

**ESPORULAÇÃO E PATOGENICIDADE DE :**  
*Diaporthe phaseolorum* (Cke) Ell. var. *sojae* (Lehman) Wehmeyer

**PEDRO JAVIER SEALL**

**ORIENTADOR: HIROSHI KIMATI**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura  
"Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo,  
para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

**PIRACICABA**  
**ESTADO DE SÃO PAULO - BRASIL**  
Abril, 1976

i.

À minha mãe Lila

Ao meu pai Pedro

OFEREÇO.

Ao meu irmão Juan José

DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) e ao Departamento de Fitopatologia por terem tornado possível a participação no Curso de Pós-Graduação e realização desta pesquisa.

Ao Professor Doutor Hiroshi Kimati por seu valioso auxílio como Orientador e pela revisão dos originais deste trabalho.

À Organização dos Estados Americanos (OEA) pela concessão da bolsa de estudo concedida durante o decorrer do Curso.

Ao Instituto Agrônomo Nacional (IAN) - Caacupé (Paraguai), pela oportunidade do aperfeiçoamento.

Ao Professor Doutor Salim Simão, Diretor da ESALQ pela prestimosa colaboração e estímulo.

Ao Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> Luis Pampliega, Secretário Geral do Ministério da Agricultura e Ganaderia (Assunção - Paraguai) e Dr. Federico Mandelburger, Diretor da Secretaria Técnica de Planificação (Assunção - Paraguai) pela prestimosa colaboração e grande estímulo na procura do meu aperfeiçoamento.

Ao Professor Doutor Ferdinando Galli, Professor Catedrático do Departamento de Fitopatologia pela revisão dos originais.

Ao Professor Doutor Paulo de Campos Torres de Carvalho, Professor Adjunto do Departamento de Fitopatologia pela revisão dos originais.

Ao Professor Doutor Clyde Allison, Professor Emérito da Ohio State University pela versão do Resumo para o inglês.

Aos Colegas Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> Elocy Minussi e Carlos Caio Machado pelas valiosas sugestões e estímulos dados durante o decorrer do Curso de Pós-Graduação.

À Senhora Tekla Eunice Klar pelo excelente trabalho de apresentação.

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

## INDICE

	Página
1. RESUMO .....	1
2. INTRODUÇÃO .....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	5
3.1. Considerações taxonômicas .....	5
3.2. Fatores que influem na reprodução assexual .....	8
3.3. Reação de variedades .....	10
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	13
4.1. Local e época da investigação .....	13
4.2. Fungo .....	13
4.3. Manutenção do Isolado .....	13
4.4. Ensaio .....	14
4.4.1. Influência de meios de cultura e superposição de papel de filtro na esporulação de <i>Phomopsis so-</i> <i>jae</i> .....	14
4.4.2. Influência de regime luminoso na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> em 4 meios de cultura.....	15
4.4.3. Influência do pH na esporulação de <i>Phomopsis so-</i> <i>jae</i> .....	16
4.4.4. Influência de diferentes níveis de nitrogênio e de carbono na reprodução de <i>Phomopsis sojae</i> ....	16
4.4.5. Influência de diferentes fontes e níveis de car- bono na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> .....	17
4.4.6. Influência da concentração de inóculo de <i>Phomop-</i> <i>sis sojae</i> na sobrevivência de 3 variedades de so- ja .....	18
4.4.7. Reação de 10 variedades de soja à inoculação com suspensão de esporos de <i>Phomopsis sojae</i> .....	18
4.4.8. Análises estatísticas .....	19

	Página
5. RESULTADOS .....	21
5.1. Influência de meios de cultura e da superposição de papel de filtro na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> .....	21
5.2. Influência de regime luminoso na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> em 4 meios de cultura.....	23
5.3. Influência do pH na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> ....	24
5.4. Influência de diferentes níveis de nitrogênio e de carbono na reprodução de <i>Phomopsis sojae</i> .....	25
5.5. Influência de diferentes fontes e níveis de carbono na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> .....	27
5.6. Influência da concentração de inóculo de <i>Phomopsis sojae</i> na sobrevivência de 3 variedades de soja .....	28
5.7. Reação de 10 variedades de soja à inoculação com suspensão de esporos de <i>Phomopsis sojae</i> .....	29
6. DISCUSSÃO .....	31
7. CONCLUSÕES .....	35
8. SUMMARY .....	37
9. LITERATURA CITADA .....	39
APÊNDICE .....	44

## ÍNDICE DE QUADROS

	Página
Quadro 1 - Variedades de soja utilizadas (Ensaio 4.4.6 e 4.4.7)...	20
Quadro 2 - Influência de 4 meios de cultura e da superposição de papel de filtro Whatman nº 1 na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> .....	22
Quadro 3 - Influência de 3 regimes luminosos na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> em 4 meios de cultura .....	23
Quadro 4 - Influência do pH do meio de aveia-agar na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> .....	25
Quadro 5 - Influência de três níveis de carbono (D-frutose) e de nitrogênio (asparagina) na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> .	26
Quadro 6 - Influência de 3 fontes e níveis de carbono na esporulação de <i>Phomopsis sojae</i> em meio basal contendo 0,4 g de asparagina .....	27
Quadro 7 - Influência da concentração de inóculo de <i>Phomopsis sojae</i> na sobrevivência de 3 variedades de soja .....	28
Quadro 8 - Reação de 10 variedades de soja à inoculação com suspensão de esporos de <i>Phomopsis sojae</i> .....	29

## 1. RESUMO

Um isolado de *Phomopsis sojae* foi cultivado em diferentes condições de meio de cultura, regime luminoso, pH, fontes de carbono e relação C/N, chegando-se à conclusão que a esporulação é melhor em:

1) meio de aveia-agar do que em meios de V-8, farinha de soja ou BDA, tanto em luz contínua como em luz alternada; 2) com sobreposição de papel de filtro, em todos os meios mas especialmente no meio de aveia-agar; 3) luz contínua do que em luz alternada e que escuro contínuo inibe a esporulação, em todos os meios de cultura; 4) pH 4,5 mas obtendo-se também produção de picnídios em todos os pH testados (de 4,0 a 6,5); 5) 0,4 g/l de asparagina por 10 g/l de D-frutose, quando se usou como fontes de nitrogênio e de carbono, respectivamente; e 6) 10 g/l de manitol ou 15 g/l de lactose do que 10 g/l de D-frutose, mantendo-se 0,4 g/l de asparagina.

Suspensões de esporos desse isolado de *Phomopsis sojae*, em concentrações de  $3,25 \times 10^4$ ,  $3,25 \times 10^5$  e  $3,25 \times 10^6$  foram inoculadas

no estágio de "seedling", em 3 variedades de soja (Santa Rosa, Viçoja e IPBG), que se comportaram de maneira semelhante, com menor sobrevivência à medida que se aumentou a concentração do inóculo. Adicionalmente, 10 variedades de soja foram inoculadas com a mais alta concentração de esporos ( $3,25 \times 10^6$ ), tendo-se observado variação na capacidade de sobrevivência, o que pode ser um reflexo da resistência varietal.



## 2. INTRODUÇÃO

A cultura da soja no Brasil ocupa hoje um lugar de grande destaque econômico, tendo experimentado nos últimos anos uma fase de expansão, mercê do vertiginoso incremento da industrialização e exportação da soja.

Essa expansão, feita à custa da gradual ampliação das áreas cultivadas, trouxe junto o crescente problema de doenças, das quais a Queima da Haste e da Vagem, causada por *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (Lehman) Wehmeyer, constitui uma das mais importantes. A importância dessa doença se traduz pela má qualidade da semente, de baixo poder germinativo.

Segundo *LEHMAN et alii* (1975), a porcentagem de ocorrência da Queima da Haste e da Vagem em relação às lavouras visitadas no Rio Grande do Sul e Santa Catarina foi de 14%.

Tendo em vista a importância da Queima da Haste e da Vagem e tendo os interesses voltados para metodologia fitopatológica de pesquisa de resistência de plantas a doenças, procurou-se no presente trabalho abordar problemas de obtenção de inóculo e de inoculação de variedades de soja visando seleção para resistência, problemas pouco estudados não só no Brasil como no mundo todo.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Considerações taxônomicas

A Queima da Haste e da Vagem da soja foi relatada pela primeira vez em 1920 em Carolina do Norte por F. A. Wolf e S. G. Lehman como sendo causada por uma espécie não determinada de *Phoma*. Subsequentemente Lehman produziu o estágio peritecial desse fungo em meio de cultura e denominou-o *Diaporthe sojae* Lehman, tendo ainda relatado o sucesso de testes de patogenicidade em soja. Vários anos mais tarde Wolf e Lehman descobriram o estágio peritecial do fungo em restos de cultura de soja no campo. Em 1933 Wehmeyer em sua monografia sobre o gênero *Diaporthe*, baseando-se em características morfológicas, reduziu a espécie de Lehman ao nível de variedade, isto é, *Diaporthe phaseolorum* (Cke) Ell. var. *sojae* (Lehman) Wehmeyer, o mesmo ocorrendo com *Diaporthe batatatis*, descrito por Harter e Field sobre batata doce, que passou a se denominar *D. phaseolorum* var. *batatatis* (Harter & Field) Wehm. O histórico taxonômico e nomenclatural acima descrito foi baseado em LUTTRELL (1947), WELCH e GILMAN (1948) e ATHOW e CALDWELL (1954).

LUTTRELL (1947), num estudo comparativo de *D. phaseolorum* e linhagens periteciais e não periteciais de *D. phaseolorum* var. *sojae*, encontrou diferenças em patogenicidade e características em meio de cultura que considerou suficientes para manter a distinção do último fungo como variedade. Conforme LUTTRELL (1947), *D. phaseolorum* se limita ao feijão de lima, enquanto, *D. phaseolorum* var. *sojae* é um parasita fraco com amplo espectro de hospedeiros, afetando plantas enfraquecidas de várias espécies vegetais.

WELCH e GILMAN (1948), analisando linhagens monoascospóricas de *D. phaseolorum* var. *sojae*, descobriram que as provenientes de peritécios do tipo cespitoso eram homotáticas, não formando picnídios, enquanto, as originárias de peritécios individuais eram heterotáticas, formando peritécios somente em cruzamentos apropriados. Visto que além dessa diferença no desenvolvimento peritecial os dois tipos de linhagens correspondiam a sintomas diferentes em inoculações em soja, os autores reconheceram a forma heterotática como *D. phaseolorum* var. *sojae* e a homotática como *D. phaseolorum* var. *batatatis*.

Retomando essa linha de pesquisa, de vez que o cancro da haste da soja, doença atribuída por WELCH e GILMAN (1948), a *D. phaseolorum* var. *batatatis*, estava assumindo certa importância nos Estados Unidos da América do Norte, ATHOW e CALDWELL (1954) fizeram um estudo comparativo de cancro da haste e queima da vagem e da haste, esta última provocada por *D. phaseolorum* var. *sojae*. Desse estudo resultou a confirmação dos trabalhos de WELCH e GILMAN (1948) de que em soja ocorrem duas

doenças distintas causadas por duas formas morfológicamente diferentes de *Diaporthe*. No entanto, *ATHOW e CALDWELL (1954)*, comparando linhagens de *D. phaseolorum batatatis* da batata com as da soja, encontraram que as últimas não formam conídios e sugerem, então, ser essa característica morfológica suficiente para propor o trinomial *D. phaseolorum* var. *caulivora* Athow & Caldwell para os isolados da soja.

*THREINEN et alii (1959)*, com base nos resultados de estudos comparativos de mutantes induzidos artificialmente, discorda da separação de duas variedades de *Diaporthe phaseolorum* (variedade *caulivora* e variedade *sojae*), argumentando que: 1º) o caráter homotático da variedade *caulivora* não parece ser constante, havendo mutantes induzidos por irradiação que se comportam como heterotáticos; 2º) a morfologia dos peritécios nas duas variedades não é constante, havendo vários mutantes de *caulivora*, produzindo peritécios individuais; e 3º) a patogenicidade de *caulivora*, pode ser alterada, através de mutação, para patogenicidade da variedade *sojae*. Mais recentemente, *WHITEHEAD (1966)*, descrevendo a ocorrência do cancro e queima da haste de cornichão (*Lotus corniculatus* L.) e da soja (*Glycine max* L.) causada por *D. phaseolorum* var. *sojae*, concorda com o ponto de vista de *THREINEN et alii (1959)* pois encontrou, em condições de campo, a associação dessa variedade de *D. phaseolorum* com sintomas de cancro da haste em soja.

✧ Dentro do contexto taxonômico aqui descrito cabe lembrar que, no Brasil, só há relatos da ocorrência de Queima da Vagem e da Haste, também denominada *Phomopsis* ou Podridão Seca da Haste e da Vagem,

sendo citados como patógenos *Phomopsis sojae* (FERREIRA, 1973) e *Phomopsis glycines* Petrak (ARAÚJO et alii, 1974). Pela prioridade o nome correto deve ser *Phomopsis sojae* (Lehman) Wehmeyer (FERREIRA, 1973). Tal maneira de citação evidencia o fato de isolados do fungo aqui presentes corresponderem ao tipo descrito na literatura como *D. phaseolorum* var. *sojae* (LUTTRELL, 1947; WELCH e GILMAN, 1948; ATHOW e CALDWELL, 1954; HILDEBRAND, 1954; e WHITEHEAD, 1966).

A importância da Queima da Haste e da Vagem, apesar de haver relatos como os de LUTTRELL (1947) classificando o agente patogênico como parasita fraco afetando plantas enfraquecidas, tem sido ultimamente ressaltado por ser uma das causas da baixa qualidade de sementes, tanto em aparência como em germinação (ELLIS et alii, 1972; e TENNE et alii, 1974). Ademais, WALLEN e SEAMAN (1962) apresentam evidências de que o fungo é patogênico durante a fase de "seedling" de desenvolvimento da soja.

### 3.2. Fatores que influem na reprodução assexual

A variabilidade na capacidade reprodutiva, tanto sexual como assexual, dos isolados de *Diaporthe* da soja é muito grande tendo servido como critério taxonômico adicional na separação das variedades *caulivora* e *sojae* de *D. phaseolorum* feita por WELCH e GILMAN (1948) e complementada por ATHOW e CALDWELL (1954). Entre outras diferenças a variedade *caulivora*, segundo os dois últimos trabalhos, se caracterizaria

por não formar picnídios; entretanto, FROSHEISER e KERNKANP (1954), HILDEBRAND (1954) e FROSHEISER (1957) relataram ocorrência de produção de conídios e picnídios por certas linhagens dessa variedade.

Pelo que se depreende do trabalho de FROSHEISER (1957) a produção de picnídios por essa variedade de *D. phaseolorum* depende de meio de cultura, visto que não observou picnídios em haste de soja autoclavada ou sobre BDA mas relata esporulação assexual em hastes autoclavadas de 9 das 15 espécies vegetais testadas; além disso, em seus trabalhos de inoculação de variedades de soja foram usadas suspensões de conídios produzidos em meio de 20 g de folha e haste de *Melilotus alba* Desr. finamente moído e 15 g de agar em q.s.p. 1000 ml de água. Entretanto, THREINEN et alii (1959) observaram que a esporulação, tanto da variedade *caulivora* como da *sojae*, não era afetada por 15 diferentes fontes de carbono, 6 combinações de vitaminas ou 27 fontes de nitrogênio testados.

A abordagem mais bem sucedida sobre fatores influenciando na esporulação assexual de *D. phaseolorum* var. *batatatis* foi feita por TIMNICK et alii (1951). Encontraram que picnídios se formam num grande número de meios (lactose-asparagina, lactose-uréia, BDA, extrato de malte, hastes, vagens e sementes de soja), tanto luz contínua como radiação UV aumentam grandemente o número de picnídios em BDA e escuro contínuo inibe a formação de picnídios. Todavia ressalve-se o fato de que esses picnídios eram pequenos, contendo numerosos esporos beta e são ocasionais alfa, sendo que esporos alfa foram produzidos em abundância

somente em hastes e vagens de soja, contrariamente ao resultado obtido mais tarde por FROSHEISER (1957).

A literatura pertinente a produção de picnídios por *D. phaseolorum* se limita praticamente aos trabalhos acima comentados. Uma referência de Lehman, em 1923, se bem que indireta, é encontrada em TIMNICK *et alii* (1951) com relação à influência desfavorável de escuro contínuo para formação de picnídios por *D. phaseolorum* var. *sojae*.

Pelo que foi exposto conclui-se que estudos sobre formação de picnídios por *D. phaseolorum* var. *sojae* foram pouco explorados, mormente em se considerando que, nos fungos como um todo, desempenham papel importante na esporogênese vários fatores, tais como: temperatura, luz, aeração, nutrição, concentração hidrogeniônica, etc (LILLY e BARNETT, 1951; HAWKER, 1957; COCHRANE, 1958; TUIITE, 1969). Dentro desse contexto cabe lembrar a observação de LEACH (1971) de que muitos fungos podem ser estimulados a frutificar sob exposição à luz mas somente se outros fatores não forem limitantes. Assim, os trabalhos com *Diaporthe* da soja falham em não ter levado em consideração a interação de luz com outros fatores sobre a esporulação.

### 3.3. Reação de variedades

Com relação a testes de reação de variedades de soja a *Diaporthe phaseolorum* pouco foi publicado. Apenas uma referência, a de FROSHEISER (1957), foi encontrada na literatura. Neste trabalho, FROS-



HEISER (1957), comparando susceptibilidade de variedades de soja à infecção natural por *D. phaseolorum* var. *caulivora* em condições de campo, encontrou que das variedades então recomendadas para cultivo em Minnesota, Renville, Grant, Blackhawk, Chippewa, Capital, Morchief e Harosoy contêm 7.7, 5.3, 5.0, 4.6, 2.9, 2.3 e 1.3% de plantas infectadas, respectivamente, enquanto nenhum sintoma visível apareceu sobre Flambeau e Ottawa Mandarin. Ao contexto da presente pesquisa essas informações de FROSHEISER (1957) tem interesse apenas comparativo de vez que se referem a *D. phaseolorum* var. *caulivora* e não a *D. phaseolorum* var. *sojae*.

Considerando-se a % de sementes infectadas como um critério de resistência, visto que essa característica está correlacionada com porcentagem de germinação (WALLEN e SEAMAN, 1963 e TENNE et alii, 1974), o trabalho de WALLEN e SEAMAN (1963) traz uma indicação indireta, sugerindo que Chippewa é mais resistente do que Harosoy, Harman e Hardome, a *D. phaseolorum*. Os autores do último trabalho, devido ao desacordo de ATHOW e CALDWELL (1954) e THREINEN et alii (1959) quanto à validade da separação das variedades de *D. phaseolorum* evita em fazer essa distinção mas comenta que a maioria dos isolados obtidos correspondiam à variedade *sojae*.

Não obstante Lehman, em 1923, ter relatado perda de "seedlings" através de penetração e decomposição do hipocótilo pelo micélio que se desenvolve a partir do tegumento da semente infectada (citação de WALLEN e SEAMAN, 1963) somente FROSHEISER (1957) usou inocular sementes sadias de 6 variedades de soja para testar resistência varietal a *D. phaseolorum* var. *caulivora*. Infelizmente não foi observado desenvolvimento de nenhum tipo de sintoma mas ficou evidente, em testes adicionais, que

em "seedlings" jovens, sob condições mais severas (em tubos de ensaio) a doença pode se manifestar com apodrecimento da radícula e das raízes.

Depreende-se pelos poucos trabalhos sobre resistência acima citados, que muitos fatores de importância na triagem de variedades resistentes não foram analisados, como por exemplo, a padronização da concentração de inóculo. Como *WALKER (1965)* já chamava a atenção, a concentração de inóculo é um dos importantes fatores a se considerar na seleção de variedades resistentes, especialmente em se tratando de resistência quantitativa. No caso da Queima da Haste e da Vagem de Soja, o patógeno sendo considerado parasita fraco (*LUTTRELL, 1947*), espera-se ser também pouco especializado (*McNEW, 1960*), tendo-se necessidade, portanto, de se pesquisar justamente a resistência quantitativa.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

##### 4.1. Local e época da investigação

O presente trabalho foi realizado nos laboratórios e casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, no período compreendido entre julho de 1975 a janeiro de 1976.

##### 4.2. Fungo

O isolado de *Phomopsis sojae* usado foi proveniente de lotes de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), variedade Bragg, fornecido pelo Projeto Nacional da Soja, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

##### 4.3. Manutenção do Isolado

O isolado foi mantido através de transferências suces-

sivas em meio de cultura de Batata-Dextrose-Agar (BDA), em tubos de ensaio de 15 mm x 150 mm, de onde foram retirados no momento da instalação dos ensaios.

#### 4.4. Ensaios

##### 4.4.1. Influência de meios de cultura e superposição de papel de filtro na esporulação de *Phomopsis sojae*

Foram usados 4 diferentes meios de cultura: Batata-Dextrose-Agar (BDA) (Batata, 200 g; Dextrose, 12 G; Agar, 12 g; Água, q.s.p. 1000 ml); V-8 (Suco V-8, 300 ml; CaCO<sub>2</sub>, 4,5 ; Agar, 15 g; Água, q.s.p. 1000 ml); Aveia-Agar (Farinha de aveia, 60 g; Agar, 12 g; Água q.s.p. 1000 ml); Farinha de soja (Farinha de soja, 60 g; Agar, 12 g; Água q.s.p. 1000 ml). A composição dos meios baseou-se em *TUITE (1969)*.

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, esquema tipo fatorial 4 x 2 (4 meios de cultura, com e sem superposição de discos de papel de filtro) com 3 repetições, perfazendo um total de 24 parcelas. Cada placa de Petri constituiu uma parcela. Os discos de papel de filtro Whatman nº 1, foram superpostos na superfície dos meios solidificados.

As placas de Petri foram incubadas em Biotronette Mark III, por 12 dias, mantidas a 30 cm de distância de duas lâmpadas fluorescentes General Electric de 40 Watts, em presença de luz contínua e a uma tempera

tura de 26° a 29°C. Todos os experimentos subseqüentes foram feitos nessas condições de luz, a menos que seja especificado em contrário.

A repicagem foi feita para o centro de placas de Petri, empregando-se pequenos discos de 5 mm de diâmetro de meio de cultura contendo estruturas do fungo, retirados com o auxílio de um furador de rolhas, da parte periférica de culturas com 7 dias de idade, em BDA.

A avaliação foi feita pela contagem do número de picnídios em 10 campos por placa, com o auxílio da lupa estereoscópica, marca Wild-Heerbrug Switzeland M 5-63207, no aumento de 75 x.

#### 4.4.2. Influência de regime luminoso na esporulação de *Phomopsis sojae* em 4 meios de cultura

Foram usados os mesmos meios de cultura do ensaio anterior (BDA, Aveia-Agar, Farinha de soja e V-8 Agar), e 3 regimes de luz: escuro contínuo, luz contínua e luz alternada (12 horas de luz e 12 horas de escuro). No caso de escuro contínuo, as placas de Petri foram envolvidas em papel de alumínio para impedir a entrada de luz. As técnicas de repicagem e a avaliação foram semelhantes às do ensaio 4.4.1.

Nos diferentes tratamentos foram usados papel de filtro na superfície dos meios contidos nas placas de Petri. O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, constituído em esquema fatorial 4 x 3, com 12 tratamentos e 5 repetições, perfazendo um total de 60 parcelas, sendo que cada placa de Petri, constituiu uma parcela.

#### 4.4.3. Influência do pH na esporulação de *Phomopsis sojae*

Neste ensaio foi usado o meio Aveia-Agar. O pH foi ajustado antes da adição do agar e da autoclavagem, usando-se NaOH ou HCl a 1%. O pH inicial foi calibrado em potenciômetro Beckman Zeromatic II, para os seguintes valores: 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5.

O preparo do inóculo e transferência foram feitos do mesmo modo que nos ensaios anteriores. O meio de Aveia-Agar foi usado, tendo em vista os resultados positivos obtidos em ensaios preliminares, em presença de luz contínua e com superposição de papel de filtro.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 5 repetições, perfazendo um total de 30 parcelas. Cada parcela foi representada por uma placa de Petri. A avaliação foi semelhante as dos itens 4.4.1 e 4.4.2.

#### 4.4.4. Influência de diferentes níveis de nitrogênio e de carbono na reprodução de *Phomopsis sojae*

Neste ensaio foram usados uma fonte de nitrogênio e uma fonte de carbono, em três diferentes níveis de concentração, adicionadas ao meio basal constituído de:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,0 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ , 0,5 g; Agar, 20 g; Extrato de levedura, 0,5 g; Água, q.s.p. 1000 ml. O pH dos tratamentos foi ajustado para 4,5 antes da adição do agar e autoclavagem. A composição do meio basal foi semelhante à de LILLY e BARNETT (1951).

A fonte de nitrogênio foi asparagina e a de carbono D-frutose. Os níveis de concentração de nitrogênio usados foram: 0,3 g; 0,4g; 0,5 g de N/l, enquanto, que os de carbono foram: 5,0 g; 10,0 g; 15,0 g de C/l (TIMNICK *et alii*, 1951).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, constituindo um esquema fatorial 3 x 3. As técnicas de repicagem e avaliação foram feitas do mesmo modo observado nos ensaios anteriores.

#### 4.4.5. Influência de diferentes fontes e níveis de carbono, na esporulação de *Phomopsis sojae*

Utilizando o melhor nível de nitrogênio, 0,4 g de asparagina, do ensaio anterior, foram testadas as seguintes fontes de carbono: Manitol, Lactose e D-frutose, nas concentrações de 5,0; 10,0 e 15,0 g/l. Tanto as fontes de carbono como suas concentrações foram baseadas em TIMNICK *et alii* (1951).

O meio basal usado foi o mesmo do ensaio 4.4.4.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, esquema fatorial 3 x 3, com 9 tratamentos e 3 repetições, perfazendo um total de 27 parcelas. Os pH, técnica de repicagem e avaliação foram os mesmos usados nos ensaios anteriores.

#### 4.4.6. Influência da concentração de inóculo de *Phomopsis sojae* na sobrevivência de 3 variedades de soja

O ensaio foi executado em casa de vegetação. Foram usados vasos de alumínio com diâmetro de 15 cm, em cada um dos quais foram semeadas 10 sementes pré-germinadas de 3 variedades de soja: Santa Rosa, Viçosa e IPBG (Quadro 1). Estas sementes pré-germinadas foram imersas durante aproximadamente um minuto nas suspensões de esporos com as seguintes concentrações:  $3,25 \times 10^4$  esporos/ml;  $3,25 \times 10^5$  esporos/ml; e  $3,25 \times 10^6$  esporos/ml. O controle foi tratado apenas com água estéril. As suspensões de esporos foram obtidas de culturas de *Phomopsis sojae* em meio de Aveia Agar, incubadas sob condições de luz contínua (vide 4.4.1) por 8 dias.

Após a imersão nas suspensões de esporos de diferentes concentrações, as sementes pré-germinadas foram semeadas em vasos contendo solo previamente esterilizado. Após 20 dias, a contar da data do plantio, avaliou-se a porcentagem de plantas sobreviventes.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $4 \times 3$ .

#### 4.4.7. Reação de 10 variedades de soja à inoculação com suspensão de esporos de *Phomopsis sojae*

Neste ensaio foram usadas 10 variedades de soja (números 4 a 13 do Quadro 1) inoculadas com uma suspensão de esporos na concentra-



ção de  $3,25 \times 10^6$  esporos/ml, de acordo com os resultados obtidos no ensaio 4.4.6.

A obtenção do inóculo foi feita do mesmo modo que no ensaio anterior só que incubando-se a cultura do fungo por 12 dias.

A inoculação foi feita em sementes pré-germinadas das variedades utilizadas, mergulhando-se no inóculo determinado e, logo a seguir, plantando-se-as em vasos contendo solo esterilizado.

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado. A avaliação dos resultados foi feita 20 dias após a inoculação e plantio, determinando-se a porcentagem de plantas sobreviventes.

#### 4.4.8. Análises estatísticas

Os critérios das análises estatísticas foram feitas segundo o modelo de experimento inteiramente casualizado, com os dados transformados segundo o recomendado por *SNEDECOR (1948)*, da seguinte maneira:

Ensaio 1º: dados transformados em  $\sqrt{x}$   
 Ensaio 2º: dados transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$   
 Ensaio 3º: dados transformados em  $\ln x_{ij}$   
 Ensaio 4º: dados transformados em  $Y_{ij} = \sqrt{X_{ij}}$   
 Ensaios 6º e 7º: dados transformados em  $\text{arc. sen } \sqrt{\%}$

No ensaio 5º, não foram feitas transformações.

Para as comparações de médias, foi aplicado o teste de Tukey, segundo *PIMENTEL GOMES (1966)*.

Quadro 1 - Variedades de soja utilizadas (Ensaio 4.4.6 e 4.4.7)

Variedades	Origem	Procedência
1. Santa Rosa	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)
2. Viçoja	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)
3. IPBG	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)
4. Tarôa	Colombia	Est. Exp. Uberaba(IPEACO) (MG)
5. Lili	Colombia	Est. Exp. Uberaba(IPEACO) (MG)
6. Coker 136	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)
7. Coker 102	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)
8. Coker 338	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)
9. Hampton 266	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)
10. Davis	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)
11. Prata	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)
12. Parana	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)
13. IAS 1	Estados Unidos	IPAGRO - Porto Alegre (RS)

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Influência de meios de cultura e da superposição de papel de filtro na esporulação de *Phomopsis sojae*

Os resultados deste ensaio, montado em 01/07/75 e colhido entre 10 e 11 de julho de 1975, são apresentados, resumidamente, no Quadro 2 e os dados originais, dados transformados em  $\sqrt{x}$  e as análises estatísticas no Apêndice 1.

Quadro 2 - Influência de 4 meios de cultura e da superposição de papel de filtro Whatman nº 1 na esporulação de *Phomopsis sojae*

Meios de Cultura	Nº de picnídios/campo* nos meios indicados					
	Com papel de filtro		Sem papel de filtro		Média**	
	x	$\sqrt{x}$	x	$\sqrt{x}$	x	$\sqrt{x}$
BDA	38,17	6,13	36,37	6,01	37,27	6,07a
V-8	66,77	8,12	47,50	6,80	57,14	7,46a
Soja	55,53	7,45	55,20	7,41	55,37	7,43a
<u>Aveia</u>	<u>173,50</u>	<u>13,16</u>	<u>111,90</u>	<u>10,56</u>	<u>142,70</u>	<u>11,86b</u>
Média**	83,49	8,72b	62,74	7,70a		

\* média de 3 placas, cada placa representada pela média de contagem de 10 campos visuais de 5,5 mm de diâmetro de microscópio estereoscópico; dados transformados em  $\sqrt{x}$

\*\* médias não seguidas pela mesma letra diferem estatisticamente ao nível de 1%. C.V. = 10,37%

A análise estatística dos dados originais transformados em  $\sqrt{x}$  (vide Apêndice 1) mostrou que houve efeito significativo de meio de cultura e de presença de papel de filtro, não ocorrendo interação desses 2 fatores. Entretanto, o desdobramento dos graus de liberdade para estudar os efeitos de papel de filtro dentro dos meios de cultura, mostrou que esse efeito foi estatisticamente significativo só em meio de aveia-agar.

Observa-se que, tanto na ausência como na presença de papel de filtro, o meio de aveia-agar supera significativamente aos demais.

A análise de variância do presente ensaio, também mostrou, que a presença dos discos de papel de filtro sobre os meios solidificados, aumentaram significativamente a produção de esporos.

5.2. Influência de regime luminoso na esporulação de *Phomopsis sojae* em 4 meios de cultura

Os resultados deste experimento, instalado em 29/07/75 e colhido entre 7 e 8 de agosto de 1975, são apresentados, resumidamente, no Quadro 3 e os dados originais, dados transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$  e sua análise estatística no Apêndice 2.

Quadro 3 - Influência de 3 regimes luminosos na esporulação de *Phomopsis sojae* em 4 meios de cultura

Meios de Cultura	Nº de picnídios/campo* nos meios indicados							
	L.C.		L.A.		E.C.		Médias**	
	x	$\sqrt{x+0,5}$ **	x	$\sqrt{x+0,5}$ **	x	$\sqrt{x+0,5}$ **	x	$\sqrt{x+0,5}$
BDA	29,72	5,49a	9,82	3,18a	2,78	1,67	14,11	3,45a
Aveia	107,68	10,39c	64,00	8,02c	1,76	1,45	57,81	6,62c
Soja	50,88	7,16b	23,80	4,85b	0,38	0,92	25,02	4,31b
V-8	52,98	7,28b	18,30	4,29ab	0,48	0,91	23,92	4,16b
Média**	60,32	7,58c	28,98	5,09b	1,35	1,24		

\* média de 5 placas, cada placa representada pela média de contagem de 10 campos visuais de 5,5 mm de diâmetro de microscópio estereoscópico; dados transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ . L.C. = luz contínua; L.A. = luz alternada e E.C. = escuro contínuo.

\*\* médias não seguidas pela mesma letra diferem estatisticamente ao nível de 1% (Tukey). C.V. = 12,49%.

A análise estatística (vide Apêndice 2) mostra que houve efeito de meio de cultura, de regime luminoso e de interação dos dois fatores. O desdobramento da interação para se estudar o efeito de meios de cultura dentro de regime de luz mostrou que meio de aveia-agar foi melhor do que os meios de soja e V-8, os quais, por sua vez, foram melhores do que BDA, em presença de luz contínua e de luz alternada; entretanto, em escuro contínuo, não houve diferença entre os meios.

O regime de luz contínua foi estatisticamente melhor do que de luz alternada e este melhor do que escuro contínuo, em todos os meios de cultura.

### 5.3. Influência do pH na esporulação de *Phomopsis sojae*

Os resultados deste ensaio, montado em 20/08/75 e colhido entre 29 e 30 de agosto de 1975, com os dados transformados em  $\ln X_{ij}$ , são apresentados no Quadro 4 e os dados originais e a análise estatística dos dados transformados no Apêndice 3.

Quadro 4 - Influência do pH do meio de aveia-agar na esporulação de *Phomopsis sojae*

pH	Nº de picnídios/campo* nas repetições					Média**
	I	II	III	IV	V	
4,0	3,466	2,827	3,766	4,473	4,191	3,745ab
4,5	4,303	4,311	4,916	3,940	4,397	4,373b
5,0	4,094	4,584	3,627	4,087	3,243	3,927ab
5,5	4,329	4,176	3,965	3,928	3,661	4,012ab
6,0	4,157	3,570	3,595	2,890	3,231	3,489a
6,5	3,235	3,557	3,723	3,140	3,049	3,301a

\* média de contagem de 10 campos visuais de 5,5 mm de diâmetro de microscópio estereoscópico/placa; dados transformados em  $\ln X_{ij}$ .

\*\* médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 5% (DMS = 0,782). C.V. = 11,51%.

Como se pode notar pelo Quadro 4, não ocorreu variação muito grande entre os diferentes pH, a significância estatística na comparação de médias, ocorrendo somente a 5% e, além disso, somente entre os pH 6,0 e 6,5.

#### 5.4. Influência de diferentes níveis de nitrogênio e de carbono na reprodução de *Phomopsis sojae*

Os resultados deste ensaio, montado em 10/09/75 e colhido entre 19 e 20 de setembro de 1975, com as médias de 5 repetições, são

apresentados no Quadro 5 e os dados originais, dados originais transformados em  $Y_{ij} = \sqrt{X_{ij}}$  e a análise estatística dos dados transformados no Apêndice 4.

Quadro 5 - Influência de três níveis de carbono (D-frutose) e de nitrogênio (asparagina) na esporulação de *Phomopsis sojae*

Níveis de N (asparagina) (g/l)	Nº de picnídios/campo* nos níveis de D-frutose (em g/l)			Média**
	5	10	15	
0,3	5,82	6,90	4,12	5,61a
0,4	8,44	9,21	7,39	8,35c
0,5	6,39	7,86	6,07	6,77b
Médias**	6,88b	7,99c	5,86a	

\* média de 5 placas, cada placa representada pela média de contagem de 10 campos visuais de 5,5 mm de diâmetro de microscópio estereoscópico; dados transformados em  $Y_{ij} = \sqrt{X_{ij}}$ .

\*\* médias não seguidas pela mesma letra diferem estatisticamente ao nível de 1%. C.V. = 12,31%.

A análise de variância (vide Apêndice 4) mostrou que há diferenças altamente significativas entre níveis de nitrogênio e de carbono utilizados. O melhor nível de nitrogênio foi 0,4 g seguido de 0,5 g e 0,3 g/l de asparagina, enquanto que o melhor nível de carbono foi 10 g, seguido de 5 g e 15 g/l de D-frutose.



5.5. Influência de diferentes fontes e níveis de carbono na esporulação de *Phomopsis sojae*.

Os resultados deste ensaio, instalado em 1º/10/75 e colhido entre 10 e 11 de outubro de 1975, são apresentados, resumidamente, no Quadro 6 e os dados originais e as análises estatísticas no Apêndice 5.

Quadro 6 - Influência de 3 fontes e níveis de carbono na esporulação de *Phomopsis sojae* em meio basal contendo 0,4g de asparagina

Fontes de Carbono	Nº de picnídios/campo* nos níveis de Carboidratos (g/l)			Média**
	5**	10**	15**	
Manitol	125,03c	192,80c	161,90c	159,91c
Lactose	64,73a	82,87a	114,00b	87,20b
D-frutose	80,87b	93,67b	64,20a	79,58a
Médias**	90,21a	123,11c	113,36b	

\* média de 3 placas, cada placa representada pela média da contagem de 10 campos visuais de 5,5 mm de diâmetro de microscópio estereoscópico.

\*\* médias não seguidas pela mesma letra diferem ao nível de 1% para fontes de carbono e para níveis e ao nível de 5% para fontes dentro de níveis. C.V. = 5,67%.

A análise estatística (vide Apêndice 5) revelou efeito significativo de fonte e nível de carboidrato e da sua interação (fonte x nível) na Esporulação de *Phomopsis sojae*. Nos níveis de 5 e 10 g/l, Manitol foi melhor e Lactose pior fonte de carbono do que D-frutose; todavia no nível de 15 g/l, D-frutose foi superado não só por Manitol mas também por Lactose na indução de esporulação do fungo.

5.6. Influência da concentração de inóculo de *Phomopsis sojae* na sobrevivência de 3 variedades de soja

Os resultados deste ensaio, montado em 15/11/75 e colhido entre 04 e 05 de dezembro de 1975, com dados transformados em arco sen.  $\sqrt{\%}$ , são apresentados, resumidamente, no Quadro 7 e os dados originais, dados transformados e análise estatística no Apêndice 6.

Quadro 7 - Influência da concentração de inóculo de *Phomopsis sojae* na sobrevivência de 3 variedades de soja

Concentração de Inóculo (esporos/ml)	% de sobrevivência* das variedades			Média**
	Santa Rosa	Viçoja	IPBG	
0	17,78	18,11	18,44	18,11c
3,25 x 10 <sup>4</sup>	16,06	16,77	17,11	16,64b
3,25 x 10 <sup>5</sup>	15,31	14,95	15,31	15,19b
<u>3,25 x 10<sup>6</sup></u>	<u>11,48</u>	<u>11,94</u>	<u>13,34</u>	12,25a
Médias**	15,15	15,44	16,34	

\* dados transformados em arco sen.  $\sqrt{\%}$ , média de 3 repetições, cada repetição representada por um vaso com 10 sementes pré-germinadas.

\*\* médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey). C.V. = 5,91%.

A análise estatística dos dados correspondentes ao Quadro 7 (vide Apêndice 6) mostrou efeito significativo só de concentração de inóculo. À medida que se aumentou a concentração de inóculo, diminuiu a sobrevivência. Entre as concentrações 3,25 x 10<sup>4</sup> e 3,25 x 10<sup>5</sup>

não houve diferença estatística a 1% mas somente a 5%.

Dentre as três concentrações empregadas, verificou-se que  $3,25 \times 10^6$  esporos/ml, foi a que melhor se comportou para este tipo de trabalho.

5.7. Reação de 10 variedades de soja à inoculação com suspensão de esporos de *Phomopsis sojae*

Os resultados deste ensaio, montado em 22/12/75 e colhido entre 10 e 11 de janeiro de 1976, com os dados transformados em arco sen.  $\sqrt{\%}$ , são apresentados no Quadro 8 e os dados originais, dados transformados e a análise estatística dos dados transformados no Apêndice 7.

Quadro 8 - Reação de 10 variedades de soja à inoculação com suspensão de esporos de *Phomopsis sojae*

Variedades	Sobrevivência*	
	%	arco sen. $\sqrt{\%}$ **
Tarôa	74	15,776a
Prata	58	13,928ab
Davis	50	12,896bc
Paraná	50	12,872bc
Lili	48	12,644bc
Coker 338	38	11,228cd
Coker 102	36	10,822cde
Coker 136	34	10,604cde
IAS 1	26	9,182de
Hampton 266	22	8,500e

\* média de 5 repetições, cada repetição representada por 1 vaso com 10 sementes pré-germinadas.

\*\* médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 1% de probabilidade (Teste de Tukey  $\Delta = 2,66$ ). C.V. = 8,93%.

Pelo teste de Tukey de Tukey ao nível de 1% de probabilidade, pode-se dizer que as variedades Tarôa e Prata não diferiram entre si quanto a porcentagem de plantas sobreviventes no ensaio de inoculação, sendo que a variedade Tarôa diferiu estatisticamente de todas as demais, apresentando a mais baixa % de plantas mortas.

A variedade Prata diferiu das variedades Coker 338, Coker 102, Coker 136, IAS 1 e Hampton 266. As variedades Davis, Paraná e Lili diferiram apenas de IAS 1 e Hampton 266.

A variedade Coker 338 diferiu somente de Hampton 266, sendo que as variedades Coker 102, Coker 136, IAS 1 e Hampton não diferiram entre si.

## 6. DISCUSSÃO

Em todos os ensaios de esporulação, o fato de se ter observado a formação exclusivamente de picnídios, permite concluir que o isolado de *Phomopsis* utilizado no presente trabalho não é *Diaporthe phaseolorum* var. *batatatis* de WELCH e GILMAN (1948) ou *D. phaseolorum* var. *caulivora* de ATHOW e CALDWELL (1954) de vez que essa variedade do fungo forma peritécios com facilidade e picnídios muito dificilmente, em meio de cultura como o BDA. A facilidade de formação de peritécios por *D. phaseolorum* var. *batatatis* é bem evidente no trabalho de TIMNICK et alii (1951) que encontrou formação de peritécios em vários meios de cultura (diferentes fontes de carbono e nitrogênio) e efeito favorável de luz alternada e luz contínua na indução da reprodução sexuada. Pela característica de formar exclusivamente picnídios, o isolado do presente trabalho corresponde ao tipo descrito como *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae*. [LUTTRELL, 1947; WELCH e GILMAN (1948); ATHOW e CALDWELL (1954)].

Os resultados do primeiro ensaio, mostrando que meio de aveia é superior aos de V-8, soja e, principalmente, BDA na formação de picnídios de *Phomopsis sojae*, dão bem uma idéia da utilidade do meio

de aveia na obtenção de esporos assexuais, visto que, o efeito favorável desse meio abrange várias espécies de fungos (TUIITE, 1969; REIS, 1973; VEIGA, 1973; KIMATI, 1975). O efeito favorável de papel de filtro na esporulação, ainda no primeiro ensaio, era esperado em conformidade com os relatos de literatura em outras espécies fúngicas (LUKENS, 1960; McDONALD e MARTENS, 1963; e REIS, 1973), se bem que KIMATI (1975) tivesse encontrado que o efeito favorável ou desfavorável do papel de filtro depende da concentração do meio de cultura. O papel desempenhado pela presença de celulose do papel de filtro foi especulado ser o de aumentar a superfície de esporulação (REIS, 1973), podendo-se, entretanto, ter outras explicações pois o efeito indutor de papel de filtro na esporulação de *Alternaria zinniae* foi conseguido por McDONALD e MARTENS (1963) com brindo discos de papel de filtro, impregnado de suco V-8, com agar-água.

Os resultados do segundo ensaio confirmam os do primeiro quanto à superioridade do meio de aveia em relação aos de V-8, soja e de BDA. Ademais, concordam com os resultados de Lehman (citação de TIMNICK et alii, 1951) com relação ao efeito desfavorável do escuro contínuo na esporulação de *Phomopsis sojae*. Adicionalmente, visto a pobreza da literatura pertinente a esporulação deste fungo, trazem informações originais de que a luz contínua, mais do que a alternada, favorece a reprodução de *Phomopsis sojae*, em todos os meios testados. A influência favorável da luz na esporulação de muitos Fungos Imperfeitos é amplamente conhecida (MARSH et alii, 1959; LILLY e BARNETT, 1951; HAWKER, 1957; COCHRANE, 1958; TUIITE, 1969; LEACH, 1971). Apesar desse reconhecido efeito da luz na esporogênese, não se conhece(m) o(s) mecanismo(s) de ação. Se-

gundo LEACH (1965), em fungos fotossensíveis por ele estudados, substâncias esporogênicas são induzidas a se formar pela ação de luz ultravioleta. É possível que o fungo usado no presente trabalho se enquadra dentro deste grupo, de vez que a análise do espectro de radiação de lâmpadas fluorescentes, luz do dia, revela presença de radiações com comprimento de onda de 310 nm (LEACH, 1971), pico de absorção de substâncias esporogênicas isoladas por TRIONE *et alii* (1966).

A variação de pH inicial do meio testado (de 4 a 6.5) permitiu produção de picnídios (ensaio 3º), como tinha permitido para produção de peritécios de *D. phaseolorum* var. *batatatis* (TIMNICK *et alii*, 1951). Em termos genéricos, estes resultados seguem o que se pode esperar de influência de pH na esporulação em fungos, conforme HAWKER (1957) e COCHRANE (1958), isto é, na faixa entre o mínimo e o máximo existem diferenças quantitativas nas respostas.

Segundo LILLY e BARNETT (1951) um equilíbrio apropriado entre os constituintes do meio é muito importante no crescimento e esporulação de fungos. Nesse sentido, a quantidade relativa de uma fonte nitrogenada em função da quantidade da fonte de carbono, agindo pelo fator carbono/nitrogênio, desempenha papel importante na esporulação dos fungos em geral (HAWKER, 1957). Os resultados dos ensaios 4º (Influência de diferentes níveis de nitrogênio e de carbono) e 5º (Influência de diferentes fontes e níveis de carbono) não só se ajustam neste contexto geral mas mostram que a afirmativa acima é válida para diferentes fontes de carbono. Apesar de o isolado de *D. phaseolorum* usado por TIMNICK *et alii* (1951) ser diferente ao da presente pesquisa, as melhores fontes

de carbono daquele trabalho tiveram bom efeito também aqui.

O fato de que fatores ambientais influem na taxa e no grau de desenvolvimento de doença, está bem estabelecido (*GALLI et alii*, 1968). Também é reconhecido por muitos melhoristas que a expressão da resistência depende de uma ou outra condição externa à qual se submete a população em melhoramento e, nessas circunstâncias, se o teste não é suficientemente severo, ocorrem "escapes", mas se for muito severo, valiosos germoplasmas podem ser perdidas (*WALKER*, 1965). Dentro deste contexto, existem muitos exemplos (*WALKER*, 1965) mostrando que a concentração de inóculo é um fator importante na seleção de variedades resistentes. Essa importância é de tal ordem que a calibração da concentração do inóculo chega a constituir um critério de avaliação da resistência, isto é, o critério do limiar numérico de infecção (*GALLI et alii*, 1968). Os resultados dos ensaios 6º (Influência da concentração de inóculo) e 7º (Reação de 10 variedades de soja), fundamentados nas considerações acima, mostram primeiro que o patógeno, mesmo na mais alta concentração de inóculo testada, não chega a matar todas as plantas, o que pode ser visto como em concordância com as afirmações de que o fungo é parasita fraco (*LUTTRELL*, 1947). Em segundo lugar, mostram a possibilidade de selecionar as variedades inoculando-se sementes pré-germinadas. Entretanto, como *FROSHEISER* (1957) já discutia em seu trabalho com *D. phaseolorum* var. *caulivora*, é impossível dizer se existe correlação entre quantidade de infecção tardia em diferentes variedades e o grau de susceptibilidade dessas variedades num estágio mais jovem.



## 7. CONCLUSÕES

Do presente trabalho podem ser tiradas as seguintes conclusões:

1) Meio de aveia foi sempre melhor do que os de V-8, soja e BDA, tanto em luz contínua, como em luz alternada para esporulação de *Phomopsis sojae*.

2) A presença de papel de filtro (nos 4 meios) foi favorável à esporulação.

3) Luz contínua foi melhor do que luz alternada, e esta melhor que escuro contínuo na esporulação de *Phomopsis sojae*, em todos os meios.

4) Na faixa de pH testada, de 4,0 a 6,5, o fungo esporula bem, tendo melhor esporulação no pH 4,5.

5) A melhor relação C/N para esporulação foi 0,4 g/l de asparagina/10 g/l de D-frutose. A D-frutose pode ser substituída vantajosamente por Manitol (10 g/l) e por Lactose (15 g/l), conservando-se 0,4 g/l de asparagina.

6) Ao aumento da concentração de inóculo corresponde maior índice de doença e o uso da maior concentração de esporos permite mostrar diferenças na % de sobrevivência de "seedlings" de diferentes variedades.

## 8. SUMMARY

An isolate of *Phomopsis sojae* grew under different conditions of light, pH, sources of carbon and C/N ratios. It was concluded that sporulation is best under the following conditions:

1) Oatmeal agar medium was better than V-8, soybean meal, or potato dextrose agars, under continuous light as well as alternating light; 2) with filter paper superimposed on the media, in all media and especially with oatmeal agar; 3) continuous light promoted sporulation more than alternating light. Continuous darkness inhibited sporulation; 4) pH 4.5, but pycnidia were produced under all tested pH's (4.0 to 6.5); 5) 0.4 g/l asparagin to 10 g/l of D-fructose, when used as sources of nitrogen and carbon, respectively; 6) 10 g/l of manitol or 15 g/l of lactose was better than 10 g/l of D-fructose, with asparagin maintained at 0.4 g/l.

"Seedlings" of 3 varieties of soybean (Santa Rosa, Viçoja and IPBG), were inoculated with spore suspensions of this *Phomopsis*

*sojae* isolate at  $3,25 \times 10^4$ ,  $3,25 \times 10^5$  and  $3,25 \times 10^6$  concentrations. All suspensions resulted in a similar degree of susceptibility for each concentration but lower survival rates with increase of concentration. Ten additional soybean varieties were inoculated with the highest concentration ( $3,25 \times 10^6$ ). There was variability in the survival rates which could be due to differences in resistance.

## 9. LITERATURA CITADA

- ARAÚJO, I.D.; O.S. FONTOURA e F.C. NETTO. 1974. Levantamento patológico da soja (*Glycine max* L.) Merrill nas lavouras do Paraná em 1972/73. Separata (Vol. 17 nº 1) do Departamento de Extensão e Fomento da Secretaria da Agricultura do Paraná. 8p.
- ATHOW, K.L. e R.M. CALDWELL. 1954. A comparative study of *Diaporthe* Stem Canker and Pod and Stem Blight of Soybean. *Phytopathology* 44: 319-325.
- COCHRANE, V.W. 1958. Physiology of fungi. John Wiley and Sons, Inc., New York. 526 p.
- ELLIS, M.A.; C.C. MACHADO; C. PRASARTSEE e J.B. SINCLAIR. 1972. Occurrence of *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (*Phomopsis* sp. ) in various Soybean seedlots. *Plant. Dis. Repr.* 58: 1-8.

- FERREIRA, P.L. 1973. As principais doenças da soja. *Atualidades Agronômicas* nº 4. São Paulo, 54-51.
- FROSHEISER, F.I. e M.F. KERNKANP. 1954. Asexual spore production in *Diaporthe phaseolorum* var. *batatatis*. *Phytopatology* 44: 489.
- FROSHEISER, F.I. 1957. Studies on the etiology and epidemiology of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*. The cause of Stem Canker of Soybeans. *Phytopathology* 47: 87-94.
- GALLI, F.; H. TOKESHI; P.C.T. CARVALHO; E. BALMER; H. KIMATI; C.O.N. CARDOSO e C.L. SALGADO. 1968. Manual de Fitopatologia - Doenças das Plantas e seu Controle. São Paulo. Biblioteca Agronômica Ceres. 640 p.
- HAWKER, L.E. 1957. The physiology of reproduction in Fungi. Cambridge, University Press, Cambridge, 128 p.
- HILDEBRAND, A.A. 1954. Observations on the occurrence of the Stem Canker and Pod and Stem Blight Fungi on Mature Stems of Soybean. *Plant Dis. Reprtr.* 38: 640-646.
- KIMATI, H. 1975. Taxonomia, Esporulação e Patogenicidade de *Colletotrichum gramnicola* (Ces.) Wils. (sensu Arx, 1957). Tese de Livre-Docência. ESALQ, Piracicaba, São Paulo. 103 pp (mimeografado).
- LEACH, C.M. 1965. Detection of ultraviolet absorbing substances in living mycelium of fungi. *Mycologia* 57: 291-300.

- LEACH, C.M. 1971. A practical guide to the effects of visible and ultraviolet light on fungi. In Methods in Microbiology, 4, cap. 23, 609-663 [NORRIS, J.R. e D.W. RIBBONS, eds., New York, Academic Press].
- LEHMAN, P.S.; C.C. MACHADO; M.T. TARRAGÓ e C.F. CORREA. 1975. Levantamento de doenças da soja nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. *Summa Phytopathologica* (no prelo).
- LILLY, V.C. e BARNETT, H.L. 1951. Physiology of the fungi. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York. 464 p.
- LUKENS, R.L. 1960. Conidial production from filter paper cultures of *Helminthosporium vagans* and *Alternaria solani*. *Phytopathology* 50: 867-868.
- LUTTRELL, E.S. 1947. *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* on Crop plants. *Phytopathology* 37: 445-465.
- MARSH, P.B. e E.E. TAYLOR. 1959. A guide to the literature on certain effects of light on fungi: reproduction, morphology, pigmentation and phototropic phenomena. *Plant Dis. Repr.*, Supple 261, 251-312.
- MCDONALD, W.C. e J.W. MARTENS. 1963. Leaf and stem spot of sunflowers caused by *Alternaria zinniae*. *Phytopathology* 53: 93-96.
- MCNEW, G.L. 1960. The nature, origin, and evolution of parasitism. In Horsfall e Dimond, *Plant Pathology*. Vol. II: 22-66. Academic Press.

- PIMENTEL GOMES, F. 1966. Curso de estatística experimental. 3ª ed. Piracicaba. 404 p.
- REIS, E.M. 1973. Efeito da concentração de inóculo de *Colletotrichum dematium* f. *truncata* (Schw.) Merrill. Tese de Mestre, apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 48 pp (mimeografado).
- SNEDECOR, G.W. 1948. Métodos de estatística. Buenos Aires, Acm. 558 p.
- TENNE, F.D.; C. PRASARTSEE; C.C. MACHADO e J.B. SINCLAIR. 1974. Variation in germination and seedborne pathogens among Soybean seed lots from three regions in Illinois. *Plant Dis. Reprtr.* 58:411-413.
- THREINEN, J.T.; T. KOMMEDAHL e R.J. KLUG. 1959. Hybridization between radiation-induced mutants of two varieties of *Diaporthe phaseolorum*. *Phytopathology* 49: 797-801.
- TIMNICK, M.B.; V.G. LILLY e H.L. BARNETT. 1951. Factors affecting sporulation of *Diaporthe phaseolorum* var. *batatatis* from Soybean. *Phytopathology* 41: 327-336.
- TRIONE, E.J.; C.M. LEACH e J.T. MUTCH. 1966. Sporogenic substances isolated from fungi. *Nature*, 212: 163-164.
- TUITE, J. 1969. Plant pathological methods. Fungi and Bacteria. Minneapolis, Burgees Publishing Company. 239 p.



- VEIGA, P. 1973. *Cercospora sojina* Hara: Obtenção de inóculo, inoculação e avaliação da resistência em soja (*Glycine max* L.) Merril. Tese de Mestre, apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo, Piracicaba, 32 pp (mimeografado).
- WALKER, J.C. 1965. Use of environmental factors in screening for disease resistance. *Ann. Rev. Phytopathology* 3: 197-208.
- WALLEN, V.R. e W.L. SEAMAN. 1962. Seed-borne aspects of *Diaporthe phaseolorum* in Soybean. *Phytopathology* 52: 756.
- WALLEN, V.R. e W.L. SEAMAN. 1963. Seed infection of Soybean by *Diaporthe phaseolorum* and its influence on host development. *Canadian Journal of Botany* 41: 13-21.
- WELCH, A.W. e J.C. GILMAN. 1948. Hetero and Homo-Thallic types of *Diaporthe* on Soybeans. *Phytopathology* 38: 628-629.
- WHITEHEAD, M.D. 1966. Stem canker and blight of birdsfoot-trefoil and soybeans incited by *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae*. *Phytopathology* 56: 396-400.

APÊNDICE 1

a - Dados originais e transformados em  $\sqrt{x}$  correspondentes aos resultados apresentados no Quadro 2

Meios de Cultura	Número de picnídios/campo nos meios indicados											
	Com papel de filtro			Sem papel de filtro								
	x	$\sqrt{x}$	x	x	$\sqrt{x}$	$\sqrt{x}$						
BDA	50,6	27,6	36,3	7,11	5,25	6,02	36,4	43,3	29,4	6,03	6,58	5,42
V-8	73,1	46,5	80,7	8,55	6,82	8,98	60,7	26,9	54,9	7,79	5,19	7,41
Aveia	157,8	188,3	174,4	12,56	13,72	13,21	94,9	119,5	121,3	9,74	10,93	11,01
Soja	59,5	53,3	53,8	7,71	7,30	7,33	60,5	60,5	44,6	7,78	7,78	6,68

## b - Análise de variância dos dados transformados

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	7	127,3848	18,1978	25,15**
Resíduo	16	11,5780	0,7236	
Total	23	138,9628		

## c - Análise de variação dos dados transformados, separando os graus de liberdade e soma de quadrados para tratamentos

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Meios de cultura	3	114,5831	38,1944	52,78**
Papel de filtro	1	6,2219	6,2219	8,60**
Interação (MC x PF)	3	6,5798	2,1933	3,03
Resíduo	16	11,5780	0,7236	
Total	23			

d - Análise de variância dos dados transformados, para desdobramento dos graus de liberdade para estudar os efeitos de papel de filtro dentro dos meios de cultura

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Meios de cultura	3	114,5831	38,1944	52,78**
P.F. dentro de BDA	1	0,0204	0,0204	0,028
P.F. dentro de V-8	1	2,6136	2,6136	3,61
P.F. dentro de Soja	1	0,0017	0,0017	0,002
P.F. dentro de Aveia	1	10,1660	10,1660	14,05 **
Resíduo	16	11,5780	0,7236	
Total	23			

\*\* = significativo ao nível de 1% de probabilidade  
C.V.=10,37%

Comparação de Médias (Teste de Tukey)

	5%	1%
de meios de cultura....	1,38	1,76
de papel de filtro.....	0,72	0,99
de P.F. dentro de M.C..	1,47	2,02

APENDICE 2

a - Dados originais e transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$  correspondentes aos resultados apresentados no Quadro 3 a.1.

Meios de Cultura	Número de picnídios/campo nos meios indicados										
	L.C.	L.C.	x	L.C.	L.C.	L.C.	L.C.	L.C.	L.C.	L.C.	$\sqrt{x + 0,5}$
BDA	29,7	29,9	24,1	34,4	30,5	5,50	5,51	4,96	5,91	5,57	
Aveia	109,7	101,6	120,4	111,1	95,6	10,50	9,80	10,10	11,00	10,56	
Soja	57,5	45,6	49,9	51,6	49,8	7,62	6,79	7,10	7,22	7,09	
V-8	43,9	68,2	51,9	60,1	40,8	6,66	7,78	8,29	7,24	6,43	

a.2.

Meios de Cultura	Número de picnídios/campo nos meios indicados										
	L.A.	L.A.	L.A.	L.A.	L.A.	L.A.	L.A.	L.A.	L.A.	L.A.	$\sqrt{x + 0,5}$
	x										
BDA	9,1	14,8	9,2	10,6	5,4	3,10	3,91	3,11	3,33	2,43	
Aveia	70,8	70,1	58,9	61,0	59,2	8,44	8,40	7,71	7,84	7,73	
Soja	11,5	20,8	32,3	19,7	34,7	3,46	4,62	5,73	4,49	5,93	
V-8	22,0	26,8	14,0	17,0	11,7	4,74	5,22	3,81	4,18	3,49	

a.3.

Meios de Cultura	Número de picnídios/campo nos meios indicados									
	E.C.					E.C.				
	x	$\sqrt{x + 0,5}$								
BDA	6,4	1,4	1,1	0,0	5,0	2,63	1,38	1,26	0,71	2,35
Aveia	2,6	2,7	0,0	1,4	2,1	1,76	1,79	0,71	1,38	1,61
Soja	0,7	1,0	0,0	0,2	0,0	1,10	1,22	0,71	0,84	0,71
V-8	0,0	0,0	2,4	0,0	0,0	0,71	0,71	1,70	0,71	0,71

b - Análise de variância dos dados transformados

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	11	538,6276	48,9661	1609,37**
Resíduo	48	16,0648	0,3347	
Total	59	554,6924		

c - Análise de variância dos dados transformados, separando a soma de quadrados de tratamentos e graus de liberdade respectivos

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Meios de cultura	3	85,5003	28,5001	85,15**
Fontes de luz	2	408,8601	204,4301	610,79**
Interação (MC x FL)	6	44,2672	7,3779	22,04**
Resíduo	48	16,0648	0,3347	
Total	59			

d - Análise de variância dos dados transformados, para desdobramento dos graus de liberdade para estudar os efeitos dos diferentes meios de cultura na presença ou ausência de luz

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Regimes de luz	2	408,8601	204,4301	610,79**
M.C. em presença L.C.	3	62,6925	20,8975	62,44**
M.C. em presença L.A.	3	64,8716	21,6239	64,61**
M.C. em presença E.C.	3	2,2034	0,7345	2,19
Resíduo	48	16,0648	0,3347	
Total	59	554,6924		

\*\* = significativo ao nível de 1% de probabilidade  
 Teste de Tukey = 0,97. C.V.=12,49%



e - Análise de variância dos dados transformados, para desdobramento dos graus de liberdade para estudar os efeitos dos regimes de luz dentro dos diferentes meios de cultura

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Meios de cultura	3	85,5003	28,5001	85,15**
R.L. dentro de BDA	2	37,0961	18,5480	55,41**
R.L. dentro de Aveia	2	214,6405	107,3202	320,64**
R.L. dentro de Soja	2	99,7592	49,8796	149,02**
R.L. dentro de V-8	2	101,6314	50,8157	151,82**
Resíduo	48	16,0648	0,3347	
Total	59	554,6923		

\*\* = significativo ao nível de 1% de probabilidade  
C.V. = 12,49%

#### Comparação de Médias (Teste de Tukey)

	5%	1%
de meios de cultura (MC)...	0,56	0,70
de regime de luz (RL).....	0,44	0,56
de MC dentro de RL .....	0,98	1,21
de RL dentro de MC .....	0,88	1,12

## APENDICE 3

a - Dados originais correspondentes aos resultados apresentados no Quadro 4

Repetições	Tratamentos					
	4,0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5
I	32,0	73,9	60,0	75,9	63,9	25,4
II	16,9	74,5	97,9	65,1	35,5	28,7
III	43,2	136,4	37,6	52,7	36,4	41,4
IV	87,6	51,4	59,5	50,8	18,0	23,1
V	66,1	81,2	25,6	38,9	25,3	21,1

b - Análise de variância dos dados transformados

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	5	3,69305	0,73861	3,85*
Resíduo	24	4,60842	0,19202	
Total	29			

\* = significativo ao nível de 5% de probabilidade  
C.V.=11,51%

APÊNDICE 4

a. Dados originais transformados em  $Y_{ij} = \sqrt{X_{ij}}$  correspondentes aos resultados apresentados no Quadro 5

Repetições	Nº de picnídios/campo nos diferentes níveis de N e C									
	N <sub>0</sub> C <sub>0</sub>	N <sub>0</sub> C <sub>1</sub>	N <sub>0</sub> C <sub>2</sub>	N <sub>1</sub> C <sub>0</sub>	N <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	N <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> C <sub>0</sub>	N <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	N <sub>2</sub> C <sub>2</sub> *	
I	4,98	7,07	4,30	9,43	7,30	6,45	7,50	8,11	6,15	
II	5,54	4,56	4,09	8,49	9,76	8,52	6,91	7,88	5,91	
III	7,03	6,44	4,10	8,01	9,38	7,78	6,03	7,74	5,72	
IV	5,64	8,86	4,22	9,03	9,76	7,71	5,92	7,91	6,14	
V	5,92	7,61	3,89	7,28	9,89	6,53	5,60	7,69	6,46	

\* N<sub>0</sub> = 0,3 g asparagina; N<sub>1</sub> = 0,4 g asparagina e N<sub>2</sub> = 0,5 g asparagina.  
C<sub>0</sub> = 5,0 g D-frutose; C<sub>1</sub> = 10,0 g D-frutose e C<sub>2</sub> = 15,0 g D-frutose.

b - Dados originais correspondentes aos resultados apresentados no Quadro 5

Repetições	Nº de picnídios/campo nos diferentes níveis de N e C									
	N <sub>0</sub> C <sub>0</sub>	N <sub>0</sub> C <sub>1</sub>	N <sub>0</sub> C <sub>2</sub>	N <sub>1</sub> C <sub>0</sub>	N <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	N <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> C <sub>0</sub>	N <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	N <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	*
I	24,8	50,0	18,5	89,0	53,3	41,6	56,2	65,7	37,8	
II	30,7	20,8	16,7	72,0	95,3	72,6	47,7	62,1	34,9	
III	49,4	41,5	16,8	64,2	87,9	60,6	36,4	59,9	32,7	
IV	31,8	78,5	17,8	81,6	95,2	59,4	35,0	62,5	37,7	
V	35,0	57,9	15,1	53,0	97,9	42,6	31,4	59,1	41,7	

\* N<sub>0</sub> = 0,3 g asparagina; N<sub>1</sub> = 0,4 g asparagina e N<sub>2</sub> = 0,5 g asparagina.  
 C<sub>0</sub> = 5,0 g D-frutose; C<sub>1</sub> = 10,0 g D-frutose e C<sub>2</sub> = 15,0 g D-frutose.

## c - Análise de variância dos dados transformados

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	8	93,8787	11,7348	16,18**
Resíduo	36	26,1048	0,7251	
Total	44	119,9835		

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

C.V. = 12,31%

d - Análise de variância dos dados transformados, separando os graus de liberdade e soma de quadrados para tratamentos

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Nitrogênio (N)	2	56,6560	28,3280	39,07**
Carbono (C)	2	34,1310	17,0655	23,54**
Interação (C x N)	4	3,0917	0,7729	1,07
Tratamentos	(8)	(93,8787)		
Resíduo	36	26,1048	0,7251	
Total	44	119,9835		

Comparação de Médias (Teste de Tukey)

	1%	5%
níveis de N (asparagina)..	0,9776	0,7645
e de Carbono (D-frutose)..	0,9776	0,7645

APENDICE 5

a - Dados originais correspondentes aos resultados apresentados no Quadro 6

Repetições	Nº de picnídios/campo nos diferentes tratamentos								
	Manitol			Lactose			D-frutose		
	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub> *	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub> *	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub> *
I	119,8	202,1	163,1	60,0	78,6	109,5	89,0	87,9	72,6
II	127,5	182,8	157,8	63,6	82,8	115,8	72,0	95,2	60,6
III	127,8	193,5	164,8	70,6	87,2	116,7	81,6	97,9	59,4

\* Doses de carbono utilizadas: D<sub>1</sub> = 5,0 g/l; D<sub>2</sub> = 10,0 g/l e D<sub>3</sub> = 15,0 g/l.

b - Análise de variância dos dados originais

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	8	47.336,8363	5.917,1045	155,25**
Resíduo	18	686,0333	38,1130	
Total	26	38.022,8696		

\*\* = significativo ao nível de 1% de probabilidade.  
C.V. = 5,67%

c - Análise de variância dos dados originais, separando os graus de liberdade e soma de quadrados para tratamentos

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Fontes (F)	2	35.395,3452	17.697,6726	464,35**
Doses (D)	2	5.140,6318	2.570,3159	67,44**
Interação (F x D)	4	6.800,8593	1.700,2148	44,61**
Resíduo	18	686,0333	38,1130	
Total	26	48.022,8696		

d - Análise de variância dos dados originais, mostrando Doses dentro das Fontes de Carbono

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Fontes	2	35.395,3452	17.697,6726	464,35**
Doses/Manitol	2	6.906,2822	3.453,1411	90,60**
Doses/Lactose	2	3.725,3067	1.862,6534	48,87**
Doses/D-frutose	2	1.309,9023	654,9512	17,18**
Resíduo	18	686,0333	38,1130	
Total	26			

Comparação de Médias (Teste de Tukey)

	1%	5%
Fontes de Carbono (FC) e Níveis de Carboidratos.....	9,67	7,42
FC dentro de NC e NC dentro de FC .....	16,75	12,86

## APÊNDICE 6

a - Dados originais correspondentes aos resultados apresentados no Quadro 7

Concentração de esporos	Variedades utilizadas								
	Santa Rosa			Viçoja			IPBG		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
0	10	9	9	9	10	10	10	10	10
$3,25 \times 10^4$	8	7	8	9	8	8	9	8	9
$3,25 \times 10^5$	6	8	7	7	6	7	8	6	7
$3,25 \times 10^6$	5	4	3	5	3	5	6	5	5

b - Dados originais transformados em arco sen.  $\sqrt{\%}$ , correspondentes aos resultados apresentados no Quadro 7

Variedades	Concentração de esporos	Repetições		
		I	II	III
Santa Rosa	0	18,44	17,46	17,46
	$3,25 \times 10^4$	16,43	15,34	16,43
	$3,25 \times 10^5$	14,18	16,43	15,34
	$3,25 \times 10^6$	12,92	11,54	9,98
Viçoja	0	17,46	18,44	18,44
	$3,25 \times 10^4$	17,46	16,43	16,43
	$3,25 \times 10^5$	15,34	14,18	15,34
	$3,25 \times 10^6$	12,92	9,98	12,92
IPBG	0	18,44	18,44	18,44
	$3,25 \times 10^4$	17,46	16,43	17,46
	$3,25 \times 10^5$	16,43	14,18	15,34
	$3,25 \times 10^6$	14,18	12,92	12,92



## c - Análise de variância dos dados transformados

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Variedades (V)	2	4,97	2,48	2,91
Concentrações (C)	3	170,12	56,70	66,70**
Interação (V x C)	6	2,18	0,36	0,42
Tratamentos	11	177,27	16,11	18,95**
Resíduo	24	20,59	0,85	

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

C.V. = 5,91%. Teste de Tukey:  $\Delta = 1,50$  ao nível de 1%

$\Delta = 1,08$  ao nível de 5%

## APÊNDICE 7

a - Dados originais correspondentes aos resultados apresentados no Quadro 8

Variedades	Repetições*					Total
	I	II	III	IV	V	
Tarôa	8	7	8	7	7	37
Prata	6	6	6	5	6	29
Davis	4	5	5	6	5	25
Paraná	4	4	6	6	5	25
Lili	5	5	4	5	5	24
Coker 338	3	4	4	4	4	19
Coker 102	2	5	4	4	3	18
Coker 136	3	4	3	3	4	17
IAS 1	3	4	2	2	2	13
Hampton 266	2	2	3	2	2	11

\* = % de plantas que sobreviveram; cada vaso continha 10 sementes pré-germinadas.

b - Dados transformados em arco sen.  $\sqrt{\%}$ , correspondentes aos resultados apresentados no Quadro 8

Variedades	Repetições				
	I	II	III	IV	V
Tarôa	16,43	15,34	16,43	15,34	15,34
Prata	14,18	14,18	14,18	12,92	14,18
Davis	11,54	12,92	12,92	14,18	12,92
Paraná	11,54	11,54	14,18	14,18	12,92
Lili	12,92	12,92	11,54	12,92	12,92
Coker 338	9,98	11,54	11,54	11,54	11,54
Coker 102	8,13	12,92	11,54	11,54	9,98
Coker 136	9,98	11,54	9,98	9,98	11,54
IAS 1	9,98	11,54	8,13	8,13	8,13
Hampton 266	8,13	8,13	9,98	8,13	8,13

c - Análise de variância dos dados transformados

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	9	220,12	24,45	21,83**
Resíduo	40	45,02	1,12	
Total	49			

\*\* = significativo ao nível de 1% de probabilidade.  
 Teste de Tukey (DMS = 2,66)  
 C.V. = 8,93%