G. Gunnell. 1969. *Class work with fungi*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England 64 pp.
- 5 - GAUMANN, E. 1950. *Principles of plant infection*. Crosby Lockwood & Son Ltd. London, 543 pp.
- 6 - HAWKER, L. E. 1957. *The physiology of reproduction in Fungi*. Cambridge University Press, Cambridge, 128 pp.
- 7 - HEALD, F. D. 1921. The relation of spore load to the percent of stiking smut appearing in the crop. *Phytopathology* 11:269-278.

- 8 - HOLDEMAN, Q. L. 1950. Some falcate-spored *Colletotrichums* on legumes. *Phytopathology* 40:12-13 (abstract)
- 9 - ISSA, E. 1973. Soja - Problemas fitopatológicos na safra 72/73. *O Biológico* 39:174-177.
- 10 - KIIHL, R. A. S. e S. Miyasaka. 1973. Descrição das variedades de soja em cultivo no Estado de São Paulo. Campinas, Mimeografado 7 pp.
- 11 - KIMATI, H. e F. Galli. 1970. *Glomerella cingulata* (Stonem) Spauld. et V. Schrenk. f. sp. *phaseoli* n. f., fase ascógena do agente causal da antracnose do feijoeiro. *Anais da ESALQ* 27:411-437.
- 12 - LEACH, C. M. 1962. The quantitative and qualitative relationship of ultravioleta and visible radiation to the induction of reproduction in *Ascochyta pisi*. *Can J. Bot.* 40:1577-1602.
- 13 - LEHMAN, S. G. & F. A. Wolf. 1926. Soybean anthracnose. *Journal Agronomy. Research* 33:381-391.
- 14 - LING, L. 1940. Seedling Stem Blight of Soybean Caused by *Glomerella glycines*. *Phytopathology* 30:345-347.

- 15 - LUKENS, R. J. 1960. Conidial production from filter paper cultures of *Helminthosporium vagans* and *Alternaria solani*. *Phytopathology* 50:867-868.
- 16 - McDONAL, W. C. & J. W. Martens. 1963. Leaf and Stem spot of sunflower caused by *Alternaria sinniae*. *Phytopathology*. 53:93-96.
- 17 - TIFFANY, L. H. 1951. Delayed Sporulation of *Colletotrichum* on Soybean. *Phytopathology* 41:975-985.
- 18 - TIFFANY, L. H. & J. C. GILMAN. 1954. Species of *Colletotrichum* of legumes. *Mycologia* 46:52-75.
- 19 - TOCCHETO, A., J. C. Gomes. A. J. DE Gasperi e C. B. Filho. 1961. Organismo e moléstias determinados. IN: Boletim Anual do Serviço de Fitopatologia. Secretaria da Agricultura. DPV. SDSV. 6:11.
- 20 - TUITTE, J. Plant pathological methods. Fungi and bacteria. Minneapolis, Burgees Publishing Campany. 239 pp.
- 21 - VAN DER PLANK. J. E. 1968. Disease Resistance in Plants. Academic Press, New York and London, 206 pp.



- 22 - VON ARX, J. A. 1957. Die Arten Der Gattung *Colletotrichum* Cda. *Phytopathologische Zeitschrift* 29 (4):413-468.
- 23 - VIEGAS, A. P. 1961. Índice de Fungos da América do Sul. Seção de Fitopatologia. Instituto Agronômico. Campinas. 921 pp.
- 24 - WALKER, J. C. 1965. Use of Environmental Factor in Screening for Disease Resistance. IN: Annual Review of Phytopathology. 3:197-208.

A P E N D I C E :

Quadro I - Reação de 8 variedades de soja a *C. dematium*  
*f. truncata* na concentração de  $1,5 \times 10^5$  co-  
nídios por ml.

Variedades	Número de plantas que sobreviveram por vaso nas repetições					
	Testemunhas			Inoculadas		
	I	II	III	I	II	III
IAC-1	7	8	7	5	6	7
Pelicano	9	10	10	2	4	2
PF-7118	8	10	9	2	1	2
PF-7134	8	8	9	3	3	5
Bragg	10	10	10	5	3	5
Davis	9	10	10	2	0	1
PF-7139	5	6	6	3	1	2
Hill	9	9	8	0	1	0



Quadro 2 - Influência da concentração do inóculo de inóculo de *C. dematium* f. *truncata* na reação de "seedlings" de soja.

AVALIAÇÃO I - Número de plantas emergidas por vaso

Variedades	Testemunhas				
	I	II	III	IV	Média
Hill	10	10	10	8	9,50
Bragg	10	9	7	10	9,00
Davis	10	9	7	10	9,00
IAC-1	10	10	9	9	9,50
Pelicano	10	10	10	10	10,00

Variedades	Concentração: $7,5 \times 10^5$ c/ml				
	I	II	III	IV	Média
Hill	4	1	3	5	3,25
Bragg	6	7	7	7	6,75
Davis	2	4	2	5	3,25
IAC-1	9	9	9	7	8,50
Pelicano	4	7	4	8	5,75

## III

Variedades	Concentrações de: $1,5 \times 10^6$ c/ml				
	I	II	III	IV	Média
Hill	2	4	5	5	4,00
Bragg	5	5	5	8	5,75
Davis	5	2	2	3	4,00
IAC-1	8	8	10	10	9,00
Pelicano	4	6	4	4	4,50

Variedades	Concentração de: $3,0 \times 10^6$ c/ml				
	I	II	III	IV	Média
Hill	2	2	2	2	2,00
Bragg	6	6	5	6	5,75
Davis	2	3	5	5	3,75
IAC-1	10	8	10	8	9,00
Pelicano	3	1	5	3	3,00

Variedades	Concentração de: $6,0 \times 10^6$ c/ml				
	I	II	III	IV	Média
Hill	1	1	1	1	1,00
Bragg	6	5	7	3	5,25
Davis	1	2	0	2	1,25
IAC-1	7	9	8	10	8,50
Pelicano	2	3	2	4	2,75

## IV

AVALIAÇÃO II: Número de plantas desenvolvidas por vaso.

Variedades	Testemunhas				Média
	I	II	III	IV	
Hill	8	8	10	8	8,50
Bragg	10	9	7	10	9,00
Davis	9	9	7	10	8,75
IAC-1	10	10	8	8	9,00
Pelicano	10	10	10	9	9,75

Variedades	Concentração: $7,50 \times 10^5$ c/ml				Média
	I	II	III	IV	
Hill	2	0	1	2	1,25
Bragg	5	5	4	4	4,50
Davis	2	1	0	0	9,75
IAC-1	7	7	8	9	7,75
Pelicano	1	5	0	5	2,75

Variedades	Concentração: $1,5 \times 10^6$ c/ml				Média
	I	II	III	IV	
Hill	0	1	1	0	0,50
Bragg	3	6	2	1	3,00
Davis	2	1	0	1	1,00
IAC-1	8	8	10	9	8,75
Pelicano	1	3	1	2	1,75



Variedades	Concentração: $3,0 \times 10^6$ c/ml				
	I	II	III	IV	Média
Hill	0	0	1	0	0,25
Bragg	5	3	3	3	3,50
Davis	0	1	0	0	0,25
IAC-1	8	10	7	10	8,75
Pelicano	0	0	1	2	0,75

Variedades	Concentração de: $6,0 \times 10^6$ c/ml				
	I	II	III	IV	Média
Hill	0	0	0	0	0
Bragg	4	0	0	4	2,00
Davis	0	1	0	1	0,50
IAC-1	6	9	8	10	8,25
Pelicano	0	2	0	2	1,00

## VI

## AVALIAÇÃO III: Peso Seco g/vaso

Variedades	Testemunhas				
	I	II	III	IV	Média
Hill	1,57	2,00	1,24	1,37	1,55
Brágg	2,00	2,00	1,56	3,09	2,16
Davis	1,67	1,42	1,90	2,30	1,82
IAC-1	2,50	2,48	2,51	2,47	2,49
Pelicano	2,01	2,69	1,95	2,31	2,24

Variedades	Concentração de: $7,5 \times 10^5$ c/ml				
	I	II	III	IV	Média
Hill	0,23	0,00	0,58	0,77	0,40
Bragg	1,31	1,00	1,00	0,87	1,05
Davis	0,02	0,03	0,00	0,00	0,01
IAC-1	2,76	2,36	1,83	2,01	2,24
Pelicano	0,20	0,57	0,00	0,46	0,31

Variedades	Concentração de: $1,5 \times 10^6$ c/ml				
	I	II	III	IV	Média
Hill	0,00	0,05	0,14	0,00	0,05
Bragg	0,62	0,27	0,27	1,02	0,55
Davis	0,77	0,14	0,00	0,11	0,26
IAC-1	2,08	1,96	2,13	2,49	2,17
Pelicano	0,09	0,41	0,26	0,20	0,24

## VII

Variedades	Concentração de: $3,0 \times 10^6$ c/ml				
	I	II	III	IV	Média
Hill	0,00	0,00	0,00	0,10	0,03
Bragg	1,70	0,12	0,47	0,44	0,68
Davis	0,00	0,13	0,00	0,00	0,03
IAC-1	2,14	2,22	2,19	2,14	2,17
Pelicano	0,00	0,00	0,14	0,47	0,15

Variedades	Concentração de: $6,0 \times 10^6$ c/ml				
	I	II	III	IV	Média
Hill	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bragg	0,82	0,00	0,00	0,61	0,36
Davis	0,00	0,19	0,00	0,10	0,07
IAC-1	1,50	1,69	2,30	0,83	1,59
Pelicano	0,00	0,33	0,00	0,52	0,21