

VARIABILIDADE DA MORFOLOGIA, CRESCIMENTO E FERTILIDADE  
DE ISOLADOS BRASILEIROS DE *Cochliobolus sativus* (ITO  
& KURIB,) DRECHSL. EX. DASTUR

JUDITH VIÉGAS

Licenciada em História Natural

Orientador: Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo

Tese apresentada à Escola Superior  
de Agricultura "Luiz de Queiroz", da  
Universidade de São Paulo, para obten-  
ção do título de Doutor em Agronomia,  
Área de Concentração: Genética e Melho-  
ramento de Plantas.

P I R A C I C A B A  
Estado de São Paulo - Brasil  
Fevereiro - 1989

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da Divisão da Biblioteca de Documentação PCAP/USP

V656v	Viêgas, Judith Variabilidade da morfologia, crescimento e fertilidade de isolados brasileiros de <i>Cochliobolus sativus</i> (Ito & Kurib.) Drechsl. ex Dastur. Piracicaba, 1989. 232p. ilustr.
	Tese - ESALQ Bibliografia
	1. Cereal - Doença 2. Fungo fitopatogênico - Crescimento 3. Fungo fitopatogênico - Fertilidade 4. Fungo fitopatogênico - Morfologia 5. Fungo fitopatogênico - Podridão da Raiz I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba
	CDD 632.43 589.23

VARIABILIDADE DA MORFOLOGIA, CRESCIMENTO E FERTILIDADE  
DE ISOLADOS BRASILEIROS DE *Cochliobolus sativus* (ITO  
& KURIB.) DRECHSL. EX DASTUR

JUDITH VIÉGAS

Aprovada em: 27/10/89

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo	ESALQ/USP
Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Aline P. Kleiner	ESALQ/USP
Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Yoko Bomura Rosato	IB/UNICAMP
Dr. Itamar Soares de Melo	CNPDA/EMBRAPA
Prof. Dr. Hiroshi Kimati	ESALQ/USP

  
Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo  
Orientador

DEDICO

A meus pais Edith e Julio de quem herdei o significado do amor e da verdade.

A meus filhos Gabriel e Cristiano a quem eu tenha tido competência de transmitir esta herança que recebi.

A meus irmãos Julio, Luiza, Beatriz, Osvaldo e Ricardo e seus familiares que me acompanharam neste trabalho de tese proporcionando afeto, estímulo e muita ajuda.

Amigo é coisa pra se guardar  
debaixo de sete chaves  
dentro do coração  
assim falava a canção  
que na América ouvi  
mas quem cantava chorou  
ao ver seu amigo partir

Mas quem ficou, no pensamento voou  
com seu canto que o outro lembrou  
e quem voou, no pensamento ficou  
com a lembrança que o outro cantou

Amigo é coisa pra se guardar  
no lado esquerdo do peito  
mesmo que o tempo e a distância digam não  
mesmo esquecendo a canção  
o que importa é ouvir  
a voz que vem do coração

Pois seja o que vier, venha o que vier  
qualquer dia amigo, eu volto  
a te encontrar  
qualquer dia amigo a gente vai se encontrar

Esta Canção da América, de Milton Nascimento e Fernando Brandt, foi feita para vocês amigos de sempre e de toda hora a quem dedico com amizade: Hildete Bahia da Luz, Nêlda Couto Rodrigues, Saly Cabral Machado, Maria Alice Lamas, Paulo Gonçalves, Pedro Valentim Him-Him e, por último mas não o último, Guilherme Gaelzer.

A meu amigo Amilcar Gigante que sempre admirei como ser humano, como profissional e como educador, meu carinho especial e minha amizade.

Ao Magnífico Reitor da Universidade Federal de Pelotas, Professor Dr. Amilcar G. Gigante, minha homenagem e esperança no futuro de nossa Universidade.

A minha amada "vó Pinto", bisavó Emília Luiza Mentz Pinto

e

A minha querida "vó Finoca", avó Josephina Corrêa Viégas

com quem aprendi a independência e luta pela vida, com  
muita ternura.

"in memoriam"

## AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Genética da ESALQ/USP e seus professores, na pessoa de meu orientador Professor Dr. João Lúcio de Azevedo, que possibilitaram a realização do curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas e do início deste trabalho.

Ao Professor Dr. Carlos Roberto Pierobom do Departamento de Fitossanidade da Escola de Agronomia Eliseu Maciel, UFPEL, pelas sugestões, revisão do trabalho, co-orientação, estímulo e senso de humor.

Aos funcionários do Departamento de Genética da ESALQ/USP representados na pessoa do Laboratorista Antonio José Rocha, "Toninho", pelo auxílio, apoio e amizade.

Aos amigos do Departamento de Zoologia e Genética, IB, UFPEL, representados pela Professora Maria da Graça Martino Roth, pela liberação para realização do curso de Pós-Graduação, amizade, estímulo, apoio que sempre me dedicaram e por terem possibilitado a continuação deste trabalho em seu laboratório.

Aos funcionários do Departamento de Zoologia e Genética, IB, UFPEL, em especial ao Técnico de Laboratório Álvaro Miguel Moreira Martins, às Auxiliares de Laboratório

Vilma Ruas da Silva e Vera Lucia Lacerda Pinto e ao Técnico de Laboratório João Carlos Rodrigues Macedo, e muito especialmente à Bióloga Iara Valquide Gomes de Oliveira, sem os quais o estudo da fertilidade do *Cochliobolus sativus* não teria sido possível. Obrigada pelas horas despendidas, o esforço dedicado, o apoio, o estímulo e a alegria que vocês me proporcionaram.

Ao Prof. João Nelci Brandalise, M.D. Diretor do Instituto de Biologia, UFPEL, pelo apoio e estímulo sempre recebidos.

À Professora Dra. Maria Irene Moraes Fernandes do CNPT/EMBRAPA que sugeriu este trabalho e que junto à Professora Dra. Margarete Suñé Mattevi do Departamento de Genética, IB, UFRGS, sempre me incentivaram, apoiaram e brindaram com sua amizade.

À Professora Ana Beatriz Czermainski do Departamento de Matemática e Estatística, IFM, UFPEL, pela amizade nascida em Piracicaba e pela análise estatística desta tese.

À Professora Aida Terezinha Santos Matsumura, do Departamento de Fitopatologia da Escola de Agronomia da UFRGS, que também trabalhando com *Cochliobolus sativus* muito me ensinou, incentivou, questionou e acompanhou como colega e amiga.

Ao Professor Dr. Robert Tinline pelo envio dos isolados padrão testadores de *C. sativus*, mas principalmente pela gentil atenção e idéias sugeridas.

Aos Fitopatologistas Drs. Ariano Prestes e Erley Melo Reis (CNPT/EMBRAPA), José Ribamar N. dos Anjos (CPAC/EMBRAPA), Marco A.R. de Oliveira (OCEPAR) e Guilherme L. Asmus (UFMS) que gentilmente me cederam os isolados de *C. sativus*, sem os quais esta tese não teria sido realizada.

À Dra. Leonor Aita Selli pela gentileza do envio das sementes de cevada, sem as quais a parte de fertilidade de *C. sativus* não teria sido possível ser realizada.

Aos Professores e Funcionários do Departamento de Botânica, IB, UFPEL, representados pelo Professor José Antonio Peters e pela Técnica de Laboratório Maria Cristina A. Borges Garcia pelo uso das instalações e empréstimo de material, apoio e amizade.

Aos Professores e Funcionários do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, IB, UFPEL, representados pela Professora Inguelore S. Souza e pela Técnica de Laboratório Carmen Lúcia Fonseca Martins pelo uso de suas instalações e empréstimo de material, estímulo e amizade.

À Professora Rosa T. Guerrero, do Departamento de Botânica, IB, UFRGS, pelo estágio de orientação quanto às características morfológicas de fungos.

A Elvira Padilha da Silva Barros, Eny Silva, Alexandra Silva, Vicentina Sperb e Rosa Maria da Silva Rio Branco, pela ajuda, amizade, estímulo e apoio doméstico realizado.

À Professora Solange Maria dos Anjos Gesteira pela amizade e empréstimo do seu apartamento como refúgio pa-

ra a redação desta tese.

À Psicóloga Nicole Bergamim e aos Drs. Marcelo Tricca, Francisco Cascelli, Celso Rubens Vieira e Silva, Orlando Veneziano e Paulo Renato Carvalho pelo apoio e atenção a mim dedicados.

Ao Engenheiro Agrônomo Julio Viégas pelo auxílio na procura da bibliografia necessária.

À Desenhista Luiza Viégas pela manufatura dos quadros e histogramas e arte final deste trabalho.

À Tradutora e Intérprete Beatriz Viégas Faria pela versão do resumo.

Ao Fotógrafo João Miguel Lanita pela reprodução da montagem fotográfica e a Sérgio Silva pelas fotos ao microscópio estereoscópico.

A Elmo J. Antunes Cardoso e a Lourdes Zanetti pela datilografia deste trabalho.

À Bibliotecária Suzana Sperry do CNPATB/EMBRAPA pelo auxílio e sugestões relacionados à bibliografia desta tese.

À Bibliotecária Maria Ângela de Toledo Leme, Supervisora da Seção de Livros, PCAP/USP, pela manufatura da ficha catalográfica.

Este trabalho teve suporte da CAPES, CNPq, FINEP, FAPERGS, ESALQ/USP e UFPEL.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	xvii
LISTA DE TABELAS.....	xx
RESUMO.....	xxiii
SUMMARY.....	xxvi
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 - Os Cereais - Trigo, Cevada e Triticale - Im- portância e Breve Histórico de Pesquisa no Brasil.....	4
2.2 - A Ação de <i>Cochliobolus sativus</i> sobre Cereais.	7
2.3 - Nomenclatura Taxonômica de <i>Cochliobolus</i> <i>sativus</i> .....	15
2.3.1 - Telemorfo de <i>Cochliobolus sativus</i> : Estado Perfeito.....	16
2.3.2 - Anamorfo de <i>Cochliobolus sativus</i> : Estado Imperfeito.....	21
2.3.3 - Associações Anamorfo - Telemorfo.....	27
2.4 - Morfologia e Crescimento de <i>Cochliobolus</i> <i>sativus</i> .....	28
2.5 - Conídios de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	38
2.6 - Fertilidade de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	43
2.6.1 - Reprodução Sexuada e Compatibilidade Sexual de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	43
2.6.2 - Estudos sobre a Fertilidade de <i>Cochliobolus</i> <i>sativus</i> .....	50
2.7 - Estudos sobre a Genética de <i>Cochliobolus</i> <i>sativus</i> .....	53
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	58
3.1 - Morfologia e Crescimento.....	62

3.1.1 - Fonte de Inóculo.....	62
3.1.2 - Meios de Cultura.....	63
3.1.3 - Incubação.....	63
3.1.4 - Uniformidade das Condições Experimentais...	64
3.1.4.1 - Fonte de Inóculo.....	64
3.1.4.2 - Quantidade de Meio de Cultura.....	64
3.1.4.3 - Tempo de Preparo do Material.....	64
3.1.4.4 - Condições de Incubação.....	64
3.1.4.5 - Avaliação do Material.....	65
3.1.5 - Variáveis Consideradas.....	65
3.1.5.1 - Cor do Emaranhado Micelial da Colônia...	65
3.1.5.2 - Cor do Reverso da Colônia.....	66
3.1.5.3 - Bordas da Zona de Crescimento da Colô- nia.....	66
3.1.5.4 - Topografia e Textura de Micélio Aéreo da Colônia.....	66
3.1.5.5 - Presença de Setores na Colônia.....	66
3.1.5.6 - Ocorrência e Tipo de Zonação na Colônia.	67
3.1.5.7 - Diâmetro da Colônia.....	67
3.1.6 - Delineamento Experimental.....	67
3.2 - Conídios.....	70
3.2.1 - Conidiação.....	70
3.2.2 - Tamanho e Número de Septos dos Conídios....	71
3.2.3 - Descrição das Variáveis Conidiais.....	71
3.3 - Fertilidade.....	71
3.3.1 - Obtenção dos Isolados Monoconidiais.....	71
3.3.2 - Método de Pareamento dos Isolados para Ob- tenção de Reprodução Sexuada.....	72
3.3.3 - Avaliação dos Resultados dos Pareamentos...	73
3.3.4 - Determinação da Compatibilidade Sexual.....	74
3.3.5 - Estudo da Fertilidade dos Isolados Brasi- leiros.....	75
3.3.6 - Apresentação dos Resultados de Fertilidade....	76

4. RESULTADOS E DISCUSSAO.....	77
4.1 - Morfologia e Crescimento de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	77
4.1.1 - Cor do Emaranhado Micelial e do Reverso da Colônia de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	78
4.1.2 - Bordas da Zona de Crescimento da Colônia de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	92
4.1.3 - Topografia e Textura do Micélio Aéreo da Colônia de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	96
4.1.4 - Presença de Setores na Colônia de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	104
4.1.5 - Ocorrência e Tipo de Zonação na Colônia de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	111
4.1.6 - Diâmetro das Colônias de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	117
4.1.6.1 - Distribuição de Frequência dos Diâmetros das Colônias.....	117
4.1.6.2 - Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias.....	129
4.1.6.3 - Análise da Variação dos Diâmetros das Colônias no Esquema Fatorial (Isolados, Meios de Cultura e Níveis de de Leitura.....	130
4.1.6.4 - Análise da Variação dos Diâmetros das Colônias no Esquema Fatorial (Isolados e Meios de Cultura).....	140
4.2 - Conídios de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	144
4.2.1 - Conidiação de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	144
4.2.2 - Tamanho dos Conídios e Número de Septos de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	146
4.3 - Fertilidade de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	154
4.3.1 - Reprodução Sexuada: Morfologia das Estruturas Reprodutivas de <i>Cochliobolus sativus</i> ...	154

4.3.2 - Compatibilidade Sexual dos Isolados de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	160
4.3.3 - Fertilidade dos Isolados Brasileiros de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	167
4.3.3.1 - Pareamentos MAT-1 x MAT-2.....	167
4.3.3.2 - Número de Ascocarpos Examinados por Pa- reamento.....	181
4.4 - Considerações Gerais.....	186
5. CONCLUSÕES.....	190
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	192
APÊNDICES.....	215

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Fotos com Verso e Reverso de Placas com Colônias de <i>C. sativus</i> .....	80
2. Histogramas das Frequências de Combinações de Cores das Colônias de <i>C. sativus</i> .....	85
3. Fotos de Colônias de <i>C. sativus</i> Apresentando Cores de Micélio.....	88
4. Histogramas das Frequências dos Tipos de Bordas das Zonas de Crescimento das Colônias de <i>C. sativus</i> .....	94
5. Histogramas das Frequências de Combinações de Texturas do Micélio Aéreo das Colônias de <i>C. sativus</i> ..	100
6. Quadro de Ocorrência e Número de Setores Observados nas Colônias de <i>C. sativus</i> por Isolado, Meio de Cultura, Leitura e Repetição.....	106
7. Fotos de Colônias de <i>C. sativus</i> com Ocorrência de Setores.....	107
8. Histogramas das Frequências dos Tipos de Zonação Ocorrentes nas Colônias de <i>C. sativus</i> .....	114
9. Fotos de Colônias de <i>C. sativus</i> com Tipos de Zonação.....	115
10. Histogramas das Frequências dos Diâmetros Médios das Colônias de <i>C. sativus</i> nas 3 leituras do Meio de Cultura C.....	120
11. Histogramas das Frequências dos Diâmetros Médios das Colônias de <i>C. sativus</i> nas 3 leituras do Meio de Cultura MM.....	121
12. Histogramas das Frequências dos Diâmetros Médios das Colônias de <i>C. sativus</i> nas 3 leituras do Meio de Cultura MC.....	122

13. Histogramas das Frequências dos Diâmetros Médios das Colônias de <i>C. sativus</i> nas 3 Leituras do Meio de Cultura BDA.....	123
14. Quadro dos Quadrados Médios dos Diâmetros das Colônias de <i>C. sativus</i> para o Fator Isolados (QM Isolados).....	129
15. Quadro dos Quadrados Médios dos Diâmetros das Colônias de <i>C. sativus</i> para os Fatores Isolados, Meios de Cultura e Níveis de Leitura.....	131
16. Fotos de Colônias de <i>C. sativus</i> de Maior e Menor Crescimento.....	137
17. Quadro dos Quadrados Médios dos Diâmetros das Colônias de <i>C. sativus</i> nas 3 Leituras (QM Leituras) para os Fatores Meios de Cultura e Isolados.....	141
18. Histograma da Distribuição das Frequências Relativas das Médias de Comprimento de Conídios de 39 Isolados de <i>C. sativus</i> Cultivados em BDA.....	147
19. Histograma da Distribuição das Frequências Relativas das Médias de Largura de Conídios de 39 Isolados de <i>C. sativus</i> Cultivados em BDA.....	148
20. Histograma da Distribuição das Frequências Relativas das Médias do Número de Septos dos Conídios de 39 Isolados de <i>C. sativus</i> Cultivados em BDA.....	149
21. Fotos de Conídios de <i>C. sativus</i> .....	152
22. Fotos de Pseudotécios Selvagens e Albinos de <i>C. sativus</i> .....	155
23. Fotos de Ascós e Ascósporos de <i>C. sativus</i> (I)...	157
24. Fotos de Ascós e Ascósporos de <i>C. sativus</i> (II)..	159
25. Quadro da Reação de Compatibilidade Sexual dos Isolados Brasileiros de <i>C. sativus</i> quando do Pareamento com os Isolados Padrão Testadores Canadenses.....	161

26. Quadro dos Resultados do 1º Pareamento entre os Isolados de <i>C. sativus</i> MAT-1 e MAT-2 em Todas as Combinações Possíveis.....	169
27. Quadro dos Resultados do 2º Pareamento entre os Isolados de <i>C. sativus</i> MAT-1 e MAT-2 que Não Resultaram em Ascós com Ascósporos no 1º Pareamento.....	170
28. Quadro dos Resultados do 3º Pareamento entre os Isolados de <i>C. sativus</i> MAT-1 e MAT-2 que Não Resultaram em Ascós com Ascósporos no 2º Pareamento.....	171
29. Quadro dos Resultados do 4º Pareamento entre os Isolados de <i>C. sativus</i> MAT-1 e MAT-2 que Não Resultaram em Ascós com Ascósporos no 3º Pareamento.....	172
30. Quadro Geral dos Resultados dos Pareamentos entre os Isolados de <i>C. sativus</i> MAT-1 e MAT-2 em Todas as Combinações Possíveis, Considerando os Resultados dos 4 Pareamentos.....	173

## LISTA DE TABELAS

	Página
1. Freqüência de <i>C. sativus</i> nos Isolamentos de Podridão Comum de Raízes de Trigo em Regiões Triticólas do País.....	11
2. Caracterização da Amostra de <i>Cochliobolus sativus</i>	59
3. Isolados de <i>C. sativus</i> Padrão Testadores para Compatibilidade Sexual.....	74
4. Freqüências de Combinações de Cores do Micélio das Colônias de <i>C. sativus</i> .....	83
5. Cores de Micélio de Colônias de <i>C. sativus</i> Descritas por Vários Autores.....	89
6. Freqüências dos Tipos de Bordas das Zonas de Crescimento das Colônias de <i>C. sativus</i> .....	93
7. Freqüências dos Tipos de Texturas dos Micélios Aéreos das Colônias de <i>C. sativus</i> .....	97
8. Freqüências de Combinações de Texturas do Micélio Aéreo das Colônias de <i>C. sativus</i> .....	99
9. Freqüências dos Tipos de Zonação Ocorrentes nas Colônias de <i>C. sativus</i> .....	112
10. Distribuições das Freqüências Absolutas das Médias de Diâmetros (em centímetros) das Colônias de <i>C. sativus</i> .....	118
11. Estatísticas de Diâmetro das Colônias de <i>C. sativus</i> .....	125
12. Desdobramento pelo Teste de Tukey para Médias de Diâmetro das Colônias de <i>C. sativus</i> nas 3 Leituras dos 4 Meios de Cultura.....	132
13. Resumo dos Desdobramentos pelos Testes de Tukey para Médias de Diâmetro das Colônias de <i>C. sativus</i> por Meio de Cultura.....	133

14. Resumo dos Desdobramentos pelos Testes de Tukey para Médias de Diâmetros das Colônias de <i>C. sativus</i> por Nível de Leitura.....	135
15. Desdobramentos pelos Testes de Tukey para Médias de Diâmetro das Colônias de <i>C. sativus</i> por Meio de Cultura nos 3 Níveis de Leitura.....	136
16. Desdobramentos pelos Testes de Tukey para Médias de Diâmetro das Colônias dos Isolados 34/80 e 39/82 nos 3 Níveis de Leitura.....	139
17. Desdobramentos pelos Testes de Tukey para Médias de Diâmetro das Colônias de <i>C. sativus</i> por Nível de Leitura nos 4 Meios de Cultura.....	142
18. Distribuição das Frequências Médias de Comprimento (em micra) de Conídios de 39 Isolados de <i>C. sativus</i> Cultivados em BDA.....	146
19. Distribuição das Frequências Médias de Largura (em micra) de Conídios de 39 Isolados de <i>C. sativus</i> Cultivados em BDA.....	147
20. Distribuição das Frequências Médias do Número de Septos de Conídios de 39 Isolados de <i>C. sativus</i> Cultivados em BDA.....	148
21. Tamanho e Número de Septos de Conídios de <i>C. sativus</i> Isolados de Cereais e Gramíneas, Incubados em Meios Naturais ou Sintéticos, Coletados por Vários Autores.....	153
22. Frequência de Fertilidade - Produção de Ascosporos e Ascósporos - dos Isolados Padrão Testadores MAT-1 e MAT-2 de <i>C. sativus</i> em Todas as Combinações Possíveis com os Isolados Brasileiros...	163
23. Frequência de Fertilidade - Produção de Ascosporos com Ascósporos - dos Isolados MAT-1 de <i>C. sativus</i> , em Todas as Combinações Possíveis com os MAT-2, nos 4 Pareamentos.....	175

24. Frequência de Fertilidade - Produção de Ascospores com Ascósporos - dos Isolados MAT-2 de <i>C. sativus</i> em Todas as Combinações Possíveis com os MAT-1, nos 4 Pareamentos.....	176
25. Resultados dos Pareamentos entre Isolados de <i>C. sativus</i> de Compatibilidade Sexual Oposta...	180
26. Frequência de Lâminas Feitas por Cruzamento de Isolados MAT-1 com MAT-2 de <i>C. sativus</i> até a Obtenção de Asco com Ascósporos.....	184

VARIABILIDADE DA MORFOLOGIA, CRESCIMENTO E FERTILIDADE  
DE ISOLADOS BRASILEIROS DE *Cochliobolus sativus* (ITO  
& KURIB.) DRECHSL. EX DASTUR

Autora: JUDITH VIÉGAS

Orientador: PROF. DR. JOÃO LÚCIO DE AZEVEDO

RESUMO

Com o objetivo de observar a variabilidade tanto morfológica como de crescimento, determinar a compatibilidade sexual e estudar a fertilidade de isolados brasileiros de *Cochliobolus sativus*, a fim de preparar uma população deste fungo para o estudo de suas características genéticas, foram estudados 62 isolados coletados de trigo, cevada e triticale em cinco Estados do País e no Distrito Federal durante os anos de 1980 a 1985. Os isolados foram de vários órgãos dos hospedeiros e de cultivares diversas.

O estudo da morfologia e crescimento foi desenvolvido em um experimento fatorial, delineado em blocos casualizados, com três repetições, tendo como fatores 60 isolados, 4 meios de cultura - Batata Dextrose Ágar (BDA), Meio Mínimo (MM), Meio Completo (MC) e Ágar de Czapek (C) - e 3 leituras - 2, 4 e 6 dias após inoculação. As condições experimentais foram uniformizadas e as variáveis avaliadas fo-

ram: cor do micélio aéreo e do reverso da colônia; bordas da zona de crescimento da colônia; topografia e textura do micélio aéreo da colônia; presença de setores na colônia; tipo de zonação da colônia; crescimento em diâmetro da colônia. Outras variáveis estudadas foram conidiação, tamanho dos conídios e número de septos dos mesmos.

Todas essas variáveis avaliadas mostraram alta variabilidade, tanto entre isolados como dentro dos isolados, nos diversos meios de cultura. A análise estatística para crescimento mostrou variação altamente significativa tanto para isolados, como para meios de cultura e leituras.

Foi determinada a compatibilidade sexual dos 62 isolados pertencendo metade a cada um dos tipos: MAT-1 e MAT-2.

Foram pareados 26 isolados MAT-1 com 27 MAT-2 em todas as combinações possíveis e o nível de fertilidade final, após 4 repetições dos pareamentos com resultados negativos e exame de todos os ascocarpos produzidos em cada pareamento, foi de 96,86%. Nenhum pareamento deixou de produzir prototécio, ou seja, tecido materno. Apenas 1% dos pareamentos produziram ascos estéreis e 2,14% produziram apenas prototécios.

Este estudo foi realizado com o fungo *C. sativus* devido à sua importância como parasita em lavouras de cereais, principalmente trigo, cevada, centeio e triticales, por causar grandes perdas de produção. O melhor conhecimento básico do fungo proporcionará melhores condições de traba-

lho aos fitopatologistas em termos de controle da doença por ele causada.

VARIATION IN MORPHOLOGY, GROWTH, AND FERTILITY OF  
BRAZILIAN ISOLATES OF *Cochliobolus sativus*  
(ITO & KURIB.) DRECHSL. EX DASTUR

Author: JUDITH VIÉGAS

Adviser: PROF. DR. JOÃO LÚCIO DE AZEVEDO

SUMMARY

With the aims of observing the morphological variation as well as the variation in growth, determining the mating type, and studying the fertility of Brazilian isolates of *Cochliobolus sativus* in order to select a population of this fungus for the examination of its genetic characteristics, 62 isolates from wheat, barley, and triticale were studied. The isolates were collected in five different states of Brazil and in the Federal District as well, during the years from 1980 to 1985. The isolates were taken from various organs of the hosts and different cultivars.

The study of morphology and growth was developed in a factorial experiment which was designed in randomized blocks with three replicates and whose factors were 60 isolates, 4 culture media - Potato Dextrose Agar (PDA), Minimum Medium (MM), Complete Medium (CM) and Czapek's Agar (C) - and 3 readings - 2, 4, and 6 days after inoculation. The experimental conditions were standardized and the assessed variables

were: color of the aerial mycelium and of the colony's reverse; edges of the growth zone of the colony; topography and texture of the aerial mycelium of the colony; existence of sectors in the colony; type of zonation of the colony and growth of the colony in diameter. Other variables studied was conidiation, size of the conidia and their number of septa.

All of the assessed variables showed a high degree of variation both among the isolates and in the isolates in the different culture media. The statistical analysis of growth showed a highly significant variation in the isolates as well as in the culture media and readings.

Mating type was determined for 62 isolates and half of them were of the MAT-1 type whereas the other half were of the MAT-2 type.

All possible pairings were made between 26 MAT-1 isolates and 27 MAT-2 isolates and, after repeating four times the pairings with negative results and examining all the ascocarps produced in each pairing, the eventual fertility level was 96.86%. All pairings produced protothecium, i.e., maternal tissue. Only 1% of the pairings produced sterile asci and 2.14% produced protothecia only.

The present work was done with the fungus *C. sativus* due to its importance as a parasite of cereal crops, mainly wheat, barley, rye, and triticale, for it causes great production losses. A better knowledge of the *C. sativus* will provide improved working conditions for phytopathologists in what refers to the control of the disease caused by this fungus.

## 1. INTRODUÇÃO

A importância crescente do cultivo do trigo, cevada, centeio e triticales tanto como fonte alimentar como econômica para o país, os tem feito objeto de uma série de pesquisas visando melhor produção e rendimento. Dentre essas pesquisas salientam-se as envolvidas no conhecimento e combate a doenças que interferem no desenvolvimento das plantas levando a perdas de produção. Como exemplo dessas está a doença causada pelo *Cochliobolus sativus* em que se verifica existirem poucos estudos básicos, principalmente na área de Genética.

O fungo *C. sativus* ocorre na natureza somente em seu estado assexuado que é geralmente denominado de *Helminthosporium sativum*, havendo atualmente recomendação para a denominação de *Bipolaris sorokiniana*. Nesta forma o *C. sativus* ataca todos os órgãos de cereais de inverno e gramineas suscetíveis, causando a helmintosporiose (nome genérico quando de seu ataque às partes verdes da planta), a podridão comum de raízes e a ponta preta dos grãos. Desta maneira interfere tanto no processo fotossintético como no de absorção de água e nutrientes, além de se disseminar através das sementes infectadas. O inóculo é mantido no solo

sobre resíduos culturais de cereais ou por infecção de gramineas de verão suscetíveis, além de poder ocorrer sua disseminação pelo vento. Além disso, os conídios de *C. sativus* podem sobreviver por cerca de mais de 2 anos, tanto no solo como em sementes.

A grande variabilidade tanto morfológica como fisiológica apresentada pelo *C. sativus* pode ser explicada por uma série de fatores causais baseados, principalmente, no grande número de núcleos ocorrentes nas células tanto das hifas como dos conídios, o que propicia a heterocariose e suas posteriores conseqüências. Genotipicamente podem ocorrer mutações, heterocários, dissociação de heterocários, possibilidade de diplóides e haplóides recombinantes através de ciclo parassexual, além de possíveis fatores extracromossômicos, que se refletem fenotipicamente na ocorrência de setores que originam colônias com características que chegam a ser quase totalmente diversas das da colônia de origem. Esta variação genotípica e fenotípica apresentada pelo fungo dificulta os estudos para obtenção de cultivares ou variedades resistentes, assim como os de patogenicidade.

Sabe-se que quanto maior o conhecimento básico de um organismo patogênico, melhores condições possuirão os fitopatologistas para as pesquisas de estratégias de combate e os melhoristas para a produção de variedades resistentes.

Visando contribuir para um melhor conhecimento das linhagens brasileiras de *Cochliobolus sativus*, este tra-

balho tem como objetivo estudar uma população deste patógeno com o fim de:

- observar a variabilidade tanto morfológica quanto de crescimento, quando em meios nutrientes diversos;

- determinar os tipos de compatibilidade sexual e sua frequência;

- estudar a fertilidade destes isolados quando pareados com uma série de outros de compatibilidade sexual oposta;

preparando assim uma população do fungo para o efetivo estudo de suas características genéticas e modo de segregação das mesmas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 - Os Cereais - Trigo, Cevada e Triticale - Importância e Breve Histórico de Pesquisa no Brasil

A importância do trigo como fonte alimentar de alto valor nutritivo, conveniente e econômica é bem ressaltada por WIESE em seu "Compendium of Wheat Diseases" (1977). Este autor coloca o trigo no mesmo nível de importância do arroz, milho e batata, salientando que, em muitos locais, o consumo de trigo "per capita" é maior que qualquer outro alimento.

O trigo proporciona cerca de 20% das calorias alimentares do mundo e é um produto básico para cerca de 40% da população mundial. A qualidade nutritiva de seus grãos, que contém carboidratos, proteínas, vitaminas e minerais, o posiciona como um dos nutrientes de excelência. Seu uso é bastante diversificado: os grãos na fabricação de pães e vários produtos alimentícios, os grãos e plantas em diversos produtos industriais e como forragem, a palha para cama de animais, a matéria orgânica para o solo e o óleo de germe para enriquecimento de outros alimentos atestam a versatilidade desse cereal. No entanto, apesar de sua relativa facilidade

de adaptação a diversos ambientes, o trigo é sujeito a numerosas doenças em todos os seus estágios de crescimento e em todos os seus órgãos. Cerca de 200 doenças já foram descritas, das quais pelo menos 50 são freqüentes e de importância econômica. Essas doenças ocorrem devido, entre outros fatores, ao clima, insetos, vírus, nematóides, fungos e bactérias, interferindo com o desenvolvimento e funcionamento normal da planta, levando a perdas de produção devido, principalmente, à diminuição do tamanho e quantidade dos grãos (WIESE, 1977).

No Brasil, além da importância nutritiva do trigo, este constitui-se em economia de divisas. Entretanto diversos fatores contribuem para os baixos rendimentos das lavouras de trigo, destacando-se as doenças, entre as quais as relacionadas com o sistema radicular, causadas por fungos de solo, de difícil controle. Dentre os fungos mais freqüentemente associados com podridões de raízes encontra-se o *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drechsl. ex Dastur, cuja forma imperfeita é conhecida principalmente como *Helminthosporium sativum* Pam. King et Bakke (VALARINI, BARROS & LASCA, 1981). Este fungo, que ataca também a parte aérea do trigo, é patogênico a outros cereais, tais como a cevada, o triticales e gramíneas nativas.

A introdução do trigo no Brasil ocorreu, em 1534, na capitania de São Vicente de onde foi difundido por todo o país com a colonização. Em 1919 foram criadas as primeiras Estações Experimentais de Trigo e, em 1974, foi cria-

do o Centro Nacional de Trigo (CNPT) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) em Passo Fundo, RS (SCHEEREN, 1986).

A pesquisa com cevada, no Brasil, é tão antiga quanto a com o trigo. Iniciou-se em 1920 na Estação Experimental "Alfredo Chaves" da Secretaria de Agricultura do RS. Além deste órgão oficial, os estudos com cevada vêm paralelamente sendo realizados por algumas companhias particulares, como as Companhias Cervejarias Brahma e Antártica. Em 1976 foi lançado o Plano Nacional de Auto-Suficiência em Cevada e Malte (PLANACEM) e em 1977 o Programa Nacional de Pesquisa de Cevada que é coordenado pelo CNPT/EMBRAPA. Em 1984, num esforço conjunto da EMBRAPA/CNPT, Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC) e Companhias Cervejeiras foi iniciada a pesquisa de cevada na região dos cerrados de Goiás e Minas Gerais. (EMBRAPA-CNPT, Documentos 3/1987).

No mesmo documento, citado acima, faz-se saber que o triticales foi observado pela primeira vez, no Brasil, em 1961 no Instituto de Pesquisa Agropecuária do Sul (IPEAS-MA) em Pelotas no Rio Grande do Sul. Desde então tem sido objeto de pesquisa de diversas instituições estatais e privadas. Em 1969 iniciaram os trabalhos de pesquisa em Passo Fundo e, em 1982, foi iniciado o cultivo em escala comercial, sendo em 1986 equiparado ao trigo em Valor Básico de Custeio e preço de aquisição pelo Conselho Monetário Nacional.

Os trabalhos de pesquisa com esses cereais, principalmente com o trigo têm sido intensos, desenvolvidos

de modo geral dentro dos programas anteriormente citados, mas não exclusivamente. Exemplo disso são os 1406 trabalhos referendados em 1981 e os 1141 em 1987 nas publicações sobre "Bibliografia Brasileira de Trigo (*Triticum aestivum* L.)" da EMBRAPA, volumes 1 e 2 respectivamente. Desses, 122 e 198, respectivamente, referem-se especificamente às moléstias do trigo, sem contar os relacionados à resistência a doenças e uso de defensivos químicos para o combate e controle de doenças e pragas, entre as quais a causada por *C. sativus*.

## 2.2 - A Ação de *Cochliobolus sativus* sobre Cereais

A literatura científica sobre *C. sativus*, estudado em vários aspectos, tanto básicos como aplicados, é bastante grande. HARDING tem publicado desde 1980 as referências bibliográficas relativas a este fungo: "*Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drechsl. ex Dastur (imperfect stage: *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoem.): a bibliography", tendo coletado até 1986 um total de 2971 referências (1988 em 1980, 412 em 1981, 305 em 1983 e 266 em 1986).

Apesar dessa riqueza de bibliografia internacional, optou-se por utilizar apenas os trabalhos de pesquisadores brasileiros para fazer um resumo da doença causada por *C. sativus* e ao mesmo tempo dar uma idéia da abrangência das pesquisas realizadas no Brasil. Os trabalhos para determinação da importância e distribuição da podridão comum das raízes e sobre a prevalência dos organismos a eles associa-

dos foram iniciados, de acordo com DIEHL (1980a), em 1978 na EMBRAPA-CNPT, em Passo Fundo, RS.

Segundo REIS (1985) os agentes causais das podridões de raízes com patogenicidade comprovada são:

FUNGOS	NOME COMUM DA DOENÇA
<i>Fusarium graminearum</i>	podridão comum das raízes
<i>Graeumannomyces graminis var. tritici</i>	mal do pé
<i>Helminthosporium sativum</i>	podridão comum das raízes
<i>Pythium</i> spp.	podridão de sementes
<i>Sclerotium rolfsii</i>	podridão branca

O *Cochliobolus sativus* (sin.: *Helminthosporium sativum*) caracteriza-se por utilizar como substrato todos os órgãos de cereais de inverno (aveia, centeio, cevada, trigo e triticale). Ao colonizar órgãos verdes (folhas, bainhas, colmos, glumas, aristas e sementes em formação) interfere no processo fotossintético e a doença que causa é denominada "helmintosporiose". Quando o ataque ocorre em órgãos subterrâneos (raízes seminais, mesocótilos, raízes secundárias e coroa) interfere no mecanismo de procura e absorção de água e nutrientes, sendo então denominada de "podridão comum de raízes" (REIS, 1985).

Além das denominações genéricas de helmintosporiose e podridão comum das raízes, a moléstia causada por *C. sativus* é também denominada de "mancha marrom", "mancha borrada da folha", "carvão do nó" e "ponta preta" ou "ponta

dos grãos", dependendo do órgão atacado e dos sintomas produzidos (PRESTES & PICININI, 1984). COSTA NETO (1977) cita a doença também com a denominação de "crestamento das plântulas".

O *C. sativus* ao infectar sementes reduz a germinação e provoca perdas de pré-emergência. As perdas de pós-emergência ocorrem devido à morte de plântulas originadas de sementes infectadas. As plantas que conseguem emergir tem seu córtex destruído ao serem colonizadas pelo patógeno, o que acarreta comprometimento do mecanismo de absorção resultando em plantas subdesenvolvidas ou debilitadas (REIS, 1985).

Segundo PRESTES & PICININI (1984) a infecção por *C. sativus* pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta. Nas folhas as lesões são em forma de pequenas manchas necróticas de cor pardo-escuras ou pretas, geralmente rodeadas por halo amarelo. Estas lesões podem vir a coalescer podendo secar totalmente as folhas. As espigas apresentam manchas marrom-escuras e, com a progressão da infecção, as glumas adquirem cor de palha, podendo ocorrer aborto das flores e morte das espiguetas. Os grãos formados em espigas contaminadas apresentam a ponta preta e, se a infecção é severa, podem ficar enrugados e chochos. Muitas vezes, no entanto, este sintoma não aparece e sementes aparentemente saudáveis estão contaminadas. Os nós da planta, quando atacados pela doença, adquirem cor marrom-escura, tornando-se posteriormente de cor preta devido à presença de conídios.

Quando a infecção ocorre através de sementes infectadas, os primeiros sintomas são notados na parte central da raiz (mesocótilo). As raízes severamente atacadas são menores que as sadias e têm lesões de coloração marrom-escura, que podem se estender para o colmo, atingindo vários centímetros acima da linha da coroa (DIEHL, 1980a).

De acordo com DIEHL (1980a, 1982b) os sintomas secundários da podridão comum na parte aérea das plantas, são pouco visíveis. Ocorre redução do vigor e do tamanho das plantas. Estas apresentam espigas menores ou apenas uma espiga, devido à morte dos perfilhos. Estes, quando formados, geralmente são pequenos e com poucos grãos ou ausência dos mesmos. Os colmos são fracos, havendo tendência de acamamento destas plantas. A redução do vigor das plantas favorece o desenvolvimento de outras doenças da parte aérea do trigo, aumentando ainda mais os danos causados à lavoura. As lavouras com plantas atacadas pela doença são menos densas devido à morte das plântulas logo após o plantio e por apresentarem apenas uma espiga devido à morte dos perfilhos.

O estudo de doenças radiculares do trigo mostra que, em geral, o *C. sativus* é patógeno predominante associado às podridões de raízes das lavouras das principais regiões tritícolas do país. *C. sativus* é isolado das raízes do trigo com frequências variáveis de acordo com local e ano de coleta, conforme a Tabela 1.

O grau de infecção pelo patógeno também mostra-se variável. As lavouras apresentam desde plantas sadias,

TABELA 1. Freqüência de *C. sativus* nos Isolamentos de Podridão Comum de Raízes de Trigo em Regiões Triticolas do País.

Local	Ano de Coleta	Freqüência (%)	Autor
RS e sul PR	1978	60	DIEHL, 1979a
RS	1979	34	DIEHL et alli, 1981.
SP	.	35	VALARINI, BARROS e LASCA, 1981
RS	1980	30	
RS	1981	26	DIEHL, KOCHHANN e TINLINE, 1983a
Norte PR	1981	33	
Oeste PR	1981	39	
Centro-sul PR	1981	12	DIEHL et alii, 1984
MS	1981	32	DIEHL & SONEGO, 1983
MG e DF	1981	34	DIEHL et alii, 1982a

com infecção leve ou moderada a severa (VALARINI, BARROS & LASCA, 1981, DIEHL et alii, 1981, 1982a e 1984, DIEHL & SONEGO, 1983).

A maior concentração de esporos de *C. sativus* é encontrada na camada superior do solo (0 a 3 cm ou 0 a 5 cm), sendo que o número de conídios aí localizados pode chegar até cerca de 4000 por grama de solo seco (DIEHL et alii, 1982a e 1984, REIS, 1982a, DIEHL & SONEGO, 1983).

Segundo REIS (1982a,b) e REIS & ABRÃO (1983) a maior concentração de propágulos na camada superior do solo, tanto em áreas cultivadas com trigo como com centeio, indica que o patógeno multiplica-se na superfície do solo e é uma consequência do trabalho do solo com implementos agrícolas.

De acordo com PRESTES & PICININI (1984) o fungo sobrevive em restos de cultura de trigo, cevada, centeio, triticales e aveia, em gramíneas nativas e em sementes infectadas. Sua disseminação dá-se pelo vento e pela chuva que carregam os esporos do fungo e restos de plantas ou através de sementes infectadas. Condições de umidade elevada (dias chuvosos ou nublados) e temperaturas de 24 a 30°C favorecem o desenvolvimento da doença.

A manutenção e maior densidade do inóculo de *C. sativus* na superfície do solo é devido a:

- desenvolvimento dos esporos nos órgãos aéreos de cereais, durante o ciclo da cultura, principalmente onde é plantado centeio e triticales (REIS & BAIER, 1982). Aveia,

cevada e trigo também contribuem bastante nesse sentido (REIS & SANTOS, 1987);

- esporulação do fungo, em sua fase saprofítica, sobre resíduos culturais de plantas suscetíveis, especialmente gramíneas (REIS & WÜNSCHE, 1982a,b);

- desenvolvimento dos conídios em gramíneas de verão, principalmente gramíneas invasoras de soja, que apresentam sintomas primários pouco intensos e não evidenciam os secundários (REIS, 1982d);

- uso de sementes infectadas, com conídios aderidos externa ou internamente na forma de micélio (no periplasma e no endosperma), de cevada, trigo e triticales (REIS, 1981, 1982e, 1987, LUZ, 1980 e LUZ & MINELLA, 1982);

- disseminação anemófila de *C. sativus* que coincide com a maior proporção de tecidos necrosados, ou seja, maior incidência de helmintosporiose tanto em trigo como em cevada (AITA, 1983 e REIS, 1984);

- longa sobrevivência dos conídios do patógeno, tanto no solo como em sementes armazenadas, por cerca de mais de 2 anos (CHIN & LEDINGHAM, 1958 e VECHIATO, LASCA & VALARINI, 1987);

- outros fatores como condições climáticas e ataque de pragas às raízes podem favorecer a penetração e desenvolvimento do fungo (DIEHL, 1980a, 1982a, LUZ, 1982).

Estudos realizados por DIEHL et alii (1982a), DIEHL, TINLINE & KOCHHANN (1983b) mostraram que de 1979 a 1981 a porcentagem média de plantas infectadas no RS foi de

96% e em Minas Gerais e no Distrito Federal variou de 0 a 99%.

A doença causada por *C. sativus* leva a uma redução de produtividade, tanto em trigo como em cevada, que se deve principalmente a reduções no número de espigas, número de grãos por espiga e no peso médio do grão. Reduções essas que chegam a cerca de 70% tanto para trigo como para cevada (AITA, 1980, AITA & ARIAS, 1980).

Essas reduções são as responsáveis pelas perdas de produção nas safras de trigo, estimadas por DIEHL, TINLINE & KOCHHANN (1983b) em 18,8% em 1979, 14,5% em 1980 e 22,9% em 1981 (média de 18,7%) no Rio Grande do Sul. Considerando a produção total de 3.082.902 toneladas de trigo produzidas durante esses anos, as perdas atingem um valor aproximado de 617.000 toneladas de trigo (DIEHL, 1982a).

As perdas consideráveis devido à podridão comum de raízes têm levado os pesquisadores a tentar uma série de métodos para diminuição da doença. Entre eles destacam-se a eficiência das técnicas de pousio e rotação com culturas não hospedeiras de *C. sativus* por períodos de 4 a 5 anos, visando reduzir a densidade do inóculo que aumenta com o cultivo por vários anos seguidos de trigo ou outro cereal suscetível (DIEHL & AITA, 1980, DIEHL, 1979b, 1980b, DIEHL et alii, 1982b, DIEHL, KOCHHANN & TINLINE, 1983a, REIS et alii, 1983, REIS & AMBROSI, 1987). Salientam-se também as pesquisas de fontes de resistências ao *C. sativus*, como o atestam os trabalhos de PIEROBOM & ARIAS (1978), AITA (1980), AITA

& ARIAS (1980), METHA (1981a), DIEHL (1982b, 1983), FULCO (1982a,b), REIS & BAIER (1983), assim como os trabalhos relativos ao uso de fungicidas (LUZ & VIEIRA, 1982a,b, REIS, 1982c, 1983b; LUZ & LINHARES, 1983; DIEHL, 1987; GOULART, 1988).

Outros tipos de trabalhos envolvendo *C.sativus* referem-se à metodologia de detecção do fungo em sementes de trigo (LASCA, VECHIATO & SCHMIDT, 1987), estudo de meios seletivos (LUZZARDI, 1974; REIS, 1983a); identificação de raças patogênicas (MEHTA, 1981b) e morfologia, patogenicidade e eletroforese de sistemas enzimáticos (MATSUMURA<sup>1</sup>).

### 2.3 - Nomenclatura Taxonômica de *Cochliobolus sativus*

Segundo LUTTREL (1958a), um sistema taxonômico tem duas funções. A primeira é providenciar um índice para as espécies, as categorias taxonômicas, gêneros, famílias e ordens, nas quais as espécies possam ser colocadas para serem localizadas para referências futuras. A segunda função é mostrar as relações filogenéticas entre as espécies. Taxonomia é a ciência da síntese e é concernente com a classificação, identificação das espécies e com a filogenia. Sua função é agrupar dados das várias ciências - morfologia, cito-

---

<sup>1</sup> MATSUMURA, Aida T.S. Comunicação Pessoal, Curso de Pós-Graduação em Genética, Genética, UFRGS, tese de doutorado em andamento.

logia, fisiologia, genética - para integrar estes dados em um sistema útil. Um sistema taxonômico útil é a finalidade em micologia e conforme novos dados vão surgindo, sejam morfológicos, fisiológicos, genéticos ou ecológicos, estes devem ser integrados ao sistema. Desta maneira, a estabilidade em um sistema de classificação é impossível. O sistema taxonômico é, portanto, aquele que se desenvolve e expande de maneira útil.

### 2.3.1 - Telemorfo de *Cochliobolus sativus*: Estado Perfeito

Em 1929, KURIBAYASHI descreveu o estado ascígero de *Helminthosporium sativum* como corpúsculos semelhantes a esclerócios pequenos, escuros e que, após 4 ou 5 semanas, se desenvolviam em peritécios perfeitamente maduros do gênero *Ophiobolus*. Propôs o nome *Ophiobolus sativus* (P.K. et B.) Ito et Kuribayashi.

ITO & KURIBAYASHI, em 1931, voltam a descrever mais detalhadamente o estado sexuado de *H. sativum*. Observaram que as culturas monoascospóricas dão origem a conídios típicos de *H. sativum*, os quais produzem lesões típicas nas plantas hospedeiras. Ressaltam que *O. sativus* é maior nas dimensões de todas as partes do peritécio, sendo seus ascósporos mais fortemente enrolados do que os de *O. graminis* Sacc.. Propõem novamente o nome de *Ophiobolus sativus* e descrevem detalhadamente o estado perfeito como:

- peritécios marrom escuros, grossos, pseudo-parenquimatosos, em forma de frasco com bico ostiolar; cor-

pos globosos ou subglobosos, 340 a 470 x 370 a 530  $\mu$ , bicos bem desenvolvidos e parabolóides quando jovens, posteriormente cilíndricos, 90 a 150 x 80 a 110  $\mu$ ; muitas hifas e conidióforos, produzidos nos peritécios jovens, que desaparecem posteriormente; setas curtas (ou mais provavelmente conidióforos não desenvolvidos) geralmente presentes nos bicos. Números ascos fusiformes ou cilíndricos, retos ou levemente curvados, com maior largura na porção mediana, arredondados nos ápices, estipe pequena na base, parede fina e hialina, 110 a 220 x 32 a 45  $\mu$ , com 1 a 8, geralmente 4, 6 ou 8 ascósporos. Ascósporos flageliformes ou filiformes, com pontas obtusas em ambas as extremidades, mais ou menos alargados na porção apical do que na basal, 6 a 13 septos, que apresentam constrições quando absorvem água, enrolados numa apertada hélice, 160 a 360 x 6 a 9  $\mu$ ; parede fina, hialina ou colorida de oliva claro em aumentos pequenos; gelatinosos.

Em 1934, DRECHSLER descreve um gênero novo denominado *Cochliobolus* que tem como tipo característico o *C. heterostrophus*, anteriormente denominado de *O. heterostrophus*. De acordo com o autor as diferenças entre *Ophiobolus* e *Cochliobolus* são:

- os ascósporos de *Ophiobolus* não dão origem a estados conidiais semelhantes às séries graminícolas de *Helminthosporium* que possuem germinação bipolar;

- não existe história natural de parasitismo semelhante entre os dois gêneros;

- as espécies de *Ophiobolus* têm mais estágios

assexuados em *Phoma* do que em outros gêneros;

- as espécies colocadas pelo autor em *Cochliobolus* têm ascos e ascósporos bem maiores do que as do gênero *Ophiobolus*:

- em *Cochliobolus* o forte enrolamento helicoidal dos ascósporos dentro do asco não ocorre em *Ophiobolus*.

O novo gênero *Cochliobolus* é descrito por DRECHSLER (1934) como: peritécios espalhados, pretos, submembranosos a subcoriáceos, lisos ou mais ou menos cobertos com filamentos vegetativos flexíveis ou com hifas erigidas de conidióforos, globoso, usualmente com bico ostiolar curto cilíndrico ou parabolóide. Ascos subcilíndricos, estipe curta, tornando-se geralmente distendidos especialmente próximos à deiscência, 1 a 8 ascósporos, hialinos ou na maturidade, especialmente, um pouco coloridos, filamentosos, com muitos septos, comprimidos, dispostos em arranjo fortemente helicoidal. Apesar de citar *O. sativus* e *H. sativum* nesse trabalho, o autor não o transfere para o novo gênero.

Em sua publicação sobre o estágio perfeito de *H. sativum*, TINLINE (1951) escreve o seguinte:

"Em 1934, DRECHSLER estabeleceu o novo gênero *Cochliobolus* para incluir as espécies ascíferas helicoidais, com conídios pertencentes a *Helminthosporium*, previamente referidas ao gênero *Ophiobolus*. Ele baseou seu novo gênero no *Ophiobolus heterostrophus* Drechsler, mas não transferiu especificamente *O. sativus* ao novo gênero. Entretanto, em 1942,

DASTUR<sup>2</sup> atribuiu a transferência a ele, usando o binômio *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drechsler. Concordantemente, no "Review of Applied Mycology", Supplement 12, página 133, 1946, a total autoridade para *C. sativus* é dada como (Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur".

TINLINE (1951) ao descrever as características do estágio perfeito de *C. sativus* as refere como semelhantes às descritas por ITO & KURIBAYASHI (1931). O autor, além das características em comum entre os dois trabalhos, cita ainda: peritécios pretos com bico subcônico ou parabolóide; ostíolo muito ou pouco definido; hélice de ascósporos com rotação da base para o ápice no sentido da direita para a esquerda; ascósporos granulares; ascósporos jovens não são septados mas se liberados tornam-se septados e germinam; na falta de deiscência os ascósporos germinam dentro do asco; em ascos com menos de 8 ascósporos podem ocorrer uma ou mais estruturas pequenas (prováveis ascósporos não desenvolvidos); peritécios com 310 - 460 x 270 - 420  $\mu$ ; bico ostiolar 66 - 190 x 90 - 140  $\mu$ ; ascos com 160 - 225 x 27 - 42  $\mu$ ; ascósporos 182 - 343 x 5 - 10  $\mu$ , com 6 a 14 septos.

Em 1955, SHOEMAKER apresenta um extenso e detalhado trabalho sobre a biologia, citologia e taxonomia de

---

<sup>2</sup> DASTUR, J.F. Notes on some fungi isolated from "black point" affected wheat kernels in the Central Provinces. Indian Journal Agricultural Science, 12:731-742, 1942.

*C. sativus*, onde ressalta aspectos não citados por outros autores: espermiácias uninucleadas e esféricas de  $1,7\mu$  de largura, que são os agentes masculinos na plasmogamia, produzidas em fiálides nas espermogônias, que são preenchidas por muco, medindo  $2,5 \times 2,5$  mm; a ascogônia que dá origem às hifas ascógenas é um sistema de hifas alongadas e muito ramificadas no ascocarpo inicial; as espermiácias fixam-se firmemente nas tricóginas para fertilização das hifas ascógenas. Este autor cita, também, que o ascocarpo incompletamente diferenciado - prototécio - é formado somente de tecido materno, podendo ser produzido por um único isolado colocado em condições de cruzamento. O ascocarpo maduro com estroma que rodeia o lóculo único simula parede, mas não constitui parede peritecial, sendo portanto um pseudotécio. O asco bitunicado tem parede interna não evidente em ascos preenchidos com ascósporos e não funcional na descarga dos ascósporos.

Baseada nessas características, a classificação taxonômica de *Cochliobolus sativus* é:

- segundo AINSWORTH (1973) e LUTTRELL (1973)

Família Pleosporaceae

Ordem Pleosporales

Classe Loculoascomycetes

Subdivisão Ascomycotina

Divisão Eumycota

- segundo ALEXOPOULOS & MINS (1979)

Família Pleosporaceae

Ordem Pleosporales

Subclasse Loculoascomycetidae

Classe Ascomycetes

Subdivisão Ascomycotina

Divisão Amastigomycota

### 2.3.2 - Anamorfo de *Cochliobolus sativus*: Estado Imperfeito

O estado imperfeito de *C. sativus* é assunto de várias discussões entre taxonomistas de fungos e apresenta portanto um série de sinônimas.

Um dos sinônimos mais utilizados é o descrito no trabalho de DRECHSLER (1923) que é o de *Helminthosporium sativum* Pammel, King and Bakke ou *H. sativum* P.K. & B. O autor diz ser *H. sativum* a espécie mais freqüentemente encontrada por fitopatologistas entre as espécies graminícolas de *Helminthosporium*. Essa espécie é sujeita a grande confusão na literatura, principalmente devido ao fato de ocorrer em uma série de hospedeiros gramineas, muitos dos quais, mais ainda, são afetados por um ou mais parasitas congêneres. Como as características específicas destes últimos não estão ainda bem claramente distintas e como o fungo, sob consideração, mostra uma tendência para a variação em resposta a condições variáveis de ambiente, não faltaram ocasiões para identificações errôneas, tais como:

- *H. acrothecioides* Lindfors

- *H. gramineum* Johnson, Masee, Palm, Bassi, not

## Rabenhorst

- *H. inconspicuum* Peck, Atkinson, not Cooke & Eliis
- *H. sorokinianum* Sacc.
- *H. teres* Bakke, not Saccardo
- *H. sp.*, Beckwith, Bolley, Evans, Hamblim, Hungerford, McKinney, Stakman, Stevens, Waterhouse.

DRECHSLER (1923) descreve o fungo parasitando cevada, trigo, centeio e em outras gramíneas. As frutificações de *H. sativum* aparecem, após a morte do tecido afetado, emergindo do estômato ou mais frequentemente entre as células epidérmicas, como fascículos de 2 ou 3 ou únicos. Os esporóforos (conidióforos) variam de 6 a 7  $\mu$ , raramente excedendo 8  $\mu$ . O primeiro esporo (conídio) é produzido geralmente a uma distância de 50 a 90  $\mu$  da base. Na natureza geralmente os esporóforos apresentam 5 a 6 cicatrizes geniculadas nos pontos de aderência dos esporos e possuem cerca de 8 septos. O autor ressalta a grande variabilidade encontrada em *H. sativum* tanto no que se refere aos conídios como à colônia. Segundo ele, em *H. sativum* a variabilidade apresentada está mais próxima da regra do que da exceção.

ITO & KURIBAYASHI, em 1931, descrevem *H. sativum* da seguinte maneira: conídios quando maduros de cor marrom escura, fusiformes, obclavados, elipsoidais ou ovais, arredondados em ambas as extremidades, variáveis em forma com

alguns formando forquilha em Y na parte superior, levemente curvados na natureza ou retos em cultura, 2 a 13 septos, 60 a 108 x 17,5 a 28 $\mu$ ; parede grossa muito frágil. Germinação por dois tubos germinativos polares.

Uma chave para espécies de *Helminthosporium* descritas em gramíneas nos Estados Unidos é feita, em 1951, por LUTTRELL. Nesta chave, *H. sativum* é assim colocado:

- conídios sésseis;

- conídios germinando por tubos germinativos polares, elipsóides a fusóides, estágio perfeito quando conhecido em *Cochliobolus*;

- conídios fusiformes, tipicamente curvados, oliváceo escuros, 60 a 120 x 15 a 20 $\mu$ , 3 a 10 septos.

- causador de manchas borradas e podridão de raízes em cevada e numerosas outras gramíneas;

Segundo LUTTRELL (1951), *H. carbonum*, *H. zeicola*, *H. californicum*, *H. setariae*, *H. sativum*, *H. victoriae* e *H. stenospilum* constituem um complexo de espécies muito proximamente relacionadas. A separação dessas espécies com base na curvatura e diâmetro dos conídios é incerta devido a variações entre diferentes coleções e linhagens dentro das espécies. Por exemplo, o conídio tipicamente curvado de *H. sativum* pode algumas vezes ser predominantemente reto e em *H. californicum* eles são descritos como não curvos. Tanto o autor, como SPRAGUE<sup>3</sup> (1950), citado por ele, consideram *H.*

<sup>3</sup> SPRAGUE, R. Diseases of cereal and grasses in North America, New York, Ronald Press Co. 538p., 1950.

*californicum* como sinônimo de *H. sativum*.

Uma revisão taxonômica do *H. sativum* e espécies relacionadas, feitas por LUTTRELL em 1955, chega à conclusão que *Helminthosporium sorokinianum* Sacc. ex Sorokin é sinônimo de *H. sativum* P.K. & B., de *H. acrothecioides* Lindfords e de *H. californicum* Mackie & Paxton.

SHOEMAKER (1959) ao realizar um estudo taxonômico de alguns fungos de gramíneas classificados como *Helminthosporium*, propõe a separação deste gênero daquelas espécies com conídios cilíndricos que germinam por qualquer célula para o nome genérico de *Drechslera*. Separação essa já proposta anteriormente por ITO<sup>4</sup> (1930), citado por SHOEMAKER (1959), e das espécies com conídios fusóides e germinação bipolar também constituírem um gênero separado de *Drechslera* e de *Helminthosporium* e serem denominadas de *Bipolaris*. O autor descreve esse novo gênero *Bipolaris* como: conidióforos marrons, produzindo conídios através de um poro apical e formando um novo ápice pelo crescimento da região subterminal. Conídios fusóides, retos ou curvados, germinando por um tubo germinativo de cada extremidade; exosporium liso, rígido, marrom; endosporium hialino amorfo, separando células de fragmosporos maduros. Parasitando geralmente gramíneas. Es-

---

<sup>4</sup> ITO, S. On some new ascigerous stages of the species of *Helminthosporium* parasitic on cereals. Proceedings of the Imperial Academy of Tokyo 6:352-355, 1930.

tado perfeito quando conhecido em *Cochliobolus* Drechsl. Propondo a denominação *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) a ser utilizada em vez de suas sinônimas: *H. sorokinianum* Sacc. in Sorok., *H. sativum* Pamm. King et Bakke e *H. californicum* Mackie e Paxton.

Apesar dos trabalhos de SHOEMAKER (1959 e 1962), LUTTRELL (1963b) continua utilizando *H. sorokinianum* e em 1964 critica a separação em *Drechslera* e *Bipolaris* feita por SHOEMAKER (1959).

Em 1966, SUBRAMANIAN & JAIN fazem uma revisão sobre os *Helminthosporia* graminícolas e sugerem a passagem dos gêneros *Bipolaris* para *Drechslera*, assim formando a combinação nova *Drechslera sorokiniana* = *Helminthosporium sorokinianum* Sacc. in Sorok.

ELIIS (1971) em seu livro "Dematiaceous Hyphomycetes" reforça a denominação de *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram. & Jain com sinônima de *H. sativum* Pammel, King & Bakke. Já BARNETT & HUNTER (1972) ilustram o gênero *Bipolaris* com *Bipolaris sorokinianum*.

CHIDAMBARAM, MATHUR & NEERGAARD (1973) concordam com a denominação *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram. & Jain e a colocam no grupo 2 dos 8 grupos formados, baseados em similaridades na natureza dos conidióforos e forma e cor de conídios das 25 espécies de *Drechslera* investigadas. Neste grupo 2, *D. sorokiniana* fica junto com *D. victoriae*, *D. bicolor* e *D. urochloae* devido a terem conídios marrom escuro e pretos ou preto amarronzados e o tamanho pequeno ou

médio dos conidióforos.

As espécies graminícolas de *Helminthosporium* estão separadas nos gêneros *Drechslera* e *Bipolaris* como vimos acima e, em 1974, LEONARD e SUGGS propõem um novo gênero para as espécies graminícolas com hilo protuberante chamado de *Exserohilum* onde não se encaixa a forma imperfeita de *C. sativus*.

Os autores brasileiros LUZ (1987) e MUCHOVEJ, MUCHOVEJ & RIBEIRO-NESIO (1988) preferem a denominação de *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoem. para a forma imperfeita de *C. sativus*. Estes três últimos autores encontraram mais uma sinonímia: *H. atypicum* K.S. & K.B. Deshpande.

De acordo com as características anteriormente citadas, a classificação taxonômica do estado imperfeito de *C. sativus* é:

- segundo AINSWORTH (1973) e KENDRICK & CARMICHAEL (1973)

Gênero Phragmosporous  
Classe Hyphomycetes  
Subdivisão Deuteromycotina  
Divisão Eumycota

- segundo ALEXOPOULOS & MIMS (1979)

Família-forma Dematiaceae  
Ordem-forma Moniliales  
Subclasse-forma Hyphomycetidae  
Classe-forma Deuteromycetes  
Subdivisão Deuteromycotina  
Divisão Amastigomycota

### 2.3.3 - Associações Anamorfo-Telemorfo

Ao se observar as formas perfeitas de várias espécies de *Helminthosporium* verifica-se que nem todas são do gênero *Cochliobolus*, assim como nem todos os *Cochliobolus* têm forma imperfeita em *Helminthosporium* (ou *Bipolaris* ou *Drechslera* ou *Exserohilum*), como exemplificado abaixo:

- *Trichometasphaeria turcica*, estado perfeito de *Helminthosporium turcicum* (LUTTRELL, 1958b);
- *Cochliobolus intermedius*, estado perfeito de *Curvularia intermedia* (NELSON, 1960);
- *Trichometasphaeria holmii*, estado perfeito de *Helminthosporium holmii* (LUTTRELL, 1963a);
- *Pyrenophora teres*, estado perfeito de *Drechslera teres* (MCDONALD, 1963);
- *Trichometasphaeria pedicellatum*, estado perfeito de *Helminthosporium pedicellatum* (NELSON, 1965);
- *Cochliobolus cymbopogonis*, estado perfeito de *Curvularia cymbopogonis* (HALL & SIVANESAN, 1972);
- *Pseudocochliobolus nisikadoi*, estado perfeito de *Helminthosporium nisikadoi*, (TSUDA, UHEYAMA & NISHIHARA, 1977);
- *Pseudocochliobolus australiensis*, estado perfeito de *Bipolaris australiensis* (TSUDA & UHEYAMA, 1981);
- *Pseudocochliobolus hawaiiensis*, estado perfeito de *Bipolaris hawaiiensis* (TSUDA & UHEYAMA, 1981);
- *Pyrenophora tritici-repens*, estado perfeito

de *Helminthosporium tritici-repentis* (GILCHRIST, FUENTES & BAUER, 1984);

- *Cochliobolus tuberculatus*, estado perfeito de *Curvularia tuberculata* (SIVANESAN, 1985).

Devido à grande variabilidade existente no próprio fungo e aos problemas de correlação taxonômica entre formas perfeita e imperfeita, abordar-se-á, nos próximos itens desta Introdução, apenas os trabalhos realizados com *C. sativus*. Posteriormente se, para a discussão dos resultados, houver necessidade far-se-ão comparações com os fungos mais próximos ao estudado no presente trabalho.

#### 2.4 - Morfologia e Crescimento de *Cochliobolus sativus*

Durante os itens 2.3.1 e 2.3.2 que caracterizam as formas sexuada e assexuada de *C. sativus*, já se pode observar a variabilidade ocorrente em termos morfológicos nesse fungo. Na bibliografia consultada não foi encontrado trabalho que se assemelhasse totalmente ao presente, devido a isso tentar-se-á fazer um relato que leva em conta a cronologia dos trabalhos. Outra dificuldade é a de separar os diversos itens de morfologia da colônia, como foi feito neste trabalho. Serão apresentados então os trabalhos em ordem cronológica e da melhor maneira que for possível em termos de descrição de cor, textura, zonação, etc. das colônias estudadas.

CHRISTENSEN, em 1922, ao estudar o parasitismo

de *H. sativum*, realizou também estudo das características culturais e especialização biológica. Segundo ele existem muitas raças ou formas biológicas do *H. sativum*, cada uma produzindo diferentes tipos de crescimento em um mesmo meio. Ao estudar características culturais de duas colônias monoconidiais isoladas de mancha borrada de cevada, observou variações marcantes entre as duas que estavam crescendo no mesmo meio, sob as mesmas condições. O autor resolveu então estudar as características de 2 culturas de cevada, uma de centeio e uma de trigo, todas monoconidiais, comparadas em 3 meios diferentes, em condições uniformes de inoculação e incubação. As características culturais dos 4 isolados diferiram grandemente umas das outras no mesmo meio, assim como as do mesmo isolado nos diferentes meios de cultura. O pesquisador verificou a taxa de crescimento por dia, cor das colônias e características do crescimento micelial. Segundo o autor o tipo de crescimento depende, sob as mesmas condições, primeiro do isolado e em segundo lugar do meio utilizado. Ressalta que dois isolados podem parecer semelhantes quando crescendo em um tipo de meio, mas que podem diferir grandemente quando em outro meio. As taxas de crescimento também variaram de acordo com o meio e com o isolado. O autor fala em especialização biológica ao se referir aos 4 isolados estudados, devido às suas diferenças fisiológicas, morfológicas e parasíticas. Ressalta também a dificuldade de dar uma descrição técnica da espécie que possa ser aplicada de modo geral, devido a estas variações encontradas.

A variabilidade de *H. sativum* é destacada por DRECHSLER (1923) em relação às medidas de comprimento e largura dos conídios e número de septos dos mesmos, encontradas por vários autores e por ele mesmo. Observou diferenças tanto morfológicas como no tamanho dos conídios e no número de septos. Essas diferenças foram observadas nos conídios em cultura, em casa de vegetação e diretamente isolados de plantas. Verificou também variabilidade na morfologia da colônia conforme a quantidade de meio de cultura utilizada e a idade da colônia.

Em 1925, CHRISTENSEN voltou a repetir o experimento anterior com os mesmos cuidados de manter a uniformidade do inóculo e da incubação. Dessa vez, no entanto, utilizou mais do que 50 isolados monoconidiais, 37 dos quais estudados em detalhe, em dois meios de cultura diferentes. Alguns isolados cresceram também em outros meios. Cada isolado foi repetido 3 vezes em cada meio. O autor observou que as colônias triplicadas de mesmo isolado em mesmo meio eram quase sempre semelhantes. Os 37 isolados estudados puderam ser diferenciados pela taxa radial de crescimento, quantidade relativa de micélio aéreo e submerso, natureza do crescimento micelial, zonação e cor do micélio. Verificou que um isolado pode ter características diferentes em meios diferentes. Colônias do mesmo isolado são tão diferentes em um dado meio que podem quase que ser separadas como espécies diferentes, entretanto suas similaridades em outros meios mostram ser o mesmo isolado. Neste trabalho é relatada

também a presença de setores nas colônias, geralmente com forma de cunha ou de leque. Alguns isolados formaram mais setores que outros, mais frequentemente em um meio do que em outro. Muitos dos setores foram repicados e mantiveram suas características, outros reverteram às características paternas e outros ainda apresentaram caracteres novos.

CHRISTENSEN, em 1929, estudou o efeito da temperatura no aparecimento de setores nas colônias de *H. sativum*, setores estes que chamou de mutantes. A temperatura ótima encontrada foi de 25°C a 27°C. Ocorreram poucos setores em temperaturas abaixo de 25°C ou acima de 30°C, sendo que de 15°C para menos não ocorreram setores. Em alguns casos houve reversões ao tipo parental quando da repicagem dos setores, em outros as características novas se mantiveram nas colônias originadas dos setores.

MITRA, em 1930, realizou um trabalho semelhante aos de CHRISTENSEN (1922, 1925 e 1929) com isolados de *H. sativum* e de outros *Helminthosporia* de plantas cultivadas da Índia. Os dois isolados de *H. sativum*, um de folhas de trigo e outro de folhas de cevada, foram cultivados em 3 meios naturais e 3 sintéticos, tendo sido utilizados outros meios de cultura ocasionalmente. O autor observou que o crescimento da colônia, em milímetros, era diretamente proporcional à quantidade de meio utilizado na placa. Apesar de não esclarecer qual o regime de fotoperíodo utilizado, afirmou ser este mais propício ao crescimento do fungo do que o regime de escuridão. A temperatura ótima encontrada foi em torno de 25 a

30° C. Maior crescimento micelial ocorreu em meios ricos, em maior quantidade de meio de cultura e em meios mais concentrados. O isolado de trigo mostrou maior desenvolvimento micelial do que o de cevada. A aparência da borda da colônia, a cor da mesma e a zonação dependem do meio utilizado. A ausência de luz torna as colônias escuras, enquanto sob fotoperíodo aparecem cores rosadas. O autor salienta que a variabilidade encontrada é devida tanto a fatores ambientais como inerentes ao próprio fungo.

Utilizando os mesmos isolados do trabalho anterior, MITRA (1931) observou a origem de novas linhagens a partir de setores e de colônias que não mostravam setores típicos. Subculturas dos setores e inóculos, tomados ao acaso, do segundo tipo de colônias deram origem a variantes. O autor observou que os setores aparecem com mais abundância em placas com menor quantidade de meio de cultura, assim como em meios de cultura não diluídos. Verificou que algumas das variantes isoladas e repicadas reverteram ao padrão parental, enquanto outras se mantiveram ou formaram novos tipos setoriais. Tanto os setores como as variantes apresentaram grande variabilidade morfológica. As variantes aparecem principalmente em culturas antigas ou em culturas mantidas em meio rico e com ótima temperatura de crescimento.

DICKSON (1932) observou que *H. sativum* apresentava variantes em ágar de Brown, onde a maioria de outras espécies de *Helminthosporium*, assim como o *Fusarium* se mantinham sem essa característica.

Em 1933, PAXTON demonstrou que pelo menos uma das etiologias da formação de setores em *H. sativum* pode ser ambiental. Considerando apenas os setores em forma de leque, não levando em conta os pequenos tufo branco de micélio estéril, o autor verificou o aumento do número de setores nas colônias cultivadas em ágar de Czapek sem nitrogênio. Repicagens destes setores não mostraram tendência à reversão mesmo após a 5ª geração. Em meio de Czapek sem nitrogênio e sem sacarose não ocorreram setores. Também a adição de meio grama de nitrato de sódio por litro adicionado ao ágar sem nitrogênio impede a formação da maioria dos setores. Para o autor, a formação de setores, por ele considerada como mutações, em *H. sativum* parece estar relacionada com a nutrição.

CHRISTENSEN & DAVIES voltam, em 1936 e 1937, a estudar a natureza da variação em *H. sativum*. Os autores postulam que a variação pode surgir devido à hibridação, mutação ou "saltation" e possivelmente como resultado da heterocariose. Observam que a mutação deve ser mais importante pelo fato das células de hifas, conídios e tubos germinativos serem usualmente multinucleadas. As variantes seriam resultado da separação ou reunião de núcleos. Além disso abordam também a herança citoplasmática. Para tentar verificar quais desses mecanismos são o ou os mais importantes na variação de *H. sativum*, os autores trabalharam com anastomoses de hifas que são abundantes dentro das mesmas espécies de *Helminthosporium*, mas ocorrem raramente entre espécies diferentes. Observaram que o número de núcleos por célula varia de

1 a 6, sendo 2 o mais comum; tubos germinativos são normalmente multinucleados e ramificações jovens de hifas velhas e conidióforos jovens geralmente possuem apenas um núcleo. Baseados nesse fato, de que os conídios produzidos por um conidióforo devem ter núcleos de genótipo idêntico, esporos únicos de colônias com raças misturadas, assim como de setores de culturas, foram colocados a germinar e as pontas de hifas isoladas logo após a germinação, com no máximo 2 ou 3 ramificações. Tendo sido deixado germinar também o esporo do qual as hifas foram cortadas. Sem exceção, todos os isolados (incluindo o esporo germinado com suas células basais e as pontas de hifas dele derivadas) de mesmo conídio deram origem a colônias idênticas. Isto reforçou a proposta de passagem de apenas 1 núcleo para o conídio. Sob certas condições, a maioria delas formou setores e deu origem a muitas variantes na forma de manchas. Essas manchas podem surgir em colônias novas ou velhas, podem permanecer pequenas, tufosas ou tipo bolha, ou podem crescer sobre a superfície de toda a colônia. Algumas pontas de hifas ou isolados conidiais deram origem a setores distintos indicando sua potencialidade para produzir variantes. A extensão e frequência de variantes obtidas neste estudo é altamente significativa. Os autores observaram, também, que a toxina de uma bactéria provocava grande quantidade de setores, mostrando que estes podem ser devidos a fatores ambientais. Segundo os autores, no entanto, a variação em *H. sativum* é devida mais à mutação gênica ou cromossômica, apesar de não excluírem a heterocariose como fonte

de variantes.

A variação induzida em *H. sativum* foi também estudada por CHRISTENSEN & DAVIES (1940). Verificaram que a toxina do *Bacillus mesentericus* em determinada concentração e associada a certos tipos de meios de cultura com alta temperatura, deu origem a numerosas variantes que diferiram em caracteres culturais, fisiológicos, patogênicos e morfológicos da colônia original. O número de setores induzidos variou também com a linhagem de *H. sativum* utilizada, entre 6 linhagens testadas ocorreram médias que variaram de 0,2 a 7,6 setores.

Em 1948, CHRISTENSEN & SCHNEIDER utilizaram uma linhagem de *H. sativum*, derivada de sucessivos isolamentos monoconidiais e crescendo em nutrientes artificiais por 28 anos, e a passaram através do trigo Marquis por 10 gerações sucessivas. Foram então feitas culturas monoconidiais, que foram comparadas com os isolados que cresciam continuamente em BDA. Com exceção de 5 colônias, 14.400 progênies monospóricas isoladas do hospedeiro foram idênticas em características culturais à linhagem original. Essas 5 colônias eram diferentes umas das outras e dos parentais tanto em cor, tipo, taxa de crescimento e quantidade de esporulação.

Estudos citológicos feitos por HRUSHOVETZ (1956b), mostraram que o número de núcleos nas células vegetativas do micélio de *H. sativum* variam de 0 a 13, sendo 2 a 5 o mais comum, e que existe um mecanismo para a perpetuação da heterocariose. Esse mecanismo se deve ao fato dos septos possuírem sulcos por onde passam os núcleos, de maneira que as

pontas de hifas e as células micelianas já são inicialmente multinucleadas. Observaram que fusões de hifas ocorrem em todas as partes da colônia e os núcleos atravessam essas hifas fusionadas. Além do mais, 2 ou mais núcleos, geralmente, entram no conidióforo jovem e muitos núcleos, invariavelmente, entram no conídio jovem antes que este se delimite do conidióforo. Em sua Tese de Doutorado, TINLINE<sup>5</sup> (1954), citado por HRUSHOVETZ (1956b), trabalhando com linhagens de cor rosa e de cor escura já havia demonstrado que fusões de hifas podem produzir e manter heterocários. Em 712 pontas de hifas isoladas de colônias mistas foram produzidas 14 colônias intermediárias, sendo as restantes comparáveis com um ou outro parental. As colônias intermediárias consistiam predominantemente de hifas de linhagem escura mas com anéis de micélio rosa. Pontas de hifas isoladas dessas colônias deram origem a tipos intermediários e selvagem parental, mas não ao parental rosa. Segundo HRUSHOVETZ (1956b) este trabalho demonstra a associação persistente nas pontas de hifas de dois tipos diferentes de núcleos. Já para CHRISTENSEN & DAVIES (1937), citados anteriormente, quaisquer 2 núcleos geneticamente diferentes em uma mesma célula são resultado de mutação ou fusão de hifas e que essa heterocariose é temporária,

---

<sup>5</sup> TINLINE, R.D. Physiology, pathogenicity and genetics of *Helminthosporium sativum*. Ph.D. Thesis, University of Wisconsin, 1954.

seguida por rápida dissociação dos dois núcleos.

Com a finalidade de clarificar as relações entre *H. victoriae* e *H. sativum*, WILSON & MURPHY (1964) realizaram além do estudo da patogenicidade, o da morfologia de 6 isolados de *H. sativum* além dos 4 de *H. victoriae*. Utilizaram 6 meios de cultura diferentes. Para determinar os hábitos coloniais dos 10 isolados, tais como taxa de crescimento, textura, cor, zonação e conidiação, utilizaram BDA. Observaram grande variabilidade entre os isolados de *H. sativum* para as características acima citadas.

MISRA & SINHA (1965) tentaram induzir setores em *H. sativum* com diversas temperaturas. Obtiveram setores em isolados cultivados em BDA numa faixa de 25 a 30°C. Abaixo de 25°C não houve formação de setores. Utilizaram também 9 meios de cultura diferentes, obtendo respostas diferenciais quanto à formação de setores nos diversos meios. BDA foi o meio que propiciou maior frequência de setores. O ágar de Czapek sem nitrato de sódio, a 25°C, também proporcionou uma maior frequência de setores nas colônias nele incubadas. Ressaltam assim os fatores ambientais - temperatura e nutrição - no surgimento de setores nas colônias de *H. sativum*.

VODYANAYA & KHROMOVA (1969) realizaram um estudo de populações de *C. sativus*, de diferentes origens geográficas, as quais diferem fisiologicamente. Infelizmente conseguiu-se apenas o resumo deste trabalho no qual os autores dividem as populações em 3 grupos: conidial (micélio escuro, crescimento rápido e esporulação abundante); micelial (micé-

lio pálido, crescimento vagaroso e conídios virtualmente ausentes) e intermediário.

O efeito nutricional sobre os caracteres culturais das colônias de *C. sativus* foi também demonstrado por TIMONIN, PETERSON & ROUATT (1974). Utilizaram 5 aminoácidos diferentes em meio de Czapek: dl-arginina, l-histidina, dl-prolina, dl-alanina, dl-serina e dl-metionina. Esses causaram modificações na taxa de crescimento, desenvolvimento micelial e esporulação, tanto positivas como negativas, dependendo tanto dos aminoácidos como dos isolados.

VIRK & SINGH (1980) também se preocuparam com o aspecto nutricional de *H. sativum*, só que realizaram suas aferições em peso médio de micélio em 14 diferentes fontes de carbono, em 13 diferentes aminoácidos e em 7 diferentes fontes inorgânicas de nitrogênio. Entre as primeiras sobressaiu-se a maltose, entre os aminoácidos, o l-triptofano e entre as últimas, o nitrato de potássio que propiciaram melhor crescimento do fungo.

## 2.5 - Conídios de *Cochliobolus sativus*

Assim como os trabalhos sobre morfologia e crescimento, os sobre características dos conídios apresentam diversas metodologias. Devido a isto apresentar-se-ã, como no item anterior, os trabalhos por ordem cronológica.

CHRISTENSEN (1922) observou que os conídios de isolados diferentes diferem entre si quanto ao número de

septos, quando cultivado em um mesmo meio. A diferença em número de septos, no entanto, é ainda maior dentro de um isolado cultivado em meios diferentes. O mesmo ocorre para o comprimento dos conídios, assim como para largura. O tamanho, forma e grau de curvatura dos conídios de mesmo isolado variam consideravelmente em meios diferentes.

Conídios com grande variabilidade tanto em comprimento como em largura, assim como em número de septos são citados por DRECHSLER (1923). Esse autor salienta a diferença tanto em tamanho como em morfologia entre os esporos de *H. sativum* em cultura e os isolados de plantas. Sendo os primeiros de tamanho bem menor, quase a metade dos de plantas, mas não muito mais estreitos e com redução de septos. A morfologia dos conídios também é variada, desde os retos ou curvados irregularmente até os atípicos com extremidades achatadas ou bilobadas. O pesquisador ressalta, no entanto, que apesar desta variabilidade, os esporos maduros são de cor olivácea escura uniforme, com parede grossa e hilo proeminente na extremidade basal.

Em 1923, DOSDALL & CHRISTENSEN verificaram diferenças nos comprimentos dos conídios de *H. sativum*. Diferenças essas bem menores do que as encontradas entre os esporos em diferentes meios de cultura. Em seu trabalho sobre especialização fisiológica e mutação, CHRISTENSEN (1925) observou que os diversos setores diferiam da colônia original e uns entre os outros também quanto ao comprimento, largura, forma e número de septos dos conídios, assim como na

produção dos mesmos.

MITRA (1930) observou que em temperaturas baixas (10 a 12°C) os conídios de *H. sativum* tendem a ter redução em tamanho e em grau de septação. Também a solução de Richard dá origem a esporos anormalmente pequenos e com poucos septos. Esse mesmo autor, em 1931, estudou os setores de *Helminthosporium sativum* encontrando também grande variação: desde alta conidiação até esterilidade; comprimento e largura dos esporos geralmente semelhantes ao da colônia parental mas algumas com grandes diferenças e o número de septos geralmente acompanhando o tamanho dos esporos (maior o conídio, maior número; menor esporo, menos septos). A morfologia dos conídios parece não se diferenciar muito entre setor e colônia de origem.

O tamanho dos conídios de *Helminthosporium* varia de acordo com a concentração de açúcar no meio, sendo que *H. sativum* apresenta esporos com maior comprimento médio em meio de 0,12% de açúcar, e o mínimo de tamanho, quase a metade do máximo, é obtido em meio com 2% de açúcar. Ocorre também uma relação entre tamanho de conídios e número de septos (ELLIOTT, 1949).

LUTTRELL (1955) encontrou uma razoável uniformidade entre os conídios dos 10 isolados de *H. sativum* estudados, demonstrada pela pequena amplitude entre as medidas tanto para comprimento e largura como número de septos. Encontrou no entanto maior uniformidade ainda na forma, grossura de parede e cor dos conídios que eram elipsóides, alon-

gados a fusóides, obclavados, retos, paredes muito grossas e cor marrom olivácea escura. Tipos mais extremos encontrados no campo tendem a se uniformizar em condições de cultura.

Em 1964, WILSON & MURPHY comparando *H.victoriae* com *H. sorokinianum* descrevem os conídios deste último como de paredes grossas, fusiformes, cor oliva ou marrom escuro com uma banda mais escura separando a porção granular do conídio da zona mais clara do final das células.

Estudando a morfologia de conídios de *C.sativus* tratados com fungicidas e não tratados, MILLS (1970) faz para estes últimos uma descrição semelhante à do autor anterior, acrescentando que alguns conídios apresentam curvaturas mais agudas e comumente cerca de 1 em 2000 ou 3000 conídios é trirradiado. Conídios velhos geralmente possuem um vacúolo por célula. Ocorrem também conídios com apenas 1 célula, conídios com pescoço ou conídios largamente asseptados.

HARDING (1975a) pesquisando o efeito de 16 aminoácidos, em seus isômeros D e L, sobre os conídios de 11 isolados de *B. sorokiniana* observou uma grande variação no comprimento dos conídios produzidos nos diferentes substratos, apesar de que esta variação é também considerável entre os isolados. Em relação à largura ocorre variação menor mas também dependente de isolado e fonte de nitrogênio utilizada. Não ocorre relação consistente entre os isômeros D e L do mesmo aminoácido, apesar de haver uma pequena predisposição para produção de conídios menores nos isômeros D. Já o número de pseudo-septos é maior em conídios produzidos em

isômeros L de aminoácidos individuais. Apesar deste fato estar ligado com o comprimento dos conídios ocorre uma grande variação nos coeficientes de correlação entre número de pseudo-septos e comprimento. Estes dados ressaltam a grande variabilidade existente em *B. sorokiniana*.

O autor anteriormente citado estudou o efeito da concentração de sacarose e do pH no tamanho e septação dos conídios de *B. sorokiniana*, em 1975b. O tamanho e o número de septos por conídio decresce significativamente com o aumento do pH do meio, apesar de grande variabilidade encontrada entre os isolados de *B. sorokiniana*. A largura do conídio é menos afetada. O número de septos e o tamanho do conídio decrescem com o acréscimo de concentração de sacarose de 1g/litro a 30g/litro. O trabalho também reenfaz a grande variabilidade de *B. sorokiniana*.

Segundo TARCOMNICU (1980) comprimento, largura e número de septos dos conídios de *H. sativum* dependem dos carboidratos do substrato. Manitol é a melhor fonte de carbono e nitrato ou nitrito de sódio a melhor de nitrogênio. O crescimento é melhor no pH 8 e a 28°C e é favorecido pela exposição à luz por 8 horas, seguidas de 16 horas de escuridão.

## 2.6 - Fertilidade de *Cochliobolus sativus*

### 2.6.1 - Reprodução Sexuada e Compatibilidade Sexual de *Cochliobolus sativus*

"Desde a descrição do estado sexuado de *H. sativum* por Ito e Kuribayashi em 1929, descrito como *Ophiobolus sativus*, não apareceram mais trabalhos neste sentido. Utilizando 56 isolados monoconidiais, obtidos de locais bem distantes, e deixando-os crescer sob uma grande variedade de condições e meios de cultura, foram obtidos peritécios maduros com ascósporos. Dos possíveis pareamentos entre os 56 isolados, 3 resultaram na formação de ascósporos. Dois isolados não pareados formaram estruturas semelhantes a peritécios mas sem produção de ascósporos". Este resumo foi apresentado em 1949, por TINLINE, SALLANS & SIMMONDS.

Em 1951, TINLINE publica o trabalho apresentado no resumo acima sobre estudos do estado perfeito de *H. sativum*. Utilizou 56 isolados monoconidiais e os fez crescer em pares e sozinhos em uma série de meios de cultura, com luz e/ou sem luz e em várias temperaturas. Com isto estabeleceu o primórdio da técnica para cruzamento de *C. sativus* utilizada até hoje: sementes de cevada (esterilizadas com bicloreto de mercúrio e fervidas), com a suspensão de conídios das duas linhagens a cruzar, sobre ágar de Sach. Observou que os ascósporos obtidos produziam colônias e conídios típicos de *C. sativus* (*H. sativum*). A inoculação de

plântulas de trigo com estas colônias monoascospóricas ou suas descendentes produziram nos coleóptilos as lesões características de infecção por *C. sativus*. O estágio conidial do fungo foi facilmente reisolado destas lesões. As outras conclusões importantes deste trabalho foram as de que *C. sativus*:

- é heterotático, pois peritécios só são produzidos quando isolados monoconidiais ou monoascospóricos crescem aos pares;
- é auto-estéril, pois isolados únicos podem ou não produzir somente primórdios de ascocarpos;
- possui dois grupos de compatibilidade sexual: A e a;
- possui esterilidade intragrupo, pois isolados de mesma compatibilidade sexual não cruzam;
- possui fertilidade intergrupo, pois somente ocorre cruzamento entre isolados de compatibilidade sexual oposta;
- possui a capacidade de formar primórdios de peritécio em pareamento intragrupo, o que indica condição "feminina".

Neste mesmo trabalho, TINLINE (1951) verificou que isolados de uma mesma região podem ser de compatibilidade sexual oposta.. Observou que os primórdios de peritécios aparecem entre 4 a 10 dias do pareamento, tanto sobre e sob a semente como no ágar ao seu redor, sendo que na 4<sup>a</sup> a 5<sup>a</sup> semana já estão iniciando a maturação. A formação de ascocarpos é inconsistente e os peritécios maduros irrompem do tecido hospedeiro morto, se localizam superficialmente ou ficam imersos no ágar. No peritécio, as paráfises são muito

numerosas e extremamente delgadas. Aparentemente decrescem em número conforme vão sendo formados os ascos. Foram observados até 60 ascos em um único peritécio. Os ascos maduros, em montagem de água, geralmente descarregam seus esporos simultaneamente pela ruptura da parte superior da parede do asco. Os ascósporos germinam rapidamente por um ou mais tubos germinativos de um ou de todos os segmentos, tanto terminal como lateralmente. Os ascos possuem, normalmente, 4, 6 ou 8 ascósporos normais. Ocasionalmente estão presentes junto com esporos normais um ou mais ascósporos menores, provavelmente não desenvolvidos. A ausência de peritécios na natureza é explicada, pelo autor, como sendo devida à grande variabilidade e numerosas formas fisiológicas de *C. sativus* observadas, assim como a sua disseminação pelo vento, o que reduz a necessidade de reprodução sexuada.

Em 1953, TINLINE publica um resumo informando que do cruzamento de dois isolados compatíveis, um selvagem e outro albino, obteve peritécios brancos e pretos, o que evidencia a natureza hermafrodita (bissexual) do fungo. Ascósporos isolados ao acaso destes peritécios brancos e pretos deram origem a colônias albinas e selvagens em aproximadamente igual frequência, assim como, independente de cor também segregaram para "A" e "a". Os fatores para cor e compatibilidade sexual são herdados independentemente e controlados cada um por um único gene.

SHOEMAKER, em 1955, apresenta um excelente trabalho sobre a biologia, a citologia e a taxonomia de *C. sativus*.

O autor cita ter utilizado inicialmente os mesmos isolados compatíveis e o método de TINLINE (1951), e que apesar das precauções a formação de ascocarpos é irregular. SHOEMAKER descreve detalhadamente cada estrutura envolvida na reprodução sexuada, algumas das quais já foram citadas no item 1.3.1 desta Introdução. Relata que a temperatura inicial de 24°C amadurece as espermogônias, enquanto as ascogônias são primeiramente formadas nas culturas, então a espermatização é favorecida. A ascosporigênese no entanto é favorecida por uma temperatura de 20°C. Confirma a característica hermafrodita e heterotálica do *C. sativus*. Observa que fusões de hifas e conidiação não iniciam o heterocário no ascogônio, este só é formado pela fecundação das hifas ascógenas pelas espermácias, quando então são formados os croziers nas extremidades das hifas ascógenas no pseudotécio. Isolados homocarióticos e pareamentos incompatíveis formam ascocarpos parcialmente maduros por diferenciação do estroma materno. Em pareamentos mistos albino x selvagem incompatíveis, podem ser formados prototécios, mas estes serão só brancos ou só pretos conforme o isolado de que derivar o tecido materno parental. O autor confirma a auto-esterilidade, a esterilidade intragrupo e fertilidade intergrupo. Os oito esporos uninucleados são delimitados no asco formados após o cruzamento de isolados férteis. Os ascósporos maduros são multicelulares e cada célula possui de 6 a 10 núcleos. Os ascósporos se enrolam numa apertada hélice dentro do asco. Ocasionalmente são formados esporos esféricos. A parede do asco é fina a

princípio. Já o asco com esporos parcialmente maduros tem uma parede interna (endotúnica) e uma externa fina e rígida (exotúnica). Em ascos jovens a endotúnica é penetrada por um canal apical cheio de citoplasma, a base do asco não mostra sinais de lise após a saída dos ascósporos e os poros do estipe basal se parecem com um plugue de tomada elétrica. Os ascos comumente abrem por uma ruptura apical circunscrita, mas também quebram próximo ao centro ou à base. Não se obtém evidência da endotúnica funcionando na descarga de esporos, apesar de que é ela que por pressão quebra a exotúnica, devido à bainha hidrofílica gelatinosa que rodeia os ascósporos. Shoemaker propõe também heterotalismo bipolar controlado por um par de genes. O heterotalismo de *C. sativus* parece agir impedindo o desenvolvimento do ascocarpo no estágio de prototécio, não havendo então a formação de hifas ascógenas que ao serem fecundadas pela espermácia tornam-se heterocarióticas, ocorre a plasmogamia e conseqüentemente a cariogamia e a meiose.

O desenvolvimento citológico do asco de *C. sativus* foi estudado detalhadamente por HRUSHOVETZ em 1956a. O autor confirma alguns dos dados dos trabalhos anteriormente citados e ressalta a ocorrência de ascos possuindo de 8 até 1 ascósporo aparentemente normais. Alguns ascos contêm ascósporos degenerados. Salieta também o fato de que o enrolamento helicoidal dos ascósporos ocorre mesmo se o asco contiver apenas 2 esporos. Os ascósporos podem ter até 14 septos e o número de núcleos pode chegar até 30 por célula. O

autor suspeita de que ocorram translocações recíprocas entre os 7 a 8 cromossomos do fungo, assim como cromossomos soltos do fuso que podem levar a disjunções anormais e portanto a anomalias meióticas e mitóticas. Essas aberrações cromossômicas originariam ascósporos anormais e degenerados, o que ele considera como uma manifestação de "esterilidade segregacional" desde que os ascósporos são equivalentes aos gametas de organismos superiores. Essa hibridação estrutural dos cromossomos pode prevenir a delimitação e maturação dos ascósporos, o que levaria à variabilidade do número de ascósporos encontrados nos ascos.

TINLINE & DICKSON (1958) na tentativa de aperfeiçoar a metodologia de cruzamento de *C. sativus* testaram uma série de temperaturas e concluíram que 24°C por 7 dias seguido de 20°C por 14 dias ou mais aumenta o número de peritécios com ascos e ascósporos. Também que ocorrem peritécios maduros em maior número em culturas incubadas no escuro do que expostas à luz. Peritécios também não se desenvolvem em meios de cultura onde faltam partes de plantas, tais como grãos de cereais, para servir de suporte. A função do ágar não parece ser específica, mas aqueles que propiciam crescimento vegetativo intenso como ágar malte ou ágar farinha de milho dificultam a detecção de peritécios. A formação e maturação de peritécios é favorecida por uma reação ácida e suprimida por alcalina no meio meio de ágar. O ideal é que o pH da semente e do meio de cultura estejam próximos, entre 5,0 e 6,0. Vegetativamente o fungo cresce entre 4°C e 36°C,

com ótimo em 28 °C. Em pH entre 3 e 12, com ótimo em pH 8 e tanto em meio sintético como em meio natural.

Segundo TINLINE & DICKSON (1958) a aparente ausência de peritécios na natureza não pode ser adequadamente explicada pelos resultados obtidos nos experimentos de laboratório. Apesar da luz ser detrimental para a delimitação de ascósporos, alguns peritécios se formam sob a maioria das condições de luz. A temperatura e a concentração de íons hidrogênio que conduzem à formação de peritécios no laboratório podem ser encontradas na natureza. TINLINE (1951) e SHOEMAKER (1955) observaram que colmos, espigas de trigo e vários grãos de cereais suportam a produção do estágio perfeito. TINLINE (1951) e HARDING & TINLINE (1983) verificaram que linhagens de compatibilidade sexual oposta ocorrem na natureza em locais próximos ou até no mesmo campo.

TINLINE & DICKSON (1958) postulam como prováveis causas de inibição de formação de peritécios de *C. sativus* na natureza a infreqüência da combinação dos fatores favoráveis à formação de peritécios ou a existência de fatores que dificultam a produção dos mesmos, tais como antibiose, competição com outros microrganismos e outros.

Em 1954, ROSEN relata o achado de 1 peritécio encontrado próximo à base da bainha de uma folha de palha de aveia Travelar, no Arkansas, em 1947. O autor descreve o peritécio e o compara com o *O. sativus*, ressaltando que a comparação foi feita a partir de um único peritécio e com dimensões um pouco menores do que as citadas para *O. sativus*.

## 2.6.2 - Estudos sobre a Fertilidade de *Cochliobolus sativus*

KLINE & NELSON, em 1968, parearam 55 isolados "A" e 48 isolados "a", de 33 gramíneas hospedeiras de 7 países, em 1250 combinações, para determinar qualitativa e quantitativamente as capacidades de cruzamentos julgadas pelas frequências de fertilidade completa ou parcial. Os isolados foram caracterizados como fracos, intermediários ou fortes com base nas frequências que vão de 4 a 90% e 13 a 81% de fertilidade completa para os isolados "A" e "a", respectivamente. Quando os pareamentos que produziram ascos estéreis são incluídos, as frequências de fertilidade dos isolados "A" e "a" são de 12 a 100% e 22 a 97%, respectivamente. Tentativas repetidas de parear isolados fracos resultaram consistentemente em poucos pareamentos bem sucedidos, com menos peritécios do que os pareamentos repetidos dos conjuntos de isolados compatíveis fortes. Qualitativa e quantitativamente as diferenças em capacidades de cruzamento não são correlacionadas com origem geográfica ou origem do hospedeiro. Para os autores genes que controlam as capacidades de cruzamento condicionam as seqüências de desenvolvimento dos processos ascígeros.

JONES (1971) estudando isolados de *C. sativus*, ao pareá-los com isolados testadores padrão de Tinline, verificou serem 50% de cada tipo de compatibilidade sexual. Dos pareamentos realizados entre isolados albinos canadenses e selvagens australianos, o autor obteve apenas 25% com produ-

ção de peritécios brancos e pretos, os outros produziram apenas peritécios brancos. Ao parear em várias combinações possíveis os isolados australianos, os resultados foram os seguintes: 100% dos pareamentos compatíveis com formação de peritécios, dos pareamentos incompatíveis 24,24% formaram primórdio de peritécio e 75,76% não evidenciaram formação nem de peritécio nem de primórdio do mesmo. Observou também que isolados de compatibilidade sexual oposta ocorrem tanto em regiões bem separadas como próximas.

Em 1975, SOLANGI descreve a técnica para isolamento de ascósporos de *C. sativus* e reafirma a variabilidade do número de ascósporos nos ascos, tendo encontrado ascos com 2, 4, 5, 6, 7 e 8 ascósporos.

Em 1983, HARDING & TINLINE utilizaram duas populações de *C. sativus* para estudar a existência de fertilidade diferencial. Uma população constituía-se de isolados de trigo ou cevada obtidos ao acaso em diferentes locais. A outra era uma população de um campo único de plantas de trigo onde ao acaso foram retirados os isolados. Esses isolados foram cruzados com os isolados testadores padrão para compatibilidade sexual. Na primeira população 50,77% dos isolados foram "A" e 49,23% "a". Na população de campo único 38,78% foram "A" e 61,22% "a". O autor relata que foram feitos cruzamentos em todas as combinações possíveis dentro de cada população, tendo os resultados mostrado claramente a existência de fertilidade diferencial dentro das duas populações. A maior barreira para o ciclo sexual completo é a ina-

bilidade de formar prototécio. Na população ao acaso 23% dos cruzamentos e na de campo único 32% dos cruzamentos não formaram prototécio. Na população ao acaso cerca de 15% dos cruzamentos só produziram prototécios e na de campo único foi cerca de 19%. Cruzamentos resultando em ascos estéreis foram infreqüentes, cerca de 6% na população ao acaso e 1,5% na de campo único. A seqüência completa da reprodução sexuada que leva à formação de ascósporos foi obtida por 56% dos cruzamentos da população ao acaso e 48% da de campo único. O autor relata que em dados próprios não publicados obteve 50% de fertilidade completa. Ressalta que em alguns casos a freqüência de ascos com ascósporos maduros era muito baixa, entretanto ascos vazios ou com conteúdos desordenados podiam ser distingüidos facilmente. O autor não classificou os ascósporos para maturidade e sugere que talvez a freqüência de ascósporos maduros tenha sido algo superestimada. Dos dados, para o pesquisador parece claro que ao menos dois caracteres recessivos estão em ação em *C. sativus*: um governando a formação do ascocarpo e outro controlando a formação do ascósporo. Outros fatores, que possam influenciar, não são claros, como por exemplo fatores ambientais. A existência de fertilidade diferencial parece fora de dúvida, além de ocorrer numa população pequena e restrita geograficamente acontece também em áreas geográficas bastante distantes.

## 2.7 - Estudos sobre a Genética de *Cochliobolus sativus*

É evidente que em termos de um fungo fitopatogênico são mais importantes, necessários e muitas vezes urgentes os estudos sobre a maneira de combatê-lo, seja por controle químico ou biológico, ou por melhoramento da resistência do hospedeiro. É claro também que em termos de estudos genéticos, os que surgirão em primeiro lugar e maior quantidade serão os sobre a herança da patogenicidade e virulência. Portanto, os estudos sobre a genética básica de um fungo fitopatogênico são poucos e é o que acontece com o *C. sativus*.

Este item, na verdade, não é específico para o tipo de trabalho aqui apresentado, mas como o presente estudo foi realizado com a finalidade de preparar isolados brasileiros de *C. sativus* para estudo genético, resolveu-se abordar ligeiramente o assunto. Além do mais este item é de certa maneira uma homenagem ao Dr. Robert Tinline, um dos pesquisadores que mais trabalhou em genética de *C. sativus* e que, além de enviar os isolados padrões testadores de compatibilidade sexual, deu à autora deste trabalho ótimas sugestões, tanto pessoalmente como por escrito.

Em 1949, TINLINE, SALLANS & SIMMONDS descrevem resumidamente o estágio peritecial de *H. sativum*. Em 1951, TINLINE descreve com detalhes o estágio perfeito de *H. sativum*, trabalho esse já abordado nesta Introdução. Em 1953, apresenta um resumo sobre a herança de cor de colônia e de compati-

bilidade sexual. Em 1954, TINLINE<sup>7</sup>, citado por HRUSHOVETZ (1956), publica sua tese para o título de Ph.D. sobre fisiologia, patogenicidade e genética de *H. sativum*. Em 1955, esse mesmo autor, resume seu trabalho de indução de mutação em *H. sativum*, relatando a obtenção de mutantes albinos e outros que diferiram em características morfológicas, esporulação, taxa de crescimento, requerimentos nutritivos e patogenicidade. TINLINE & DICKSON (1958) iniciam uma série de trabalhos sobre genética de *C. sativus*, sendo este primeiro sobre o desenvolvimento do peritécio e herança de cor de esporo e compatibilidade sexual (trabalho já abordado nesta Introdução) e que demonstra a segregação na taxa esperada de 1:1 tanto para os alelos condicionadores de cor de conídio como para os da compatibilidade sexual, sendo estas duas características herdadas independentemente. O segundo trabalho dessa série é publicado em 1959 por TINLINE & SAMBORSKI e trata da descrição e biossíntese de um pigmento rosa, denominado de "sativin", encontrado no micélio de *C. sativus*, que é fotoativado. Um resumo sobre variação cultural e patogênica em *C. sativus* é apresentado em 1960 por TINLINE. Nesse mesmo ano, TINLINE, STAUFFER & DICKSON apresentam o terceiro artigo da série *Cochliobolus sativus* versando sobre efeito da radiação ultravioleta, reforçando o resumo apresentado

---

<sup>7</sup> TINLINE, R.D. Physiology, pathogenicity and genetics of *Helminthosporium sativum*, Ph.D. Thesis, University of Wisconsin, 1954.

em 1955 e verificando que os cruzamentos entre linhagens fraca e altamente patogênicas não indicam um padrão claro de segregação da característica, provavelmente devido ao controle por mais de um gene.

No ano de 1961b, TINLINE publica resumo sobre recombinação parassexual em *C. sativus*, utilizando marcadores de cor, nutritivos e resistência a anisomicina, obtendo segregantes diplóides e haplóides recombinados. Nesse mesmo ano (1961a) ele publica o quarto trabalho da série *Cochliobolus sativus* em que relata técnica para obtenção de mutantes a partir de radiação ultravioleta. Obteve mutantes resistentes a drogas, auxotróficos e para cor. O quinto artigo, publicado em 1962a, registra os heterocários formados através da anastomose de hifas e migração nuclear e que cerca de 6% dos conídios perpetuam esta heterocariose. Obteve também o ciclo parassexual observando que os diplóides assim obtidos crescem rápida e uniformemente, mas que os conídios diplóides, apesar de maiores, não chegam a ser o dobro do tamanho dos haplóides. Os heterocários crescem vagarosa e intermitentemente e tendem a se dissociar rapidamente. O sexto trabalho da série é publicado também em 1962b e descreve técnica específica para isolar mutantes nutricionais por enriquecimento por filtração, pelo qual conseguiu aumentar de 0 e 0,04% a 1,83% a obtenção de mutantes. O sétimo artigo foi publicado em 1963 e trata do controle nutricional da patogenicidade de alguns auxotróficos de *C. sativus* em plântulas de trigo. Utilizou linhagens prototróficas e auxotróficas de pais co-

muns, heterocários sintetizados de auxotrofos, diplóides obtidos de heterocários e recombinantes selecionados de um diplóide. Observou que a patogenicidade está relacionada com os requerimentos nutritivos do fungo.

Em 1963 e 1964, CHINN & TINLINE apresentam dois artigos relativos à germinação dos conídios no solo como uma característica inerente do *C. sativus*. Essa característica foi transmitida através de reprodução sexuada dos parentais para uma parte da progênie.

HUANG & TINLINE (1974) estudaram a mitose somática em linhagens haplóides e diplóides de *C. sativus*. E em 1975, HUANG, TINLINE & FOWKE observaram a ultra-estrutura da mitose somática nessas linhagens haplóide e diplóide. Em 1983, HARDING & TINLINE publicam trabalho sobre fertilidade diferencial em populações de *C. sativus* (já discutido nesta Introdução).

Como se pode observar, a contribuição desse pesquisador à genética de *C. sativus* é bastante grande, sem se falar em trabalhos como os de revisão (TINLINE & McNEILL, 1969: "Parasexuality in plant pathogenic fungi") e os sobre patogenicidade e resistência relacionados a *C. sativus*.

Outros autores além de Tinline também deram boas contribuições ao estudo genético de *C. sativus*: SHOEMAKER (1955) sobre biologia, citologia e taxonomia; HRUSHOVETZ (1956a,b) sobre citologia de *H. sativum* e citologia do desenvolvimento do asco; KLINE & NELSON (1968) sobre fertilidade desse fungo; NELSON & KLINE (1962) sobre a variação in-

tra-específica da patogenicidade; BOOSALIS (1962) sobre a indicação de que o modo de esporulação possa ser uma parte da constituição genética do fungo; KLINE & NELSON (1971) identificaram pelo menos 7 genes para indução de lesão em 6 espécies de gramíneas, sendo provavelmente a patogenicidade para uma dada espécie herdada de modo simples e dependendo de 1 ou 2 genes; HOSFORD, SOLANGI & KIESLING (1974 e 1975) demonstraram a existência de pelo menos 2 genes para patogenicidade, no mínimo 2 genes com efeito aditivo para características morfológicas e controle da reprodução sexuada efetuado, a princípio, por 3 genes.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo da população de *Cochliobolus sativus* foi efetuado, no presente trabalho, através de uma amostra de 62 isolados coletados em lavouras e campos experimentais de trigo, cevada e triticale, em cinco Estados do País e no Distrito Federal, durante os anos de 1980 a 1985. A tabela 2 caracteriza a amostra de acordo com o Estado de origem (UF), município ou estação experimental, data de isolamento, hospedeiro, cultivar hospedeiro e órgão atacado.

Os isolados listados na Tabela 2 foram cedidos pelos fitopatologistas: Ariano Prestes e Erlei Melo Reis, do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (CNPT), Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA), Passo Fundo, RS; José Ribamar N. dos Anjos, do Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), EMBRAPA, Planaltina, DF; Marco A.R. de Oliveira, da Organização das Cooperativas do Estado do Paraná (OCEPAR), Cascavel, PR, e Guilherme L. Asmus, do Centro Universitário de Dourados, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Dourados, MS.

No presente trabalho será utilizada a nomenclatura genética e prática para fungos patogênicos de plantas recomendada por YODER, VALENT & CHUMLEY (1986), assim al-

TABELA 2. Caracterização da Amostra de *Cochliobolus sativus*.

Isolado	UF	Local de origem	Data isolamento	Hospedeiro	Cultivar hospedeiro	Órgão atacado	Laboratório origem
34/80	PR	IAPAR	07/04/80	Trigo	Paraguai	Folha	CNPT
39/82	DF	Brasília	06/05/82	Trigo	IAS-20	Folha	CNPT
51/82	DF	Brasília	06/05/82	Trigo	PI 348646	Folha	CNPT
57/82	PR	Cascavel	04/06/82	Trigo	OC 816	Semente	CNPT
58/82	PR	Cascavel	04/06/82	Trigo	OC 8124	Semente	CNPT
67/82	MS	Dourados	26/06/82	Trigo	CNT 7	Folha	CNPT
76/82	PR	Cascavel	29/07/82	Trigo	IAS-5	Folha	CNPT
86/82	MS	Dourados	03/08/82	Trigo	Itapuia	Gluma	CNPT
89/82	MS	Dourados	03/08/82	Trigo	Itapuia	Gluma	CNPT
98/82	ni	Caibaté	27/08/82	Trigo	IAC5 Maringá	Folha	CNPT
101/82	RS	Getúlio Vargas	30/08/82	Trigo	Maringá	Folha	CNPT
31/83	DF	Brasília	06/06/83	Trigo	ni	Folha	CNPT
62/83	PR	Londrina	30/08/83	Trigo	ni	Espiga	CNPT
70/83	PR	Campo Mourão	30/08/83	Trigo	OC 8149	Espiga	CNPT
77/83	MS	Dourados	30/08/83	Trigo	Alondra	Espiga	CNPT
79/83	PR	Campo Mourão	30/08/83	Trigo	OC 8147	Folha	CNPT
33/84	RS	Tapejara	02/04/84	Trigo	Guachê	Folha	CNPT
42/84	MG	ni	16/06/84	Trigo	CEP 8268	Gluma	CNPT
43/84	MG	São Gotardo	14/06/84	Trigo	PF 82349	Colmo	CNPT
44/84	MG	ni	14/06/84	Trigo	IAC-S	Folha	CNPT
87/84	MS	Indianápolis	02/07/84	Trigo	ANAHUAC	Folha	CNPT
118/84	PR	Realeza	10/08/84	Trigo	PF 79742	Folha	CNPT
120/84	PR	Campo Mourão	10/08/84	Trigo	Rep 11	Folha	CNPT
121/84	PR	S. Miguel Iguaçú	10/08/84	Trigo	ni	Folha	CNPT
221/84	RS	Santo Ângelo	15/10/84	Trigo	IAC5 Maringá	Folha	CNPT
222/84	RS	Três de Maio	10/08/84	Trigo	Maringá	Folha	CNPT
1001	DF	EMBRABA/CPAC	16/04/85	Trigo	IAC-21	Folha	CPAC
1002	MG	Curvelo	16/04/85	Trigo	Jupateco	Semente	CPAC
1003	GO	EMBRAPA/CNPAF	16/04/85	Trigo	IAC-5	Semente	CPAC
1004	DF	Fazenda Sucupira	16/04/85	Trigo	Alondra	Semente	CPAC
1005	MG	Paracatu	16/04/85	Trigo	Alondra	Semente	CPAC

TABELA 2. Continuação.

Isolado	UF	Local de origem	Data isolamento	Hospedeiro	Cultivar hospedeiro	Órgão atacado	Laboratório origem
1006	DF	EMBRAPA/CPAC	16/04/85	Trigo	BR 8	Raiz	CPAC
1007	MG	Patrocínio	16/04/85	Trigo	Alondra	Semente	CPAC
1008	DF	COOPA	16/04/85	Trigo	BR 8	Semente	CPAC
1009	DF	EMBRAPA/CPAC	16/04/85	Trigo	OC 2131	Semente	CPAC
1010	GO	Morrinhos	16/04/85	Trigo	IAC-5	Semente	CPAC
1012	MG	São Gotardo	17/05/85	Trigo	IAC-5	Raiz	CPAC
1014	MG	São Gotardo	17/05/85	Trigo	BH 1146	Raiz	CPAC
1015	MG	São Gotardo	17/05/85	Trigo	BH 1146	Raiz	CPAC
1016	MG	São Gotardo	17/05/85	Trigo	BH 1146	Folha	CPAC
12 OPR	PR	Goioerê	09/09/83	Trigo	PAT 7219	Folha	OCEPAR
14 OPR	PR	Goioerê	09/09/83	Trigo	ANAHUAC	Folha	OCEPAR
16 OPR	PR	Ubiratã	09/09/83	Trigo	Alondra	Folha	OCEPAR
18 OPR	PR	Ubiratã	09/09/83	Trigo	BH 1146	Folha	OCEPAR
19 OPR	PR	Ubiratã	09/09/83	Trigo	Cocoraque	Folha	OCEPAR
20 OPR	PR	Ubiratã	09/09/83	Trigo	PAT 7392	Folha	OCEPAR
23 OPR	PR	Nova Aurora	12/09/83	Trigo	ANAHUAC	Folha	OCEPAR
24 OPR	PR	Nova Aurora	12/09/83	Trigo	ANAHUAC	Folha	OCEPAR
25 OPR	PR	Nova Aurora	12/09/83	Trigo	ANAHUAC	Folha	OCEPAR
D/85	MS	Dourados	21/06/85	Trigo	IAC 5 Maringá	Folha	UFMS
45/80	PR	Londrina	15/04/80	Cevada	FM-404	Semente	CNPT
52/80	DF	Brasília	21/05/80	Cevada	ni	Folha	CNPT
02/81	RS	Passo Fundo	23/02/81	Cevada	ANT-04	Semente	CNPT
13/81	RS	Encruzilhada	23/03/81	Cevada	FM-404	Semente	CNPT
20/81	PR	Guarapuava	30/03/81	Cevada	IPB-121	Semente	CNPT
27/81	PR	Ponta Grossa	10/04/81	Cevada	ANT-04	Semente	CNPT
28/81	PR	Arapoti	10/04/81	Cevada	FM-404	Semente	CNPT
109/82	RS	Passo Fundo	30/09/82	Cevada	ni	Folha	CNPT

TABELA 2. Continuação

Isolado	UF	Local de origem	Data isolamento	Hospedeiro	Cultivar hospedeiro	Órgão atacado	Laboratório origem
57/83	PR	Palotina	29/08/83	Triticale	ni	Folha	CNPT
74/83	PR	Palotina	30/09/83	Triticale	PFT 765	Espiga	CNPT
39/84	DF	Brasília	22/05/84	Triticale	ni	Folha	CNPT
1013	DF	EMBRAPA/ CPAC	17/05/85	Triticale	PFT 766	Folha	CPAC

ni = não identificado

guns dos termos a serem utilizados serão:

- isolado do campo ou isolado: qualquer linhagem coletada diretamente da natureza e geneticamente inalterada por manipulação;

- tipo selvagem: é o tipo genético padrão, o encontrado normalmente na natureza;

- variante: diferenças ocorridas naturalmente entre as linhagens;

- mutante: linhagem que difere da selvagem por mutação induzida em ao menos um loco;

- tipo de compatibilidade sexual: o tipo A será denominado de MATI-1 ou MAT-1 e o tipo a de MATI-2 ou MAT-2.

### 3.1 - Morfologia e Crescimento

O estudo da morfologia e crescimento de *C. sativus* foi desenvolvido utilizando-se 60 isolados cultivados em 4 meios de cultura num período de até 6 dias (não foram utilizados os isolados 62/83 e 121/84).

#### 3.1.1 - Fonte de Inóculo

A fonte de inóculo, para a obtenção de colônias a serem avaliadas quanto a morfologia e crescimento, foi obtida da seguinte maneira:

- repicagem de cada isolado original em três tubos com BDA;

- escolha de um dos três tubos, de cada isolado, de acordo com o bom crescimento da colônia e ausência de contaminação;
- utilização do tubo escolhido como fonte de inóculo para as placas de Petri, as quais constituíram as unidades experimentais;
- inoculação dos isolados, no centro de placa de Petri de 9 cm de diâmetro, com alça de platina.

### 3.1.2 - Meios de Cultura

Os 60 isolados de *C. sativus*, que compõem a amostra avaliada para morfologia e crescimento, foram incubados em quatro meios de cultura diferentes:

- Batata Dextrose Ágar (BDA) da Oxoid;
- Ágar de Czapek (C) da Oxoid;
- Meio mínimo (MM) para *H. sativum* (TINLINE, STAUFFER & DICKSON, 1960);
- Meio completo (MC) (PONTECORVO et alii, 1953, modificado por AZEVEDO & COSTA, 1973).

### 3.1.3 - Incubação

As placas, com os inóculos repicados nos 4 meios de cultura, foram colocadas em prateleiras de incubadora BOD de acordo com sorteio realizado, distribuídas 20 placas em cada uma das 12 prateleiras da incubadora. Esse processo foi

repetido três vezes a intervalos de 10 dias.

### 3.1.4 - Uniformidade das Condições Experimentais

#### 3.1.4.1 - Fonte de Inóculo

Como descrito anteriormente, o mesmo tubo serviu de inóculo para as 12 placas de cada isolado (4 meios de cultura repetidos 3 vezes).

#### 3.1.4.2 - Quantidade de Meio de Cultura

Cada placa recebeu 20 ml de meio de cultura, que foram medidos em proveta graduada, passados para tubo de ensaio, esterilizados e vertidos na placa.

#### 3.1.4.3 - Tempo de Preparo do Material

Os meios de cultura eram preparados, medidos e autoclavados em uma primeira etapa. Numa segunda etapa eram vertidos para as placas e, posteriormente, os isolados eram inoculados. Cada etapa era realizada, para os 4 meios de cultura, em um mesmo dia.

#### 3.1.4.4 - Condições de Incubação

As placas com o material inoculado foram incubadas a uma temperatura de  $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Foi utilizado fotope-

ríodo de 12 horas, tendo sido usadas 4 lâmpadas GE luz do dia 20 watts Universal G20 5D, colocadas de maneira a permitir uma iluminação uniforme a todas as 240 placas.

#### 3.1.4.5 - Avaliação do Material

Foram registradas as observações, para as variáveis relacionadas à morfologia e crescimento, aos 2, 4 e 6 dias após a inoculação. Assim foram considerados três períodos de incubação, os quais constituíram, para cada variável, a 1.<sup>a</sup> 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leitura, respectivamente. A última leitura (3.<sup>a</sup>) foi determinada quando do preenchimento da placa, aos 6 dias de incubação, por 12 colônias em C e 2 e MM. Foi preenchida uma ficha individual para cada isolado por meio de cultura, em cada repetição, contendo os dados específicos das três leituras.

#### 3.1.5 - Variáveis Consideradas

Para o estudo da morfologia e crescimento das colônias derivadas dos 60 isolados, nos 4 meios de cultura, nas 3 leituras e em suas 3 repetições, foram observadas as seguintes variáveis:

##### 3.1.5.1 - Cor do Emaranhado Micelial da Colônia

Para cada colônia foram anotadas todas as co-

res presentes no micélio e não apenas a cor predominante, de acordo com a chave de cores de RAYNER (1970).

#### 3.1.5.2 - Cor do Reverso da Colônia

A cor do reverso da colônia foi também comparada com a chave de cores de RAYNER (1970) e utilizada a metodologia citada para cor do emaranhado micelial.

#### 3.1.5.3 - Bordas da Zona de Crescimento da Colônia

As bordas da zona de crescimento da colônia foram classificadas segundo BETTUCCI & GUERRERO (1971) em: regular (01), irregular (02), ondeada (03) e submergida (04).

#### 3.1.5.4 - Topografia e Textura do Micélio Aéreo da Colônia

De acordo com BETTUCCI & GUERRERO (1971) a topografia e a textura do micélio aéreo da colônia foi classificada em: acamurçado (01), algodinoso (02), crostoso (03), afelpado (04), farináceo (05), afeltrado (06), flocoso (07), lacunoso (08), plumoso (09), sedoso (10), subafeltrado (11), aveludado (12) e lanoso (13).

#### 3.1.5.5 - Presença de Setores na Colônia

Foi anotado o número de setores em forma de

leque ou cunha que ocorreram nas colônias, assim como suas características morfológicas e de crescimento em comparação com a colônia original.

#### 3.1.5.6 - Ocorrência e Tipo de Zonação na Colônia

Foi observada a ocorrência ou não de zonação nas colônias, em caso positivo a zonação foi classificada em: radial (01), concêntrica (02), radial e concêntrica (03) e assimétrica (04).

#### 3.1.5.7 - Diâmetro da Colônia

A velocidade de crescimento dos isolados foi aferida através da medida do diâmetro das colônias, com o uso de régua milimetrada aplicada no reverso da placa. Cada observação dessa variável foi oriunda da média entre duas medidas opostas do diâmetro da colônia, tendo como referência o ponto de inoculação.

#### 3.1.6 - Delineamento Experimental

Com o objetivo de estudar a variabilidade em crescimento dos isolados de *C. sativus*, através do diâmetro das colônias, nos 4 meios de cultura e nos 3 períodos de incubação (2, 4 e 6 dias após inoculação), foram efetuadas as análises das variâncias seguindo o esquema inteiramente ca-

sualizado:

Causas da Variação	GL
Isolados	59
Resíduo	120
Total	179

Esse tipo de análise possibilita observar a magnitude das variâncias nas 12 combinações entre meios de cultura e níveis de leitura.

Adicionalmente, o estudo da variável diâmetro da colônia foi também realizado seguindo um experimento fatorial, delineado em blocos casualizados com três repetições, tendo como fatores os isolados, os meios de cultura e as leituras: 60 isolados, 4 meios de cultura e 3 níveis de leitura. Cada bloco foi constituído pelas 240 placas, que continham os 60 isolados nos 4 meios de cultura, colocadas de cada vez na incubadora BOD.

A análise de variação para esse experimento fatorial foi efetuada de acordo com o seguinte esquema:

Causas da Variação	GL
Blocos	2
Meios de cultura	3
Isolados	59
Leituras	2
Meios x Isolados	177
Meios x Leituras	6
Isolados x Leituras	118
Meios x Isolados x Leituras	354
Resíduo	1438
Total	2159

Essa análise foi realizada a fim de se avaliar prováveis interações entre os fatores. Os fatores e as interações entre os mesmos que foram significativos a 0,05 de probabilidade tiveram desdobramento pelo teste de Tukey.

As análises estatísticas foram realizadas através do sistema SANEST (ZONTA & MACHADO, 1984).

As demais variáveis - cor do emaranhado micelial e cor do reversos da colônia, bordas da zona de crescimento da colônia, topografia e textura do micélio aéreo, presença de setores, ocorrência e tipo de zonação - foram observadas do mesmo material utilizado para o estudo do diâmetro da colônia, ou seja, nos 4 meios de cultura, aos 2, 4 e

6 dias de incubação e em 3 repetições. Para essas variáveis, acima citadas, assim como para o diâmetro da colônia, foram feitas as descrições dos resultados utilizando-se distribuições de frequências, histogramas e quadros representativos.

### 3.2 - Conídios

Além do estudo das variáveis morfológicas e de crescimento das colônias dos isolados de *C. sativus*, foram também realizados os estudos de conidiação, tamanho de conídios e número de septos dos mesmos.

#### 3.2.1 - Conidiação

A contagem do número de conídios por colônia foi realizada aproveitando-se a terceira repetição do material utilizado para o estudo de morfologia e crescimento. Foram realizadas duas contagens para cada isolado, nos 4 meios de cultura, no décimo dia de incubação.

Para o estudo de conidiação foram cortados 5 círculos de 0,5mm de diâmetro, de cada colônia, colocados em 10 ml de água destilada. Após agitação preenchia-se as câmaras do hematímetro de Neubauer com a solução de conídios, com auxílio de alça de platina, e eram realizadas as leituras ao microscópio ótico.

### 3.2.2 - Tamanho e Número de Septos dos Conídios

Trinta e nove dos sessenta isolados estudados para morfologia e crescimento foram escolhido ao acaso para a realização da medida dos conídios. Estes isolados foram inoculados em tubos com BDA e medidos 50 conídios de cada, após o 14º dia de inoculação. Com o auxílio de ocular milimetrada foram feitas medidas de comprimento e largura dos conídios. Foram também contados o número de septos por conídio.

### 3.2.3 - Descrição das Variáveis Conidiais

As variáveis conidiação e tamanho e número de septos dos conídios que não foram observadas do material delineado em blocos casualizados, foram descritas através de médias, distribuições de frequências e histogramas.

## 3.3 - Fertilidade

Colônias monoconidiais dos isolados de *C.sativus* foram utilizadas para estudo da compatibilidade sexual e da fertilidade.

### 3.3.1 - Obtenção dos Isolados Monoconidiais

Os isolamentos monoconidiais foram obtidos da seguinte maneira, utilizando-se como estoque as colônias

crescidas em BDA estudadas para conidiação.

- 0,1 ml de suspensão diluída de conídios foi vertida sobre placa de Petri com camada bem fina de ágar-água 15%, espalhada com alça de Drigalsky;

- exame da placa, pelo reverso, em microscópio estereoscópico, após cerca de 4 a 6 horas, e marcação dos conídios bem separados de outros e de segmentos de micélio;

- passagem com auxílio de agulha histológica, de 10 pedaços de ágar, que continham conídios isolados, para placa de Petri com camada bem fina de ágar-água 15%;

- após 24 horas, exame ao microscópio estereoscópico para escolha de 3 conídios, por isolado, em germinação e sem sinais de contaminação;

- passagem de cada um desses 3 conídios escolhidos para placas de Petri com BDA, para o crescimento da colônia;

- incubação a  $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 7 dias.

Apenas 1 das 3 colônias monoconidiais de cada isolado foi utilizada para os estudos de compatibilidade sexual e de fertilidade. Foi escolhida a colônia que apresentava melhor crescimento e não tivesse sinais de contaminação.

### 3.3.2 - Método de Pareamento dos Isolados para Obtenção da Reprodução Sexuada

O método utilizado foi o de pareamento dos isolados sobre grãos de cevada em ágar de Sach descrito por

HARDING & TINLINE (1983). Em cada placa de Petri com ágar de Sach foram colocadas 10 sementes embebidas nas suspensões de conídios dos dois isolados monoconidiais utilizados para o pareamento. As placas foram incubadas por uma semana a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e nos restantes 42 dias a  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

### 3.3.3 - Avaliação dos Resultados dos Pareamentos

A partir do 50º dia de pareamento, realizou-se a avaliação dos mesmos. Os ascocarpos produzidos eram retirados da semente ou do ágar com auxílio de pinça e agulha histológica esterilizadas, sob observação ao microscópio estereoscópico. Eram colocados de 4 a 8 ascocarpos em uma lâmina, com uma ou duas gotas de água, esmagados com estilete esterilizado e cobertos e levemente pressionados com uma lâmina.

A observação da lâmina era realizada ao microscópio ótico com aumento de 400X. Se, após a investigação de toda a lamínula, não eram encontrados ascósporos, a preparação era comprimida em microprensa a fim de se obter um melhor espalhamento do material. Após era realizada nova observação ao microscópio.

Esse método de esmagamento do material com microprensa foi adotado por ter-se observado que, muitas vezes, ascos e ascósporos ficavam encobertos pela massa de tecido do pseudotécio. Isso dificulta a observação, a não ser que haja uma boa pressão de esmagamento e conseqüentemente

bom espalhamento do material.

Para cada pareamento eram observadas tantas lâminas quantas necessárias até o achado de ascos com ascósporos ou até o esgotamento dos ascocarpos produzidos sobre e sob as 10 sementes ou no ágar.

### 3.3.4 - Determinação da Compatibilidade Sexual

A determinação da compatibilidade sexual da amostra estudada foi realizada com o auxílio dos isolados cedidos pelo Dr. Robert D. Tinline (Agricultural Canada Research Station, Saskatoon, Saskatchewan, Canada), cujas características são apresentadas na Tabela 3.

TABELA 3 . Isolados de *C. sativus* Padrão Testadores para Compatibilidade Sexual (cedidos por R.D. Tinline, Canadá).

Isolados	Conídios	Compatibilidade Sexual
A18	selvagem	MAT-2
A20	selvagem	MAT-1
J1 - 15	brancos	MAT-2
K3	brancos	MAT-1
D8	selvagem	MAT-2
D14	selvagem	MAT-1

Para determinação da compatibilidade sexual dos isolados brasileiros de *C. sativus*, os 62 isolados monoconidiais foram pareados com os isolados monoconidiais padrão testadores A18, A20, J1-15 e K3, já caracterizados na Tabela 3.

Os isolados que produziram ascocarpos sem ascos ou que não produziram ascocarpos com os isolados testadores de determinada compatibilidade sexual (por exemplo com MAT-1), mas que resultaram em ascos e ascósporos com isolados testadores de compatibilidade sexual oposta (no caso, por exemplo, com MAT-2), não foram repetidos.

Os isolados que não produziram ascos com ascósporos com nenhum dos isolados padrão testadores, tiveram seus pareamentos repetidos até obtenção de resultado positivo com um dos testadores.

### 3.3.5 - Estudo da Fertilidade dos Isolados Brasileiros

Após determinada a compatibilidade sexual dos isolados brasileiros, foram utilizados 26 isolados MAT-1 e 27 isolados MAT-2 para o estudo da fertilidade, pareados em todas as combinações possíveis.

Os pareamentos que produziram pseudotécios com ascos e ascósporos não foram repetidos. Os que produziram pseudotécios sem ascos ou com ascos vazios e os que não produziram ascocarpos foram repetidos até o aparecimento de ascósporos ou até um máximo de quatro vezes.

### 3.3.6 - Apresentação dos Resultados de Fertilidade

O estudo da compatibilidade sexual e da fertilidade dos isolados brasileiros de *C. sativus* foram descritos através de distribuições de frequências e quadros demonstrativos.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variabilidade de *Cochliobolus sativus* é bem enfatizada, tanto em morfologia e crescimento como em conidiação, tamanho do conídio e número de septos, na maioria dos trabalhos publicados. Essa caracterização de *C. sativus* como um fungo altamente variável vem desde os primeiros trabalhos de identificação taxonômica do mesmo e é posteriormente reforçada por uma série de trabalhos mais específicos sobre o assunto. Chama-se a atenção, no entanto, para a diversidade de metodologia utilizada pelos diversos autores, assim como também para o número de isolados estudados em cada trabalho. Esse fator metodológico irá dificultar um pouco a discussão dos resultados do presente trabalho com o de outros autores.

### 4.1 - Morfologia e Crescimento de *Cochliobolus sativus*

Os dados de morfologia e crescimento obtidos através do experimento fatorial, delineado em blocos casualizados ou inteiramente casualizado, tendo como fatores os sessenta isolados, os quatro meios de cultura e os três níveis de leitura, com três repetições, estão descritos, analisados e discutidos a seguir.

Observação: O isolado 1002 não cresceu na 1.<sup>a</sup>

repetição do experimento, desta maneira, com exceção das análises para diâmetro de colônia onde seu diâmetro é 0,00 cm, as análises de frequência das características morfológicas seguirão o seguinte padrão:

1. cada leitura de C, MC e BDA = 180 placas (60 isolados x 3 repetições).
2. cada leitura de MM = 179 placas (-1.<sup>a</sup> repetição de 1002)
3. as 3 leituras de C, MC e BDA = 540 placas (60 isolados x 3 leituras x 3 repetições)
4. as 3 leituras de MM = 539 placas (60 isolados x 3 leituras x 3 repetições - isolado 1002 na 1.<sup>a</sup> repetição)
5. cada leitura nos 4 meios de cultura = 719 placas (60 isolados x 4 meios de cultura x 3 repetições - isolado 1002 na 1.<sup>a</sup> repetição)
6. as 3 leituras nos 4 meios de cultura = 2157 placas (60 isolados x 3 leituras x 4 meios de cultura x 3 repetições - 3 leituras do isolado 1002 na 1.<sup>a</sup> repetição)

#### 4.1.1 - Cor do Emaranhado Micelial e do Reverso da Colônia de *Cochliobolus sativus*

Os isolados de *C. sativus* quando mantidos na ausência de luz apresentam colônias escuras onde predominam as cores preta, cinza e branca, muito raramente ocorrendo alguns pontos de cores rosadas ou avermelhadas. Devido a esse motivo foi que se desenvolveu o experimento fatorial sob fotoperíodo de 12 horas, propiciando assim que se evidenciassem

as cores produzidas sob regime de luz para quando de experimento de indução de mutação, seja por meios químicos ou físicos, possam ser reconhecidas mais facilmente as colônias ou setores com cores mutantes.

Ao se comparar as cores produzidas pelas colônias dos 60 isolados de *C. sativus* com a chave de cores de RAYNER (1970), foi observado que as cores do emaranhado micelial eram idênticas às aquelas verificadas pelo reverso da placa, apresentando-se apenas um pouco mais claras, mas não mudando na classificação da cor. Esse fato se deve, provavelmente, ao micélio aéreo mais novo, superficial, ainda sem conídios e de cor hialina que recobre a colônia, o que leva ao clareamento da cor apresentada. Verificou-se também que não ocorreu modificação na coloração do meio de cultura. Assim, para evitar contaminação das colônias pelas várias aberturas da tampa da placa para observação do micélio aéreo e sua comparação com a carta de cores, decidiu-se verificar a cor do micélio pelo reverso da placa. A Figura 1 demonstra essa identidade de cores entre verso e reverso da placa que contém a colônia.

Os isolados de *C. sativus* sob fotoperíodo de 12 horas apresentaram nos 4 meios de cultura e nas 3 leituras um total de 46 cores diferentes, cujos nomes, códigos e frequências estão listados no Apêndice 1. Verifica-se que a cor predominante é o branco, que ocorre em colônias nos 4 meios de cultura e em quase todos os isolados com frequências relativas de 98,70% em MM, 95,56% em C, 92,22% em MC e 91,11% em BDA, num total de 94,39% das 60 colônias nos

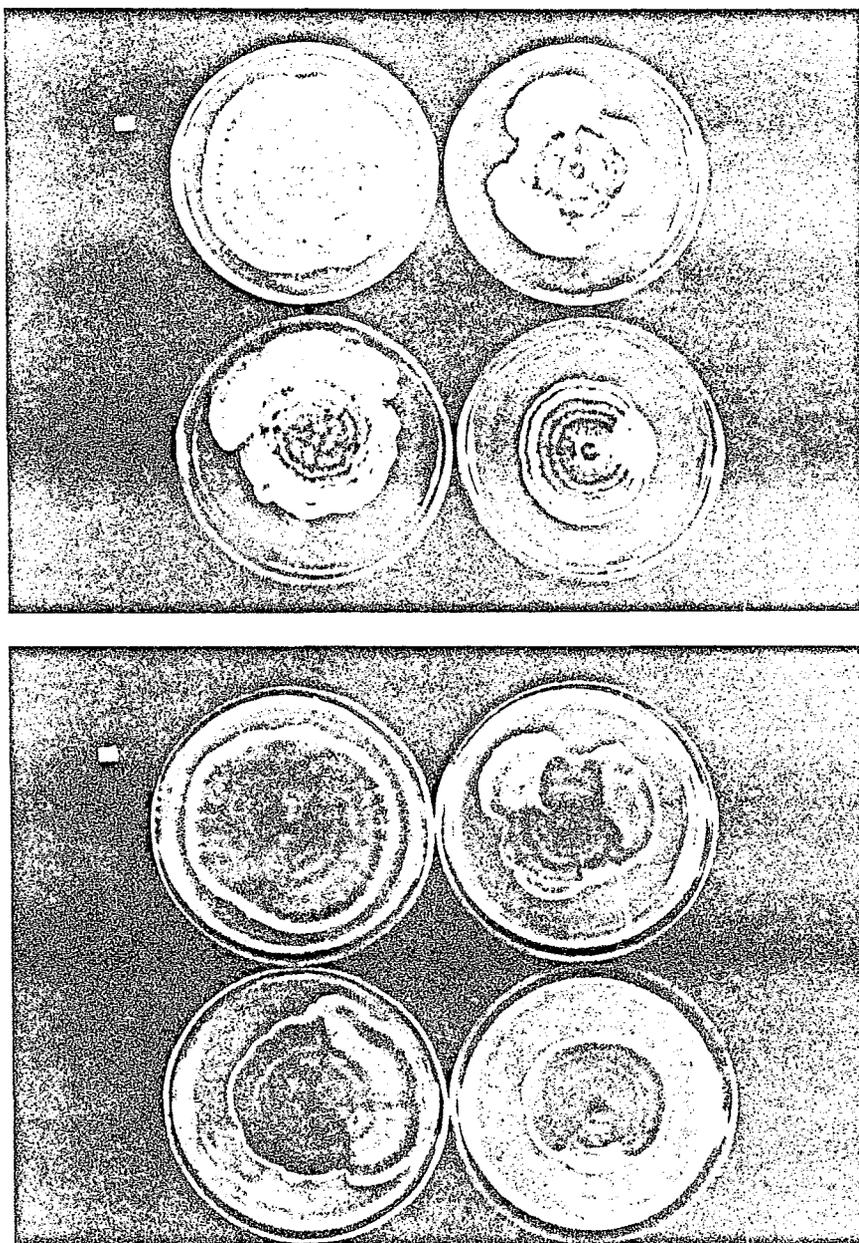


FIGURA 1. Fotos com Verso e Reverso de Placas com Colônias de *C. sativus*. Foto superior com verso de placa e foto inferior com reverso de placa, demonstrando identidade de cores de ambas, com tons mais claros no verso da placa. Na fotografia o reverso da placa apresenta-se mais escuro devido à falta de transparência do fundo por causa da camada de meio de cultura. A marca branca indica o isolado 86/82, ao lado 98/82, abaixo à esquerda 31/83 e à direita 1008 cultivados em BDA.

4 meios, 3 leituras e 3 repetições.

Ressalte-se que 100% das colônias em MM apresentaram apenas a cor branca na 1.<sup>a</sup> leitura. Nas outras leituras de MM e nas 3 leituras dos outros meios de cultura a cor branca normalmente situa-se na borda da colônia ou em seu centro formando coroas mais ou menos afastadas do ponto de inoculação.

Outra cor predominante nas colônias é o cinza oliváceo com 68,72% em MM, 60,37% em C, 44,63% em BDA e 39,26% em MC, num total de 53,22% nos 4 meios e 3 leituras. O oliváceo também ocorre em freqüências como 44,07% em MC (nesse meio, inclusive em freqüência maior que o cinza oliváceo), 32,41% em C, 24,39% em MM e 10,19% em BDA, num total de 27,77%. Chama atenção também o verde sombrio com 16,67% em BDA, 14,07% em C e 13,22% em MM, já em MC sua freqüência é de apenas 0,37%.

Com exceção da cor branca, ao se comparar as cores que ocorrem em freqüência maior que 10% nas colônias de *C. sativus* nos 4 meios e nas 3 leituras, observa-se a preponderância de tons esverdeados em C e MM, como o cinza oliváceo, o oliváceo e o verde sombrio. Já outro tom esverdeado que é o oliváceo escuro não ocorre em grande freqüência nesses dois meios (5,19% em C e 3,54% em MM), no entanto apresenta-se bem mais freqüente em MC (23,15%) e em BDA (14,07%).

As colônias em MC e BDA tendem a apresentar uma freqüência maior de cores de tons amarelados, amarronzados e avermelhados tais como 14,44% de acafrão em MC, 17,96% e 13,33% de amarelo e 38,15% e 14,07% de camurça em BDA e MC,

respectivamente; 11,48% de rosa amarelado, 21,11% de sépiea e 17,96% de mel em BDA. Ressalta-se, no entanto, que essas cores não são exclusivas desses dois meios de cultura, apenas ocorrem em frequências bem menores em C e em MM.

Algumas cores, apesar de sua baixa frequência, parecem exclusivas de alguns meios e algumas leituras, tais como:

- âmbar e vináceo rosado na 2<sup>a</sup> leitura de C; ocre nas 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> leituras de C; castanho, castanho amarelado e azul esverdeado na 3<sup>a</sup> leitura de C; coral e verde grama na 3<sup>a</sup> leitura de MM; rosa na 1<sup>a</sup> leitura de MC; sépiea acinzentado nas 1<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> leituras de MC; amarelo tostado nas 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> leituras de MC; vermelho e cinza camundongo escuro na 2<sup>a</sup> leitura de BDA.

Outras cores não ocorrem em um ou dois meios de cultura, como é o caso:

- escarlata, marrom avermelhado, ferrugem, salmão e tijolo escuro em MM; castanho amarelado em MM e BDA; damasco em C e BDA; vináceo e cinza oliváceo pálido em MM e MC; verde grama escura e oliváceo amarelado em MC; marrom vináceo em C; castanho amarelado gamo, marrom avelã e cinza camundongo em C e MM.

Essas cores não ocorrem exclusivamente uma por colônia, seja por meio ou por leitura. Na verdade, segundo a Tabela 4 é pequena a frequência de colônias que apresentam apenas uma cor nos 4 meios e nas 3 leituras. Nesse caso, apenas 6,44% das colônias apresentam cor única, sendo que a

TABELA 4. Freqüências de Combinações de Cores do Micélio das Colônias de *C. sativus* (nas 3 leituras dos 4 Meios de Cultura, com 3 Repetições).

Número de combinações de cores das colônias	Leitura	Meios de Cultura												Total		
		C			MM			MC			BDA			Freqüência absoluta	Freqüência relativa	
		Freqüência absoluta	Freqüência relativa													
01 cor	1ª	60	0,3333	42	0,2346	05	0,0278	20	0,1111	127	0,1766	05	0,0070	07	0,0097	0,0644
	2ª	03	0,0167	00	0,0000	00	0,0000	02	0,0111	05	0,0070	00	0,0000	00	0,0000	0,5160
	3ª	03	0,0167	02	0,0112	00	0,0000	02	0,0111	07	0,0097	220	0,3060	86	0,1196	0,3139
	Total	66	0,1222	44	0,0819	05	0,0093	24	0,0444	139	0,1766	07	0,0097	07	0,0097	0,0644
02 cores	1ª	99	0,5500	130	0,7263	87	0,4833	55	0,3056	371	0,5160	371	0,5160	220	0,3060	0,3060
	2ª	50	0,2778	76	0,4246	60	0,3333	34	0,1889	220	0,3060	220	0,3060	86	0,1196	0,1196
	3ª	24	0,1333	35	0,1955	21	0,1167	06	0,0333	86	0,1196	86	0,1196	677	0,3139	0,3139
	Total	173	0,3204	241	0,4488	168	0,3111	95	0,1759	677	0,3139	677	0,3139	677	0,3139	0,3139
03 cores	1ª	20	0,1111	07	0,0391	69	0,3833	84	0,4666	180	0,2503	180	0,2503	357	0,4965	0,4965
	2ª	107	0,5944	97	0,5419	74	0,4111	79	0,4389	357	0,4965	357	0,4965	357	0,4965	0,4965
	3ª	107	0,5944	115	0,6425	84	0,4666	51	0,2833	357	0,4965	357	0,4965	894	0,4145	0,4145
	Total	234	0,433	219	0,4078	227	0,4204	214	0,3963	894	0,4145	894	0,4145	894	0,4145	0,4145
04 cores	1ª	01	0,0056	00	0,0000	17	0,0944	20	0,1111	38	0,0529	38	0,0529	110	0,1530	0,1530
	2ª	20	0,1111	04	0,0223	36	0,2000	50	0,2778	110	0,1530	110	0,1530	190	0,2643	0,2643
	3ª	31	0,1722	18	0,1006	56	0,3111	85	0,4722	190	0,2643	190	0,2643	338	0,1567	0,1567
	Total	52	0,0963	22	0,0410	109	0,2019	155	0,2870	338	0,1567	338	0,1567	338	0,1567	0,1567
05 cores	1ª	00	0,0000	00	0,0000	02	0,0111	01	0,0056	03	0,0042	03	0,0042	00	0,0000	0,0000
	2ª	00	0,0000	02	0,0112	10	0,0556	14	0,0778	26	0,0362	26	0,0362	01	0,0014	0,0014
	3ª	11	0,0611	08	0,0447	15	0,0833	33	0,1833	67	0,0932	67	0,0932	11	0,0153	0,0153
	Total	11	0,0204	10	0,0186	27	0,0500	48	0,0889	96	0,0445	96	0,0445	96	0,0445	0,0445
06 cores	1ª	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	0,0000
	2ª	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	01	0,0014	0,0014
	3ª	04	0,0222	01	0,0056	03	0,0167	03	0,0167	11	0,0153	11	0,0153	11	0,0153	0,0153
	Total	04	0,0074	01	0,0019	03	0,0056	04	0,0075	12	0,0056	12	0,0056	12	0,0056	0,0056
07 cores	1ª	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	0,0000
	2ª	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	0,0000
	3ª	00	0,0000	00	0,0000	01	0,0056	00	0,0000	01	0,0014	01	0,0014	01	0,0014	0,0014
	Total	00	0,0000	00	0,0000	01	0,0056	00	0,0000	01	0,0014	01	0,0014	01	0,0014	0,0014

maior frequência de uma cor ocorre no meio C (12,22%) devido principalmente à apresentação de cor única na 1.<sup>a</sup> leitura.

As colônias sob fotoperíodo de 12 horas podem apresentar combinações de até 7 cores diferentes. Considerando os 4 meios de cultura e os 3 níveis de leitura, verifica-se pela Tabela 4 que a maior frequência é de colônias com 3 cores (41,45%), seguida de colônias com 2 cores (31,39%).

A Figura 2, complementando a Tabela 4, apresenta os histogramas das frequências relativas do número de combinações de cores das colônias de acordo com meio de cultura e nível de leitura. Verifica-se, em todos os meios de cultura, o surgimento de maior frequência de colônias com mais combinações de cores de acordo com o tempo de incubação, isto é, da 1.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura. Observa-se que os meios C e MM se assemelham no fato de maior frequência de 2 cores na 1.<sup>a</sup> leitura, tendendo a partir da 2.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura ao aumento da frequência de colônias com 3 cores. Já MC apresenta um pequeno predomínio de colônias de 2 cores sobre as de 3 cores na 1.<sup>a</sup> leitura, o que se inverte na 2.<sup>a</sup> leitura, passando na 3.<sup>a</sup> leitura a serem predominantes as colônias com 3 cores, seguidas das com 4 cores. Em BDA, tanto na 1.<sup>a</sup> como na 2.<sup>a</sup> leitura as combinações de 3 cores são predominantes, mas invertem-se as frequências de 2 e 4 cores, sendo que na 3.<sup>a</sup> leitura a maior frequência é de 4 cores, seguidas pelas combinações de 3 e 5.

Ao se verificar as cores que se combinam nas colônias de *C. sativus* (Apêndice 2), pode-se observar que

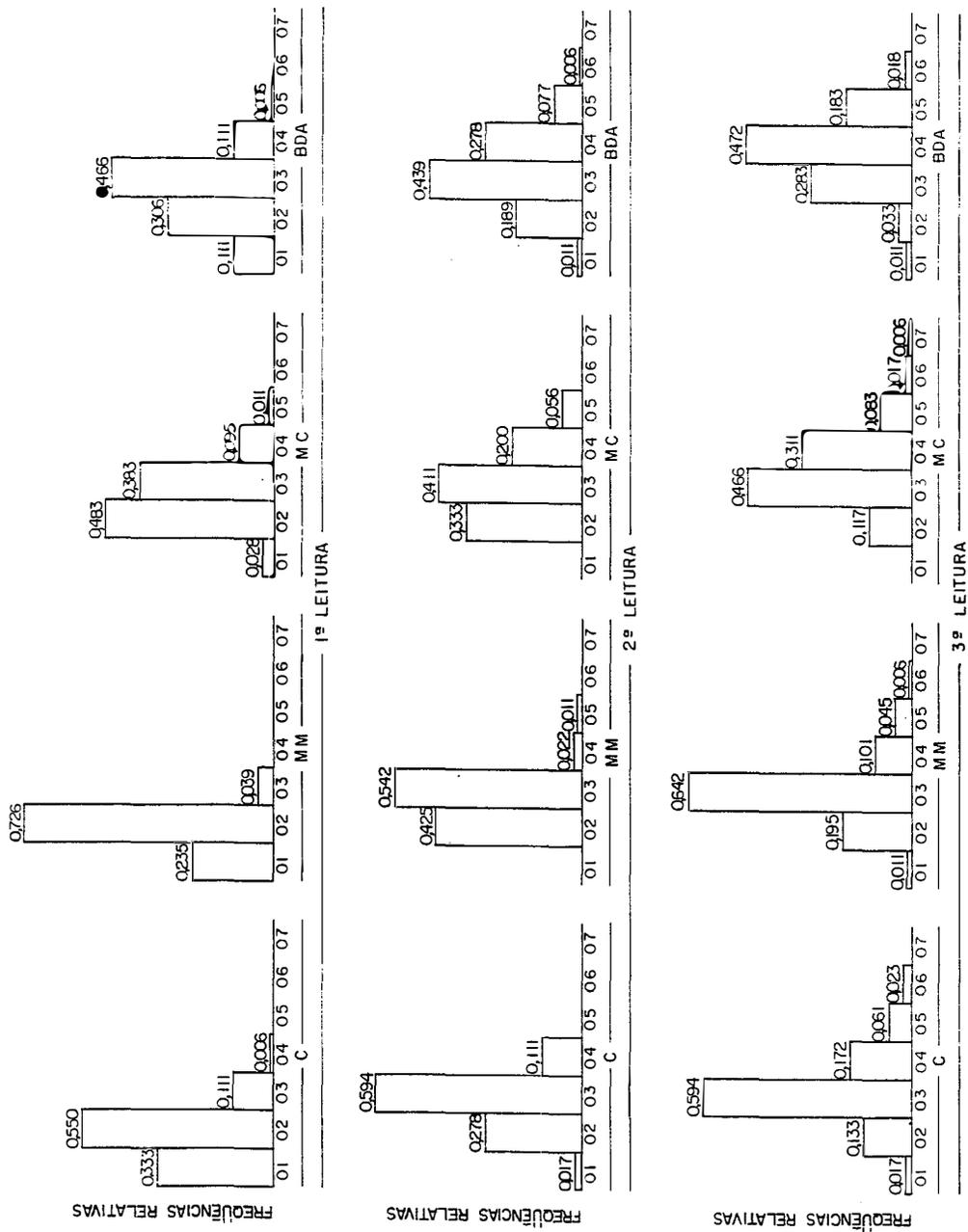


FIGURA 2. Histogramas das Frequências de Combinações de Cores das Colônias de *C. sativus* (nas 3 Leituras dos 4 Meios de Cultura com 3 Repetições). Os números de 01 a 07 no eixo das abcissas indicam o número de cores de colônia.

apenas 7 das 46 cores observadas ocorreram sozinhas nas colônias. Isto se deve principalmente à ocorrência da cor branca na 1.<sup>a</sup> leitura dos 4 meios (32,78% em C, 23,46% em MM, 10,56% em BDA e 2,78% em MC). As outras 6 cores únicas ocorreram esporadicamente.

Em combinações de 2 cores, ocorrem 24 cores combinadas com branco e outras 24 combinações de 2 cores de onde o branco é excluído. Das combinações de 2 cores destacam-se branco e oliváceo na frequência de 14,44% na 1.<sup>a</sup> leitura e 26,67% na 2.<sup>a</sup> leitura de MC. Nos 4 meios ocorrem branco e cinza oliváceo nas frequências de 49,72%, 31,84% e 13,97% nas 1.<sup>a</sup>, 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras de MM, respectivamente, de 46,11% e 18,33% nas 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> leituras de C, de 12,22% na 1.<sup>a</sup> leitura de MC e 11,67% na 1.<sup>a</sup> leitura de BDA.

Nas combinações de 3 cores, observam-se 110 combinações de 2 cores com branco e 32 combinações de 3 cores que excluem o branco. Entre essas, destacam-se pelas frequências mais elevadas:

- branco, oliváceo e verde sombrio em 12,22% na 3.<sup>a</sup> leitura de C; branco, oliváceo e cinza oliváceo em 17,22 e 27,78% nas 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras de C, assim como em 18,99 e 26,82% nas 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras de MM; branco, verde sombrio e cinza oliváceo em 12,29% na 3.<sup>a</sup> leitura de MM; branco, cinza oliváceo escuro em 12,22% na 3.<sup>a</sup> leitura de MC.

Com 4 cores verificam-se 164 combinações de branco com outras 3 cores e 18 combinações de 4 cores sem o branco. Nenhuma dessas combinações, no entanto, ultrapassam a 4% e pode-se dizer que são praticamente combinações exclu-

sivas de 1 a 3 colônias de cada leitura e cada meio.

Nas combinações de 5 cores ocorrem 72 combinações de branco com outras 4 cores e 5 combinações sem a cor branca. Nas combinações de 6 cores, observam-se 11 combinações com branco mais 5 cores e apenas 1 combinação de 6 cores que exclui o branco. Houve a observação de apenas uma colônia com 7 cores diferentes, sendo o branco uma delas. Esses casos de 5, 6 e 7 cores combinadas em uma colônia são semelhantes aos de 4 cores, não havendo destaque em frequência para nenhuma combinação.

Com relação às cores observadas nas colônias de *C. sativus* pode-se verificar situações interessantes. A primeira representada pela Figura 1, já apresentada anteriormente em que 4 isolados diferentes cultivados em um mesmo meio se assemelham muito quanto à cor.

Na Figura 3 observamos fotos de colônias de um mesmo isolado nos 4 meios de cultura. O mesmo isolado pode parecer totalmente diferente conforme o meio em que foi cultivado, como é o caso do isolado 33/84. Também o mesmo isolado pode parecer semelhante em dois dos meios de cultura e diferentes dos outros dois, como é o caso do isolado 02/81 (semelhante nos meios BDA e MC e diferente dos meios C e MM que são semelhantes entre si).

Como se pode observar pela Tabela 5, os cinco trabalhos citados diferem do presente tanto em condições de cultivo, como meio de cultura (excetuando-se o BDA) e em alguns até na origem do isolado. Confirmando nossa observação prévia de cor de micélio escura quando as colônias são cul-

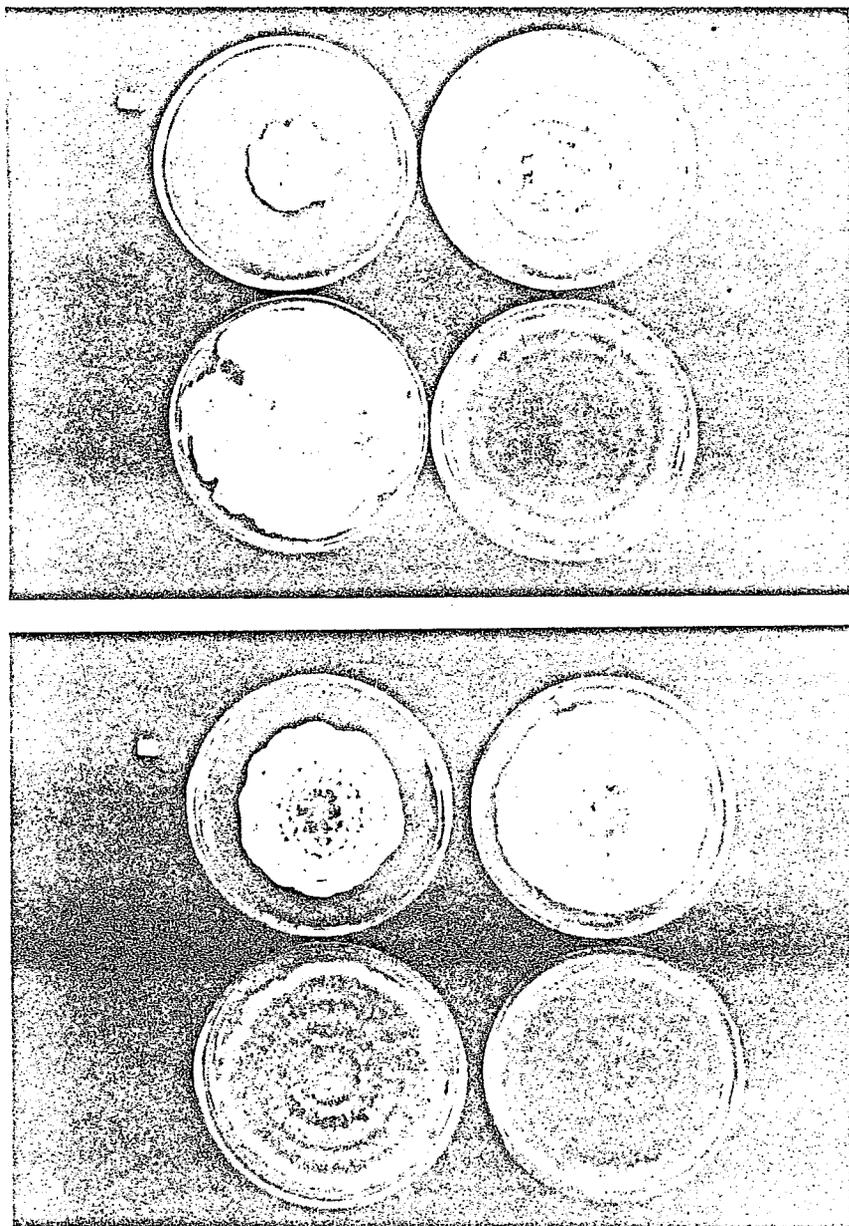


FIGURA 3. Fotos de Colônias de *C. sativus* Apresentando Cores de Micélio. Foto superior: isolado 33/84 e foto inferior: isolado 02/81. A marca branca indica o meio de cultura BDA, à sua direita MC, embaixo, à esquerda, C e à direita MM. Salienta-se na foto do isolado 33/84 as cores distintas conforme o meio de cultura, do isolado 02/81 as cores semelhantes duas a duas.

TABELA 5. Cores de Micélio de Colônias de *C. sativus* Descritas por Vários Autores.

Autor/ Ano	Condições de cultivo	Origem isolado	Meio cultura	Cores do micélio
CHRISTENSEN (1922)	4 repetições escuro 20 a 22°C	centeio	BDA	preto acinzentado
			AV	cinza oliváceo
			AC	esverdeado escuro
		trigo	BDA	preto acinzentado
			AV	branco
			AC	azul esverdeado escuro
		cevada(1)	BDA	preto acinzentado
			AV	preto acinzentado
			AC	azul esverdeado escuro
		cevada(2)	BDA	cinza
			AV	branco, preto e cinza
			AC	acinzentado a ama- relo embaçado
DRECHSLER (1923)	Sem identi- ficação	trigo, cevada, centeio e gramíneas	BDA BDA(+)	preto oliváceo a preto azulado marrom esverdeado escuro com mas- sas opacas de mi- célio branco
CHRISTENSEN (1925)	3 repetições fotoperíodo ambiente	37 isola- dos não identifi- cados	BDA 1% AAAM	branco com grada- ções até preto com matizes de outras cores idem a BDA 1%
MITRA (1930)	escuro	trigo	AB ABA AR ASAS AB ABA	branco a cinza gai- vota cinza gaivota páli- do cinza gaivota escu- ro cinza gaivota cinza neutro pro- fundo cinza neutro pro- fundo

TABELA 5. Continuação.

Autor/ Ano	Condições de cultivo	Origem isolado	Meio cultura	Cores do micélio
MITRA (1930)	fotoperíodo	As colônias acima citadas apresentam cores rosadas	AR	cinza neutro profundo
			ASAS	cinza neutro profundo
WILSON & MURPHY (1964)	ambiente	aveia(1)	BDA	cinza a cinza olivácea a verde
		aveia(2)	BDA	cinza opaco a olivácea
		aveia(3)	BDA	branco a cinza a cinza fumaça
		aveia(4)	BDA	cinza escuro a verde e verde escuro
		cevada	BDA	branco a verde olivácea a verde muito escuro

BDA = batata dextrose ágar; AV = ágar vagem; AC = ágar cenoura; BDA (+) = BDA mais diluído; AAAM = ágar farinha de aveia, arroz e farinha de milho; AB = ágar de Brown; ABA = ágar de Brown com amido; AR = ágar de Richards; ASAS = ágar suco de ameixa seca. Números após a origem do isolado indicam isolados diferentes.

tivadas na ausência de luz, estão os trabalhos de CHRISTENSEN (1922), provavelmente o de DRECHSLER (1923) e o de MITRA (1930). O trabalho de CHRISTENSEN (1925) confirma os dados do presente trabalho do aparecimento de cores diversas sob fotoperíodo, cores essas que, no entanto, não são descritas pelo autor. MITRA (1930) cita que as colônias cultivadas sob fotoperíodo apresentam cores rosadas, o que também foi observado no presente trabalho. Já a pesquisa de WILSON & MURPHY (1964), que apesar de não esclarecer se as colônias estiveram sob regime de fotoperíodo ou não, mostra a preponderância das cores esverdeadas e acinzentadas, o que também ocorre de modo geral nos outros trabalhos apresentados na Tabela 5, assim como a presença do branco. O trabalho de WILSON & MURPHY (1964) confirma assim a preponderância das cores cinza oliváceo e oliváceo para os isolados cultivados em BDA. Algumas das observações dos autores listados na Tabela 5 também confirmam a existência de mais de uma cor na mesma colônia (CHRISTENSEN, 1922; DRECHSLER, 1923; CHRISTENSEN, 1925; WILSON & MURPHY, 1964).

O experimento de CHRISTENSEN (1922) confirma bem a observação feita no presente trabalho de que o mesmo isolado pode apresentar cores diferentes de acordo com o meio de cultura onde é cultivado. Esse mesmo trabalho confirma também o fato de que isolados diferentes podem apresentar cores semelhantes no mesmo ou em meios de cultura diferentes (isolados de centeio, trigo e cevada (1) com preto acinzentado em BDA e cevada (1) com preto acinzentado em

AV). O trabalho de MITRA (1930) mostra a variabilidade encontrada dentro de um mesmo isolado - trigo - em diferentes meios de cultura, assim como a uniformidade que também pode ser encontrada no que se refere a um isolado - cevada - em diferentes meios. Fatos esses também observados no presente trabalho, verificando-se portanto que as cores apresentadas pelas colônias de *C. sativus* dependem tanto do isolado de que são originadas como do meio de cultura e das condições de incubação (fotoperíodo ou escuro).

#### 4.1.2 - Bordas da Zona de Crescimento da Colônia de *Cochliobolus sativus*

Segundo a classificação de BETTUCCI & GUERRERO (1971), ocorreram nas colônias de *C. sativus*, observadas no presente estudo, as bordas tipo regular, irregular e ondeada, mas não as do tipo submergido.

A Tabela 6 e a Figura 4 apresentam os resultados observados nos 4 meios de cultura onde os isolados foram cultivados e nas 3 leituras a que foram submetidos, com 3 repetições.

As colônias em C e MM apresentam, principalmente, as bordas irregulares (no total 78,52% e 62,94%, respectivamente). Já as colônias em MC e BDA apresentam as bordas ondeadas (43,15% e 67,22%, respectivamente).

Observa-se também que em C e em MM as bordas regulares vão decrescendo da 1.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura e as ondeadas vão crescendo em frequência. Já em MC parece haver um maior equilíbrio em torno das frequências dos 3 tipos de bordas, pelo menos nas 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> leituras, verificando-se, no entanto, o decréscimo das bordas regulares e irregulares em

TABELA 6. Freqüências dos Tipos de Bordas das Zonas de Crescimento das Colônias de *C. sativus* (nas 3 Leituras dos 4 Meios de Cultura, com 3 Repetições).

Bordas da zona de crescimento	Leitura	Meios de Cultura													
		C			MM			MC			BDA			Total	
		Freqüência absoluta	Freqüência relativa		Freqüência absoluta	Freqüência relativa		Freqüência absoluta	Freqüência relativa		Freqüência absoluta	Freqüência relativa		Freqüência absoluta	Freqüência relativa
Borda Regular Tipo 01	1ª	32	0,1778	59	0,3296	62	0,3444	58	0,3222	211	0,2935				
	2ª	10	0,5556	31	0,1732	35	0,1944	34	0,1889	110	0,1530				
	3ª	08	0,0444	25	0,1397	24	0,1333	20	0,1111	77	0,1071				
	Total	50	0,0926	115	0,2142	121	0,2241	112	0,2074	398	0,1845				
Borda Irregular Tipo 02	1ª	147	0,8167	109	0,6089	82	0,4556	33	0,1833	371	0,5160				
	2ª	155	0,8611	126	0,7039	61	0,3389	20	0,1111	362	0,5035				
	3ª	122	0,6778	103	0,5754	43	0,2389	12	0,0667	280	0,3894				
	Total	424	0,7952	338	0,6294	186	0,3444	65	0,1204	1013	0,4696				
Borda Ondeadada Tipo 03	1ª	01	0,0056	11	0,0615	36	0,2000	89	0,4944	137	0,1905				
	2ª	15	0,0833	22	0,1229	84	0,4667	126	0,7000	247	0,3435				
	3ª	50	0,2778	51	0,2849	113	0,6278	148	0,8222	362	0,5035				
	Total	66	0,1222	84	0,1564	233	0,4315	363	0,6722	746	0,3459				

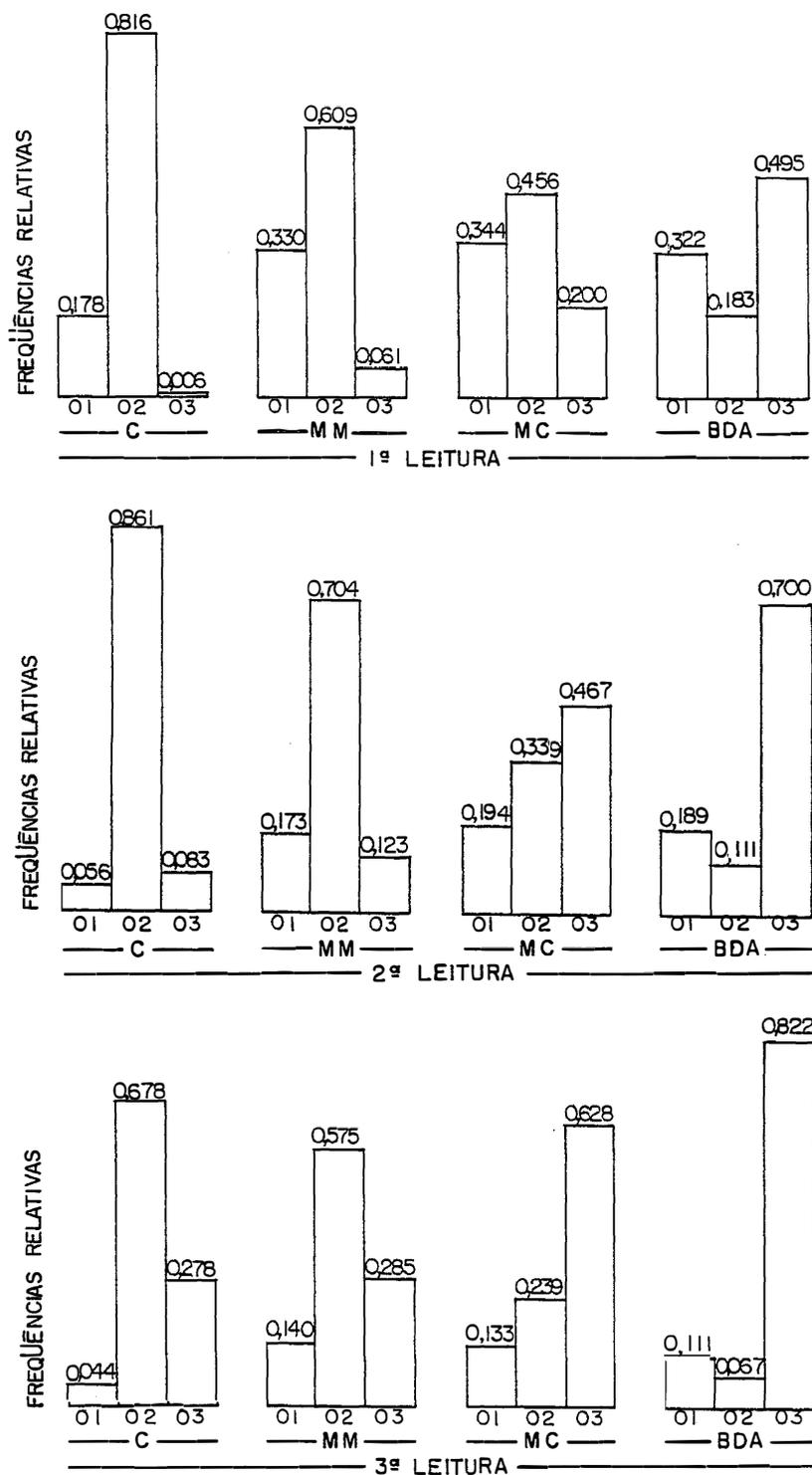


FIGURA 4. Histogramas das Frequências dos Tipos de Bordas das Zonas de Crescimento das Colônias de *C. sativus* (nas 3 Leituras dos 4 Meios de Cultura, com 3 Repetições). Os números de 01 a 03 nos eixos das abscissas indicam os tipos de bordas de crescimento; 01 = regular; 02 = irregular; 03 = ondulada.

relação ao crescimento em frequência da borda ondeada da 1.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura. Em BDA a borda ondeada mostra-se preponderante, tornando-se cada vez maior sua frequência em relação à 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras.

A Figura 3 do item anterior mostra bem a borda ondeada (isolado 02/81 em BDA) e a borda regular (isolado 33/84 em MC).

Com relação às bordas da zona de crescimento da colônia, os 4 isolados de *S. sativus* estudados por CHRISTENSEN (1922), também apresentaram variação de acordo com o meio de cultura:

- isolado de centeio: borda regular em BDA e em AV e muito irregular em AC;
- isolado de trigo: borda altamente irregular em BDA e regular em AV;
- isolado de cevada (1): borda regular em BDA e em AV e altamente irregular em AC;
- isolado de cevada (2): borda muito irregular em BDA e irregular tanto em AV como em AC.

O trabalho do autor acima citado relata a ocorrência de bordas regulares e irregulares, mas não as ondeadas também observadas no presente estudo. Já MITRA (1930) cita serem as bordas dos isolados de trigo e de cevada do tipo ondeadas (ou lobuladas) no meio de ágar suco de ameixa seca, mas não nos outros três meios testados onde se refere apenas a bordas não lobuladas mas não as classificando em regulares ou irregulares.

Apesar da dificuldade em comparar os dois trabalhos acima citados com o presente estudo, verifica-se a ocorrência dos três tipos de bordas e a variação apresentada pelo mesmo isolado quando cultivado em diferentes meios de cultura, assim como a semelhança de isolados diferentes em um mesmo meio de cultura. Novamente aqui se verifica a variabilidade de *C. sativus*, tanto devido a fatores inerentes ao próprio isolado como a fatores ambientais.

#### 4.1.3 - Topografia e Textura do Micélio Aéreo da Colônia de *Cochliobolus sativus*

As colônias derivadas dos isolados de *C. sativus* brasileiros, cultivadas nos 4 meios de cultura, não apresentaram durante as 3 leituras os 13 tipos de topografia e textura descritos por BETTUCCI & GUERRERO (1971).

Foram observados apenas 7 tipos de texturas de capa miceliana apresentadas na Tabela 7, que possuem topografia desde baixa, como a dos tipos sedoso e aveludado, até alta, como os tipos algodonoso e flocoso, passando pelos intermediários, como afeltrado, afelpado e acamurçado. Foram preponderantes para os 4 meios de cultura o tipo algodonoso (total de 81,67% para MC, 80,19% para C, 79,44% para BDA e 79,22% para MM) e o acamurçado (54,92% para MM, 54,81% para BDA, 47,78% para C e 40,37% para MC).

Nos meios C e MM as colônias apresentaram também com razoável frequência o tipo afelpado, 31,30% e 22,45%,

TABELA 7. Frequências dos Tipos de Texturas do Micélio Aéreo das Colônias de *C. sativus* (nas 3 Leituras dos 4 Meios de Cultura, com 3 Repetições).

Tipos de textura de Capa Miceliana	Leitura	Meios de Cultura													
		C			MM			MC			BDA			Total	
		Frequência absoluta	Frequência relativa												
Acamurçado tipo 01	1ª	55	0,3056	53	0,2961	49	0,2722	99	0,5500	256	0,3561	99	0,5500	256	0,3561
	2ª	99	0,5500	112	0,6257	75	0,4167	101	0,5611	387	0,5382	101	0,5611	387	0,5382
	3ª	104	0,5778	131	0,7318	94	0,5222	96	0,5333	425	0,5911	96	0,5333	425	0,5911
	Total	258	0,4778	296	0,5492	218	0,4037	296	0,5481	1068	0,4951	296	0,5481	1068	0,4951
Algodonoso tipo 02	1ª	133	0,7389	143	0,7889	113	0,6278	114	0,6333	503	0,6966	114	0,6333	503	0,6966
	2ª	149	0,8278	154	0,8603	165	0,9167	158	0,8778	626	0,8707	158	0,8778	626	0,8707
	3ª	151	0,8399	130	0,7263	163	0,9056	157	0,8722	601	0,8359	157	0,8722	601	0,8359
	Total	433	0,8019	427	0,7922	441	0,8167	429	0,7944	1730	0,8020	429	0,7944	1730	0,8020
Afeitado tipo 04	1ª	75	0,4167	36	0,2011	14	0,0778	04	0,0222	129	0,1794	04	0,0222	129	0,1794
	2ª	53	0,2944	43	0,2402	21	0,1167	05	0,0278	122	0,1697	05	0,0278	122	0,1697
	3ª	41	0,2278	42	0,2346	20	0,1111	04	0,0222	167	0,2323	04	0,0222	167	0,2323
	Total	169	0,3130	121	0,2245	55	0,1019	13	0,0241	358	0,1660	13	0,0241	358	0,1660
Afeitado tipo 06	1ª	29	0,1611	60	0,3352	48	0,2667	28	0,1556	165	0,2295	28	0,1556	165	0,2295
	2ª	31	0,1722	26	0,1453	52	0,2939	16	0,0889	125	0,1739	16	0,0889	125	0,1739
	3ª	16	0,0889	24	0,1341	31	0,1722	18	0,1000	89	0,1238	18	0,1000	89	0,1238
	Total	76	0,1407	110	0,2041	131	0,2426	62	0,1148	379	0,1757	62	0,1148	379	0,1757
Floccoso tipo 07	1ª	18	0,1000	20	0,1117	28	0,1556	05	0,0278	71	0,0987	05	0,0278	71	0,0987
	2ª	32	0,1778	39	0,2179	58	0,3222	19	0,1056	148	0,2058	19	0,1056	148	0,2058
	3ª	46	0,2556	29	0,1620	72	0,4000	24	0,1333	171	0,2378	24	0,1333	171	0,2378
	Total	96	0,1778	88	0,1633	158	0,2926	48	0,0889	390	0,1808	48	0,0889	390	0,1808
Sedoso tipo 10	1ª	47	0,2611	39	0,2179	06	0,0333	22	0,1222	114	0,1586	22	0,1222	114	0,1586
	2ª	10	0,0556	17	0,0950	07	0,0389	20	0,1111	54	0,0751	20	0,1111	54	0,0751
	3ª	10	0,0556	23	0,1285	11	0,0611	13	0,0722	57	0,0793	13	0,0722	57	0,0793
	Total	67	0,1241	63	0,1169	24	0,0444	55	0,1019	225	0,1043	55	0,1019	225	0,1043
Aveludado tipo 12	1ª	05	0,0278	01	0,0056	03	0,0167	02	0,0111	11	0,0153	02	0,0111	11	0,0153
	2ª	05	0,0278	07	0,0391	06	0,0333	36	0,2000	54	0,0751	36	0,2000	54	0,0751
	3ª	02	0,0111	01	0,0056	11	0,0611	76	0,4222	90	0,1252	76	0,4222	90	0,1252
	Total	12	0,0222	09	0,0167	20	0,0370	114	0,2111	155	0,0719	114	0,2111	155	0,0719

respectivamente. Em MC o tipo flocoso ocorreu em 29,26% das colônias e em BDA o tipo aveludado em 21,11%.

Assim como as cores do micélio, as texturas da capa miceliana em *C. sativus* ocorrem em combinações de até 5 texturas em uma mesma colônia como mostra a Tabela 8 e a Figura 5. De modo geral, as colônias apresentam com mais frequência as combinações de 2 texturas (58,47% para MM, 54,63% para BDA, 52,04% para C e 41,30% para MC).

Ao se observar os histogramas da Figura 5 pode-se verificar que tanto em C como em MM a maior frequência relativa é de 2 texturas nas 3 leituras, sendo que há, também, um aumento das combinações de 1, 3 e 4 texturas da 1.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura. Em MM ocorre também a preponderância de combinações de 2 texturas nas 3 leituras, havendo na 2.<sup>a</sup> leitura um acréscimo relativo de combinações de 3 e na 3.<sup>a</sup> leitura o de 1 textura. Em MC, apesar da frequência maior de combinações de 2 texturas nas 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> leituras, na 3.<sup>a</sup> leitura prevalece a combinação de 3 texturas. Já em BDA a preponderância de 2 texturas ocorre nas 3 leituras, mas verifica-se também nas 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras um acréscimo de combinações de 3 e 4 texturas.

Os sete tipos de capas micelianas ocorrem sozinhos em algumas colônias. Ressalta-se principalmente o tipo algodonoso, na 1.<sup>a</sup> leitura (32,22%), 2.<sup>a</sup> leitura (27,78%) e 3.<sup>a</sup> leitura (23,89%) em MC; 20,56%, 20,00% e 17,22%, respectivamente, nas 1.<sup>a</sup>, 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras em BDA; sendo 19,44% na 2.<sup>a</sup> e 24,44% na 3.<sup>a</sup> leitura em C e 10,06% na 3.<sup>a</sup> leitura de MC.

TABELA 8. Frequências de Combinações de Textura do Micélio Aéreo das Colônias de *C. sativus* (nas 3 Leituras dos 4 Meios de Cultura, com 3 Repetições).

Número de combinações de Textura do Micélio Aéreo	Leitura	Meios de Cultura												Total
		C			MM			MC			BDA			
		Frequência absoluta	Frequência relativa											
01 texturas	1ª	31	0,1722	33	0,1844	62	0,3444	48	0,2667	174	0,2420			
	2ª	43	0,2389	24	0,1341	51	0,2833	45	0,2500	163	0,2267			
	3ª	50	0,2778	35	0,1955	48	0,2667	40	0,2222	173	0,2406			
	Total	124	0,2296	92	0,1713	161	0,2981	133	0,2463	510	0,2364			
02 texturas	1ª	117	0,6500	120	0,6704	99	0,5500	119	0,6611	455	0,6328			
	2ª	85	0,4722	100	0,5587	68	0,3778	98	0,5444	351	0,4882			
	3ª	79	0,4389	94	0,5251	56	0,3111	78	0,4333	307	0,4270			
	Total	281	0,5204	314	0,5847	223	0,4130	295	0,5463	1113	0,5160			
03 texturas	1ª	30	0,1667	25	0,1397	19	0,1056	13	0,0722	87	0,1210			
	2ª	41	0,2278	46	0,2570	47	0,2611	33	0,1833	167	0,2323			
	3ª	44	0,2444	43	0,2402	64	0,3556	56	0,3111	207	0,2879			
	Total	115	0,2130	114	0,2123	130	0,2407	102	0,1889	461	0,2137			
04 texturas	1ª	02	0,0111	01	0,0056	00	0,0000	00	0,0000	03	0,0042			
	2ª	10	0,0556	09	0,0503	14	0,0778	04	0,0222	37	0,0515			
	3ª	07	0,0389	07	0,0391	10	0,0556	06	0,0333	30	0,0417			
	Total	19	0,0352	17	0,0317	24	0,0444	10	0,0185	70	0,0325			
05 texturas	1ª	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000			
	2ª	01	0,0056	00	0,0000	00	0,0000	00	0,0000	01	0,0014			
	3ª	00	0,0000	00	0,0000	02	0,0111	00	0,0000	02	0,0028			
	Total	01	0,0019	00	0,0000	02	0,0037	00	0,0000	03	0,0014			

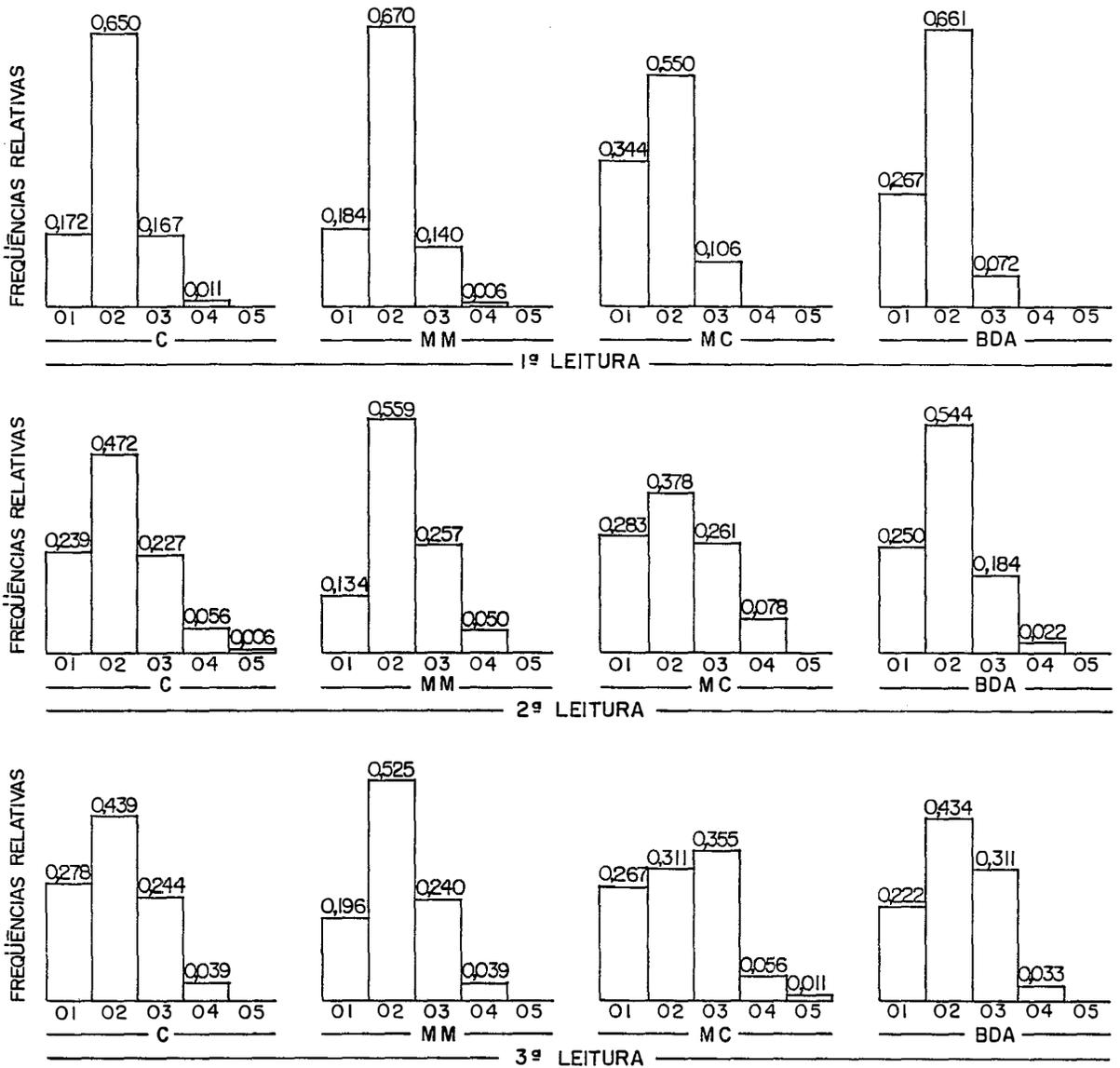


FIGURA 5. Histogramas das Frequências de Combinações de Texturas do Micélio Aéreo das Colônias de *C. sativus* (nas 3 Leituras dos 4 Meios, com 3 Repetições). Os números de 01 a 05 no eixo das abcissas indicam o número de texturas por colônia.

Ocorrem 20 combinações de 2 texturas de micélio das quais sobressaem-se algodonoso e acamuçado em todas as leituras de todos os 4 meios de cultura, com uma frequência mínima de 12,78% na 2.<sup>a</sup> leitura em MC e máxima de 47,22% na 1.<sup>a</sup> leitura em BDA.

Outras combinações com uma frequência um pouco menor são: algodonoso e afelpado nas 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> leituras de C (21,67% e 10,56%, respectivamente) e na 1.<sup>a</sup> leitura de MM (10,06%); algodonoso e afeltrado na 1.<sup>a</sup> leitura de MM (21,79%) e na de MC (20,00%); algodonoso e flocoso na 2.<sup>a</sup> leitura de MC (10,56%); algodonoso e sedoso na 1.<sup>a</sup> leitura de MM (10,61%); algodonoso e aveludado na 3.<sup>a</sup> leitura de BDA (11,67%).

As combinações de 3 texturas são em número de 26, das quais ressaltam-se apenas acamuçado, algodonoso e afelpado na 3.<sup>a</sup> leitura de MM (10,61%) e acamuçado, algodonoso e flocoso na 3.<sup>a</sup> leitura de MC (14,44%). Ocorrem ainda 12 combinações de 4 texturas e 2 combinações de 5 texturas, as quais no entanto não ultrapassam a frequência de 5%. (As frequências dos tipos de combinações de texturas nos 4 meios e 3 leituras são apresentadas no Apêndice 3).

CHRISTENSEN, em seu trabalho de 1922, observou que o isolado de centeio formava uma colônia com micélio finamente pontilhado em BDA; o de trigo com muito pouco micélio aéreo em BDA e com colônia densa com pouco micélio aéreo em AC; o de cevada (1) grosseiramente pontilhado em BDA, com tufos em AV e consideravelmente salpicado em AC; o de cevada (2) com considerável micélio aéreo em AC.

Devido à terminologia utilizada pelo autor acima citado, torna-se difícil a comparação com o presente trabalho, mas pode-se tentar analogias que os aproximem mais, como por exemplo:

- micélio finamente pontilhado = farináceo (tipo 05), não apresentado pelos isolados do presente trabalho;
- muito pouco micélio aéreo = a um dos tipos de micélio de topografia baixa com sedoso (tipo 10), subafeltrado (tipo 11), avelulado (tipo 12) ou afelpado (tipo 04);
- colônia densa com pouco micélio aéreo = acamurçado (tipo 01);
- grosseiramente pontilhado = crostoso (tipo 03), que não ocorreu na presente amostra;
- micélio salpicado = flocoso (tipo 10);
- micélio aéreo considerável = a micélio algodinoso (tipo 02) bem fechado..

Em seu trabalho com isolados de *C. sativus* de várias origens, DRECHSLER (1923) cita que em BDA, que contém abundância de alimento orgânico, o crescimento aéreo do micélio é representado geralmente por uma camada compacta aveludada. Já se for utilizado menos ágar, ficando um excesso de água livre, é formado um micélio aéreo fofo, que nesse caso poderia ser comparado com os tipos flocoso (07) ou plumoso (09), sendo que este último tipo não ocorreu nos isolados do presente estudo. O autor cita ainda que em meios com pequenas quantidades de alimento orgânico o crescimento sobre o substrato é relativamente esparsa, algo semelhante por

exemplo ao tipo subafeltrado (11).

Já em 1925, CHRISTENSEN ao estudar em detalhes 37 isolados de *C. sativum* cita apenas que estes podem ser diferenciados pela quantidade relativa de micélio aéreo e submerso e pela natureza do crescimento micelial.

MITRA (1930) observa que meios ricos propiciam desenvolvimento de micélio aéreo mais profuso do que os meios mais pobres e que redução progressiva do micélio aéreo é verificada em sucessivas diluições do meio. Também que o micélio aéreo torna-se menor quanto mais rasa for a camada de meio utilizada. Verificou também que o isolado de trigo mostrou maior desenvolvimento micelial do que o de cevada, porém não classifica o tipo de micélio.

Em 1964, WILSON & MURPHY descrevem o micélio aéreo dos 5 isolados de aveia e do de cevada incubados em BDA como:

- aveia (1): flocoso, com micélio aéreo grosseiramente fibroso na superfície, tornando-se com a idade muito entrelaçado e afeltrado;
- aveia (2): micélio aéreo grosseiro e fibroso desenvolvendo-se em afeltrado;
- aveia (3): algodinoso com hifas enoveladas;
- aveia (4): micélio geralmente submerso, caracterizado por uma aparência pulverulenta com o tempo;
- aveia (5): micélio emaranhado, ondulado e amassado com hifas muito entrelaçadas;
- cevada: emaranhado e flocoso, a margem prostada torna-se

com o tempo lanosa como toda a colônia.

Observa-se nos trabalhos citados, assim como no presente estudo, a ocorrência de vários tipos de micélio em isolados diferentes, assim como a mudança de tipo de micélio de acordo com o tempo e o fato de um mesmo isolado apresentar tipos de micélios diferentes de acordo com o meio onde é cultivado. Novamente evidencia-se nessa característica a variabilidade encontrada entre isolados como dentro dos isolados, devido a fatores tanto inerentes dos isolados como ambientais.

#### 4.1.4 - Presença de Setores na Colônia de *Cochliobolus sativus*

Os setores ocorridos nas colônias de *C. sativus* apresentaram-se de várias maneiras, que vamos descrever abaixo de maneira geral, pois não foi objetivo deste trabalho a descrição pormenorizada dos mesmos, mas sim a ocorrência em número. Foram observados setores:

- com cor, textura, zonação e borda desde semelhantes a totalmente diferentes da colônia original;
- ocupando desde uma pequena porção até em torno de 50% da superfície da colônia de origem;
- ocorrendo de 1 até 6 por colônia, idênticos ou diferentes tanto da colônia de origem como entre si;
- ocorrendo em apenas uma das repetições ou em 2 ou nos 3 blocos do experimento;

- aparecendo na 1.<sup>a</sup>, 2.<sup>a</sup> ou 3.<sup>a</sup> leitura ou em todas.

Dos 60 isolados estudados, 32 apresentaram setores em BDA (53,33%), 23 em MC (38,33%), 21 em C (35,00%) e 18 em MM (30,00%). Desses isolados com setores, 11 apresentaram setores nos 4 meios de cultura; 4 apresentaram setores em 3 meios de cultura, 12 apresentaram setores em 2 meios e 14 em apenas 1 dos meios de cultura, o que na verdade mostra que em apenas 41 (68,33%) dos isolados ocorreram setores.

A Figura 6 apresenta um quadro com a ocorrência de setores nas colônias de *C. sativus* observadas no experimento fatorial. Observa-se uma grande variabilidade tanto na ocorrência dos setores por repetições - uma mesma colônia nem sempre apresentou setores nas 3 repetições - por leitura e evidentemente por meio de cultura.

É interessante notar que parece haver um aumento do número de setores com o aumento da idade da colônia, assim como é mais freqüente o aparecimento de setores a partir da 2.<sup>a</sup> leitura (4 dias de cultivo).

Salientam-se os isolados 51/82 e 31/83 na 2.<sup>a</sup> repetição em BDA, que apresentaram setores (1 e 5, respectivamente) na 2.<sup>a</sup> leitura, os quais parecem ter sido "absorvidos" pela colônia até a 3.<sup>a</sup> leitura.

A Figura 7 mostra fotos das colônias dos isolados 1007 e 1008 com ocorrência de setores. O isolado 1007 apresentou um setor mais escuro e de menor crescimento em BDA; um setor claro e de maior crescimento em MC; em C uma setoração irregular e em MM três setores acinzentados, sendo

ISOLADOS	REPETIÇÃO	MEIOS DE CULTURA																							
		BDA						MC						C						MM					
		Leitura		Leitura		Leitura		Leitura		Leitura		Leitura		Leitura		Leitura		Leitura		Leitura		Leitura			
1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª		
52/80	2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
28/81	1 2 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
51/82	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
98/82	1 2 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
109/82	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
57/83	1 2 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
77/83	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
79/83	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
33/84	1 2 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
1007	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1008	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1001	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14 OPR	1 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13/81	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
89/82	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
27/81	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
70/83	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
23 OPR	1 2 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = presença de setor, cada + indica 1 setor  
 - = ausência de setor

FIGURA 6. Quadro de Ocorrência e Número de Setores Observados nas Colônias de *C. sativus* por Isolado, Meio de Cultura, Leitura e Repetição.

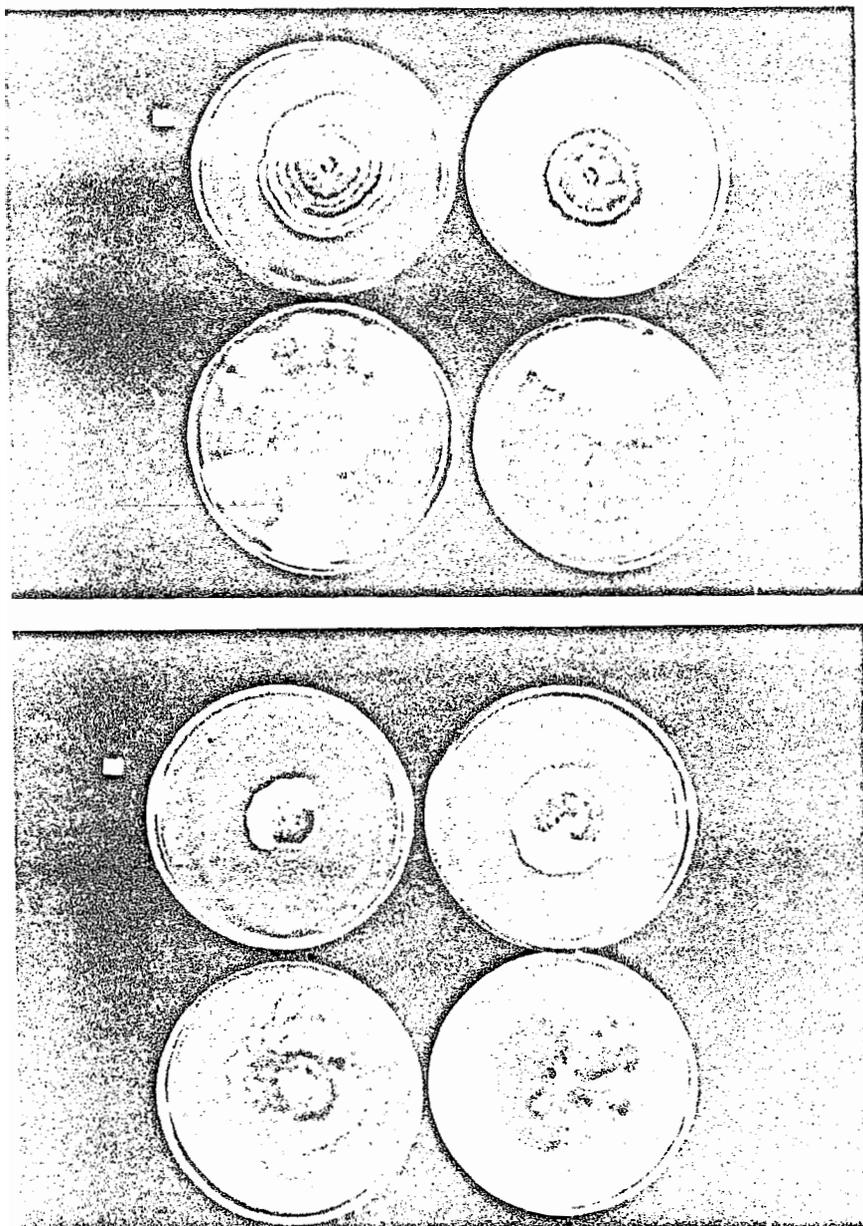


FIGURA 7. Fotos de Colônias de *C. sativus* com Ocorrência de Setores: foto superior isolado 1008 e inferior isolado 1007, ambos nos 4 meios de cultura. A marca branca indica BDA, à sua direita MC, abaixo à esquerda C e à direita MM.

dois de maior crescimento que a colônia de origem. O isolado 1008 não apresentou setor em MC; em BDA ocorreu setor mais claro e menor; em C sete setores mais claros e de mesmo crescimento que a colônia original e em MM um setor mais claro e de maior crescimento.

A ocorrência de cones de cores variadas, citados por CHRISTENSEN em 1922, lembra os setores apresentados nas colônias de *C. sativus*. Em 1925, esse mesmo autor ressalta mas não detalha os setores em forma de cunha ou leque que chama de mutações assexuais. Observou também que alguns desses setores se mantêm quando subcultivados e que outros re-vertem à forma parental; que alguns isolados formam mais setores que outros e que os setores diferem da forma parental não somente em características morfológicas mas também em patogenicidade. Utilizando 3 repetições de cada um dos 37 isolados estudados verificou que 18 formaram setores em BDA e 27 em ágar farinha de aveia, arroz e farinha de milho. No total 30 (81,08%) dos isolados desenvolveram setor em um ou outro meio e 7 (18,92%) não desenvolveram setor em nenhum meio. Dos isolados que formaram setores, 12 o fizeram em AAAM mas não em BDA. O autor ressalta ainda a diferença em número de setores relacionados ao meio de cultura, exemplificando com 3 isolados, que em suas 3 repetições formaram 36, 15 e 8 setores em AAAM e 0, 5 e 1 em BDA, respectivamente.

Ao se comparar os dados do trabalho acima citado com os do presente estudo, verifica-se que apesar dos isolados utilizados por CHRISTENSEN (1925) serem monoconi-

diais e os aqui utilizados serem policonidiais, o presente trabalho apresentou uma frequência bem menor de isolados que formaram setores (68,33%). O mesmo ocorre em relação ao número de setores por isolados, onde considerando as 3 repetições de cada isolado, no presente estudo temos um máximo de 7 setores em C, 5 em BDA, 4 em MC e 3 em MM.

CHRISTENSEN, em 1929, realizou experimentos relacionando a ocorrência de setores com temperatura. Utilizou 6 dos 37 isolados do trabalho anterior e após um ano repetiu o experimento com 4 desses isolados, sempre com 3 repetições. Verificou que a 3, 9, 12 e 15°C nenhum dos isolados formou setores, assim como a 35°C. No total das 3 placas repetidas de cada isolado, observou que:

- a 17°C o isolado 1 formou 1 setor, o 10 formou 3 e o 22 formou 2 setores;
- a 20°C apenas o isolado 10 formou 1 setor;
- a 22°C os isolados 1, 9, 10 e 22 formaram 3, 2, 13 e 7 setores, respectivamente;
- a 25°C foram formados 19, 35, 16, 21 e 13 setores pelos isolados 1, 9, 10, 22 e 35;
- a 27°C o isolado 12 formou 2 setores e o 35 originou 4 setores; já os isolados 1, 9, 10 e 22 deram origem a 8, 49, 10 e 9 setores em um ano e no ano seguinte a 26, 43, 28 e 33 setores, respectivamente;
- a 30°C apenas o isolado 12 formou 21 setores e
- a 32°C o isolado 10 formou 4 setores enquanto que o isolado 9 formou 12 setores, sendo que 9 desses ocorreram em apenas

uma colônia.

No presente trabalho foi utilizada a temperatura de incubação de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , temperatura esta que segundo o trabalho de CHRISTENSEN (1929) está entre as duas temperaturas que propiciam maior aparecimento de setores:  $25$  e  $27^\circ\text{C}$ . No entanto, enquanto que  $83,33\%$  e  $100,00\%$  dos isolados desse autor formaram setores a  $25$  e a  $27^\circ\text{C}$ , respectivamente, no presente estudo a ocorrência de setores variou de  $30,00\%$  a  $53,33\%$ , conforme o meio de cultura utilizado. Verifica-se, no entanto, que a maior frequência de setores ocorreu nas colônias cultivadas em BDA, meio este que também foi utilizado por CHRISTENSEN (1929) acrescido de ágar farinha de milho. Pondera-se se a maior frequência de setores encontrada por esse pesquisador se deve à adição de ágar farinha de milho ao BDA ou a características próprias dos isolados por ele utilizados.

MITRA (1931) observou, como no presente trabalho, a natureza muitas vezes totalmente diversa em características morfológicas dos setores em relação à colônia original. Confirma em parte os dados de CHRISTENSEN (1929) a respeito da temperatura relacionada com o surgimento de setores, colocando no entanto como temperatura de ocorrência máxima de setores a de  $30^\circ\text{C}$ .

Em 1933, PAXTON publica trabalho sobre uma das prováveis etiologias da ocorrência de setores em colônias de *C. sativus*, que foi a ausência de nitrogênio do ágar de Czapek. Cerca de  $6,82\%$  das colônias policonidiais e  $8,74\%$  das monoonidiais formavam setores em ágar de Czapek, já nesse

água sem nitrogênio, 100,00% das colônias tanto poli como monoconidiais formaram setores. Observando as colônias controle utilizadas neste trabalho, vemos que a frequência de formação de setores fica aquém da observada para o meio C no presente estudo que foi de 35,00%.

O trabalho de CHRISTENSEN & DAVIES (1937) apesar de não citar dados numéricos afirma que frequentemente ocorrem setores em *H. sativum*. MISRA & SINHA (1965) verificaram que a temperatura ideal para produção de setores está entre 25 e 30°C; que o meio de cultura que propicia maior frequência de setores é o BDA, assim como a omissão de nitrogênio do ágar de Czapek aumenta o número de setores. Resaltam também a diferença morfológica entre o setor e a colônia original. Esses trabalhos, apesar de confirmarem uma série de outros citados anteriormente, assim como o presente estudo, não citam dados numéricos para uma melhor comparação.

#### 4.1.5 - Ocorrência e Tipo de Zonação na Colônia de *Cochliobolus sativus*

As colônias derivadas dos isolados brasileiros de *C. sativus* apresentaram os quatro tipos de zonação: radial (tipo 01), concêntrica (tipo 02), radial e concêntrica (tipo 03) e assimétrica (tipo 04). Dentro do tipo assimétrico estão computadas as poucas colônias que não apresentaram zonação de qualquer espécie.

A Tabela 9 apresenta os tipos de zonação ob-

TABELA 9. Frequências dos Tipos de Zonação Ocorrentes nas Colônias de *C. sativus* (nas 3 Leituras dos 4 Meios de Cultura, com 3 Repetições).

Tipo de Zonação na Colônia	Meios de Cultura														
	Leitura	C			MM			MC			BDA			Total	
		Frequência absoluta	Frequência relativa												
Zonação Radial tipo 01	1ª	117	0,6500	125	0,6983	53	0,2944	131	0,7278	426	0,5925				
	2ª	12	0,0667	08	0,0447	06	0,0333	06	0,0333	32	0,0445				
	3ª	01	0,0056	01	0,0056	01	0,0056	02	0,0111	05	0,0070				
	Total	130	0,2407	134	0,2495	60	0,1111	139	0,2574	463	0,2146				
Zonação concêntrica tipo 02	1ª	05	0,0278	01	0,0056	01	0,0056	02	0,0111	09	0,0125				
	2ª	11	0,0611	04	0,0223	02	0,0111	03	0,0167	20	0,0278				
	3ª	20	0,1111	01	0,0056	02	0,0111	01	0,0056	24	0,0334				
	Total	36	0,0667	06	0,0112	05	0,0093	06	0,0111	53	0,0246				
Zonação Radial e concêntrica tipo 03	1ª	52	0,2889	48	0,2682	124	0,6889	45	0,2500	269	0,3741				
	2ª	153	0,8500	162	0,9050	168	0,9333	165	0,9167	648	0,9013				
	3ª	150	0,8333	176	0,9832	173	0,9611	174	0,9667	673	0,9360				
	Total	355	0,6574	386	0,7188	465	0,8611	384	0,7111	1590	0,7371				
Zonação Assimétrica tipo 04	1ª	06	0,0333	05	0,0279	02	0,0111	02	0,0111	15	0,0209				
	2ª	04	0,0222	05	0,0279	04	0,0222	06	0,0333	19	0,0264				
	3ª	09	0,0500	01	0,0056	04	0,0222	03	0,0167	17	0,0236				
	Total	19	0,0352	11	0,0205	10	0,0185	11	0,0204	51	0,0236				

servados nas 3 leituras das colônias cultivadas nos 4 meios. No total das 3 leituras, ocorre com maior frequência, em todos os meios, a zonação radial e concêntrica: 86,11% em MC; 71,88% em MM, 71,11% em BDA e 65,47% em C.

A Figura 8 apresenta os histogramas das frequências dos tipos de zonação e ressalta a prevalência da zonação radial e concêntrica, principalmente nas 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras. Na 1.<sup>a</sup> leitura verifica-se, no entanto, que a zonação radial é mais frequente que a radial e concêntrica em C, MM e BDA, sendo que em MC a zonação radial e concêntrica já é preponderante na 1.<sup>a</sup> leitura.

A Figura 9 mostra fotos de colônias com os tipos de zonação encontrados.

CHRISTENSEN, em seu trabalho de 1922, apesar de utilizar uma terminologia diferente da do presente estudo, ressalta a zonação ocorrente nos isolados estudados:

- isolado de centeio: zonação pronunciada em BDA e poucas zonas largas em AV;
- isolado de trigo: zonação muito marcada em BDA;
- isolado de cevada (1): zonação marcada em BDA e menos marcada em AV;
- isolado de cevada (2): sem zonação em BDA e zonação pouco marcada em AV.

Em 1925, CHRISTENSEN apenas cita que os 37 isolados estudados podem ser diferenciados pela zonação e frequência e distância das zonas.

A zonação ocorrente na colônia, que MITRA

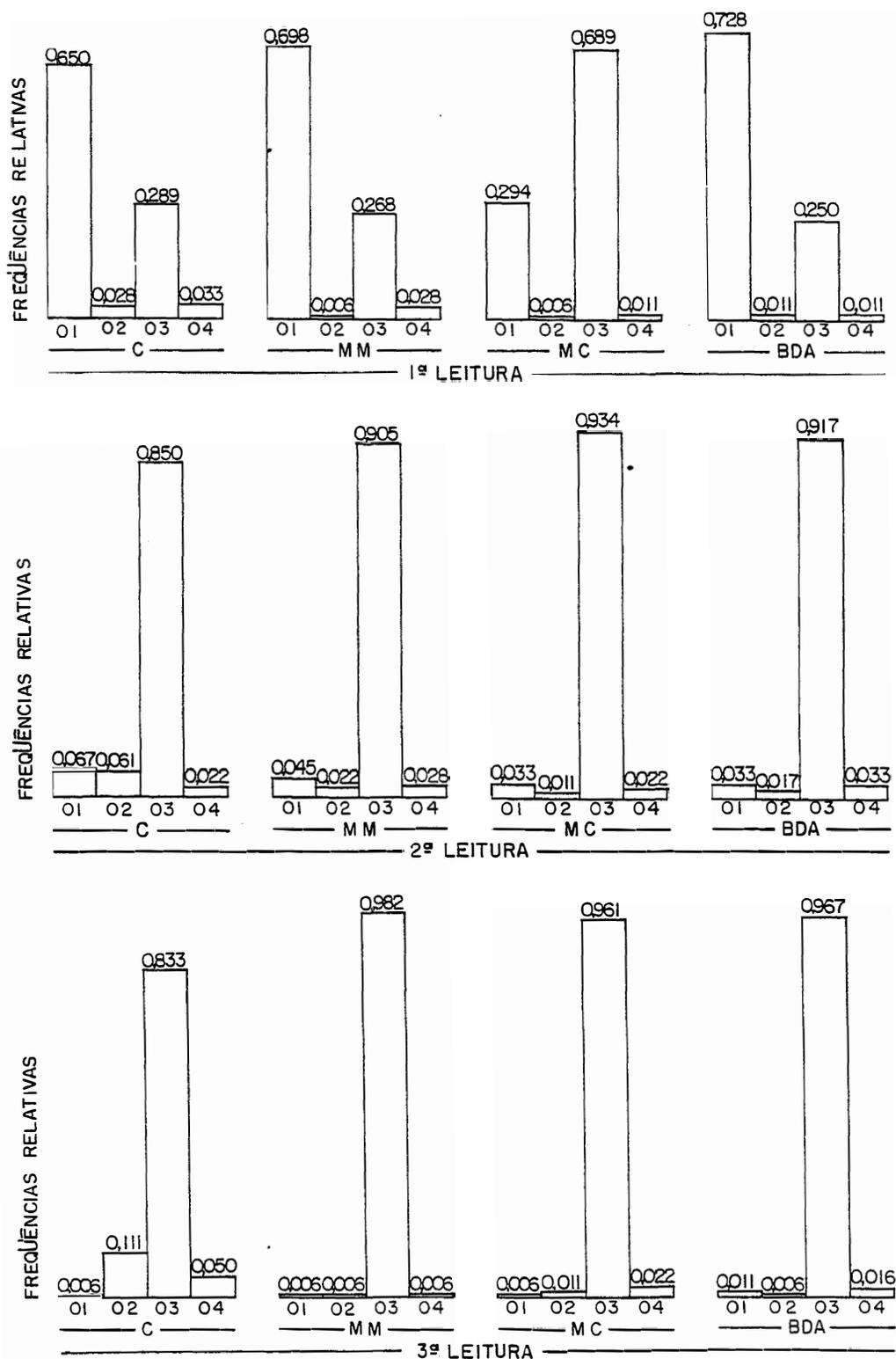


FIGURA 8. Histograma das Freqüências dos Tipos de Zonação Ocorrentes nas Colônias de *C. sativus* (nas 3 Leituras dos 4 Meios de Cultura, com 3 Repetições). Os números de 01 a 04 nos eixos das abscissas indicam os tipos de zonação: 01 = radial, 02 = concêntrica, 03 = radial e concêntrica, 04 = assimétrica.

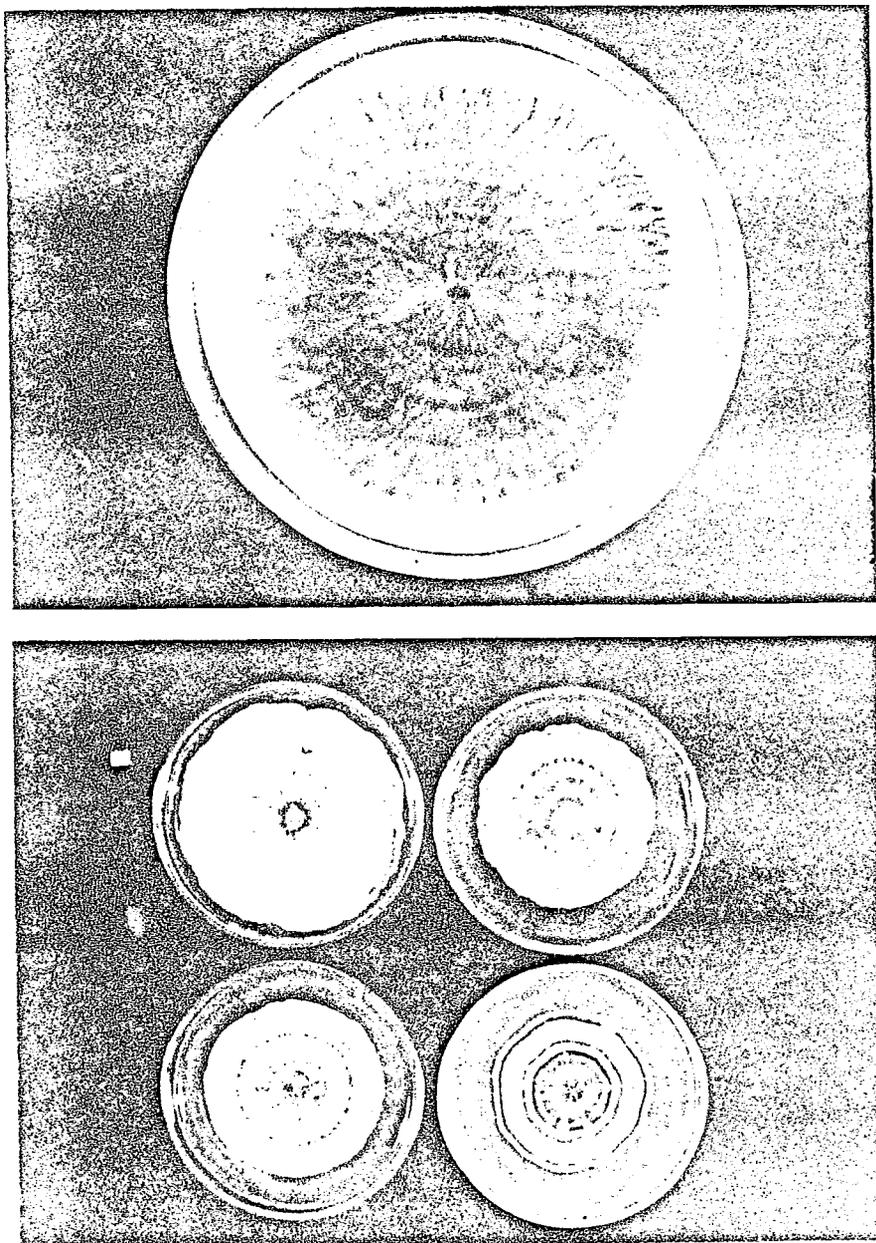


FIGURA 9. Fotos de Colônias de *C. sativus* com Tipos de Zonação. A foto superior é do isolado 86/82 em BDA apresentando zonação assimétrica. A foto inferior é dos isolados, a partir da marca: 23 OPR, à sua direita 79/83, embaixo à esquerda 1002 e à direita 1005, todos em BDA. 1005 apresenta zonação tipicamente concêntrica, 1002 e 79/83 zonação concêntrica e radial e 23 OPR zonação concêntrica e radial tendendo a assimétrica.

(1930) postula como devida à alternância de luz e escuridão, a qual cremos ser a zonação concêntrica, é descrita pelo autor como:

- isolado de trigo: zonação moderada em AB, fraca em ABA, ausente em AR e leve em ASAS;
- isolado de cevada: zonação fraca em AB, e em ASAS e ausente em ABA e em AR.

Esses dois trabalhos acima citados ficam difíceis de comparar com o presente estudo, a não ser para confirmar a presença de zonação nas colônias de *C. sativus*.

Em 1930, MITRA afirma que o fator determinante da zonação é a alternância de luz e escuridão e apresenta os dados de zonação dos isolados de trigo e cevada de acordo com o meio de cultura.

- isolado de trigo: zonação moderada em AB; pouca em ABA e ASAS e nenhuma em ágar de Richards;
- isolado de cevada: zonação leve em ASAS e nenhuma nos outros três meios.

Novamente nesse caso, o autor não define o que é zonação leve ou moderada. Supõe-se que ele esteja se referindo à zonação concêntrica que é a formada pelo crescimento sob fotoperíodo.

Já o trabalho de WILSON & MURPHY (1964) utiliza uma nomenclatura semelhante para a zonação dos isolados cultivados em BDA;

- isolado aveia (1): zonação concêntrica pronunciada;
- isolado aveia (2): zonação concêntrica.

Apesar disso fica difícil uma melhor avaliação, pois os autores não descrevem o tipo de zonação dos outros 3 isolados de aveia e do de cevada por eles estudados.

O fato de no presente trabalho a zonação concêntrica e radial apresentar-se mais freqüente nas 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leitura relaciona-se com o fotoperíodo. Na 1.<sup>a</sup> leitura, a colônia sofreu apenas 2 fotoperíodos, enquanto que nas outras houve oportunidade de 4 a 6 fotoperíodos.

#### 4.1.6 - Diâmetro das Colônias de *Cochliobolus sativus*

Como os dados de crescimento dos isolados de *C. sativus*, aferidos através do diâmetro das colônias, são dados quantitativos, medidos em centímetros, foram realizadas a descrição dos dados e as análises das variâncias considerando como fatores os isolados e considerando os três fatores envolvidos: isolados, meios de cultura e níveis de leitura.

##### 4.1.6.1 - Distribuição de Frequência dos Diâmetros das Colônias

A Tabela 10 apresenta as distribuições das frequências absolutas dos diâmetros das colônias de *C. sativus*, cultivadas nos 4 meios de cultura e medidas aos 2, 4, e 6 dias de incubação (1.<sup>a</sup>, 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras, respectivamente).

Observa-se que aos 2 dias pós-inoculação os

TABELA 10. Distribuições das Freqüências Absolutas das Médias dos Diâmetros (em Centímetros) das Colônias de *C. sativus* (Cultivadas nos 4 Meios de Cultura, nos 3 Níveis de Leitura, nas 3 Repetições).

Classes das Médias dos Diâmetros		Freqüências Absolutas por Meios de Cultura											
		C			MM			MC			BDA		
		Leituras			Leituras			Leituras			Leituras		
Inferior (cm)	Superior (cm)	1º	2º	3º	1º	2º	3º	1º	2º	3º	1º	2º	3º
0,00	0,50				01	01	01						
0,50	1,00	01			01						04	02	
1,00	1,50	03			07			12			27	05	02
1,50	2,00	21			40	01		69	02		107	11	07
2,00	2,50	49	04	01	71	04	04	75	06	03	34	26	10
2,50	3,00	56	08	03	51	09	03	22	11	04	07	55	15
3,00	3,50	40	07	05	09	08	03	02	31	05	01	38	27
3,50	4,00	10	07	04		17	05		49	07		25	29
4,00	4,50		23	06		28	02		31	09		12	36
4,50	5,00		18	05		27	08		28	16		02	11
5,00	5,50		22	04		42	07		16	26		01	17
5,50	6,00		29	09		29	12		04	32		01	12
6,00	6,50		31	13		12	14		01	30		01	07
6,50	7,00		17	14		01	17		01	21		01	03
7,00	7,50		09	10		01	24			15		01	01
7,50	8,00		05	17			27			08			
8,00	8,50			21			27						
8,50	9,00			68			26						04

Cada leitura = 180 placas (60 isolados x 3 repetições).

isolados incubados em C apresentam 145 das 180 placas (80,56%) com colônias de diâmetro entre 2,00 e 3,50 cm. Já as inoculadas em MM e MC apresentam 162 e 166 placas com colônias entre 1,50 e 3,00 cm de diâmetro (90,00 e 92,2%, respectivamente). As colônias nesses dois meios de cultura diferenciam-se, no entanto, pelo fato de que em MM 122 das 162 placas possuem colônias com diâmetro entre 2,00 e 3,00 cm, enquanto que em MC 144 das 166 ficam entre 1,50 e 2,50 cm de diâmetro. Em BDA 168 das 180 placas (93,33%) contém colônias com 1,00 a 2,50 cm de diâmetro, sendo que dessas, 107 apresentam cerca de 1,50 a 2,00 cm de diâmetro.

Na 2.<sup>a</sup> leitura (4 dias de incubação) observa-se uma maior amplitude entre os diâmetros das colônias: 140 (77,78%) entre 4,00 e 7,00 cm para C, 155 (86,11%) entre 3,50 e 6,50 cm para MM, 167 (92,78%) entre 1,50 e 4,50 cm para BDA e 166 (92,22%) entre 2,50 e 5,50 cm para MC.

Na 3.<sup>a</sup> leitura verifica-se que os diâmetros das colônias variam de 6,00 a 9,00 cm para 143 placas (79,44%) em C, de 5,50 a 9,00 cm para 155 (86,11%) em MM, de 4,50 a 7,50 cm para 140 (77,78%) em MC e de 2,00 a 6,00 cm para 147 (81,67%) em BDA.

Os histogramas das frequências relativas dos diâmetros das colônias de *C. sativus* inoculadas nos 4 meios de cultura, nas 3 leituras, apresentados nas Figuras 10, 11, 12 e 13 ressaltam bem o crescimento em diâmetro das colônias observado da 1.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura em todos os meios de cultura, assim como o aumento da amplitude dos diâmetros verificada prin-

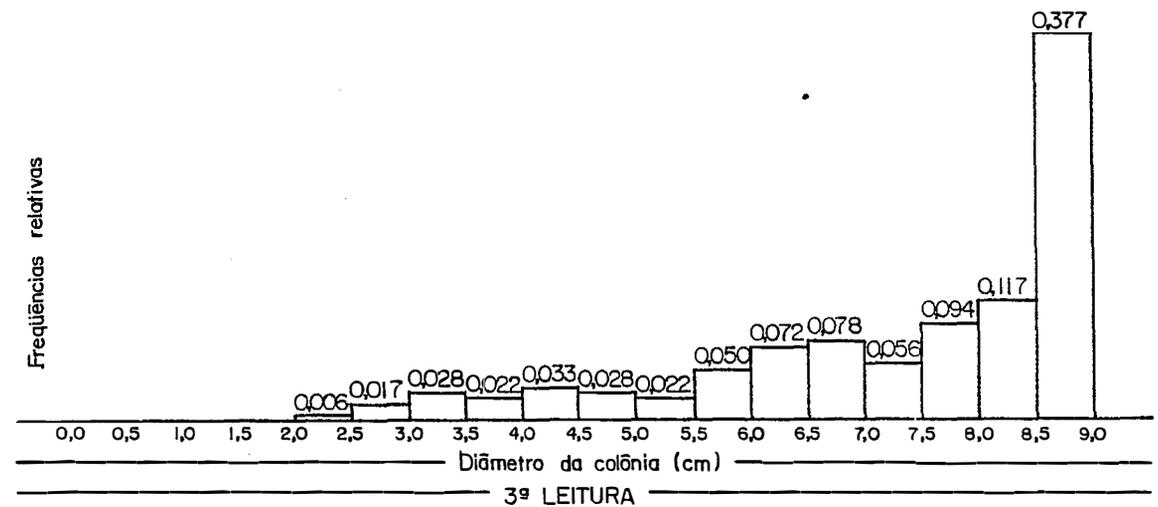
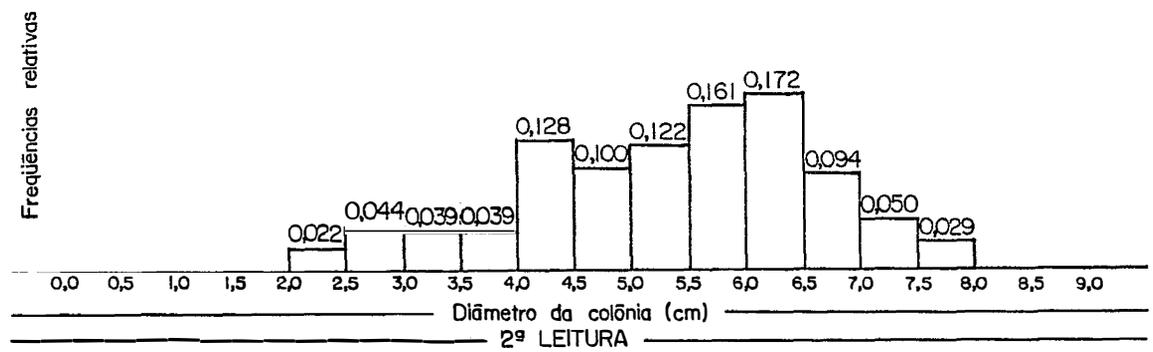
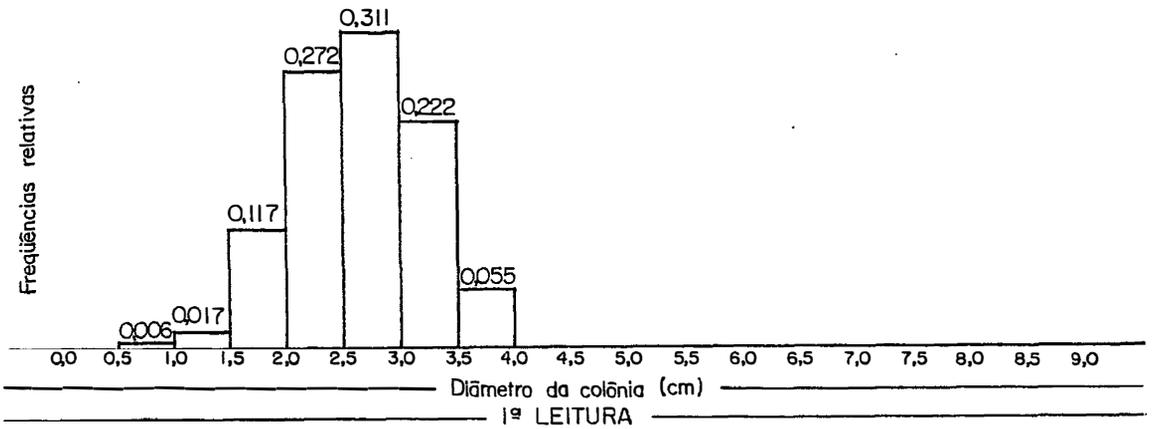


FIGURA 10. Histogramas das Frequências dos Diâmetros Médios das Colônias de *C. sativus* nas 3 Leituras do Meio de Cultura C (com 3 Repetições).

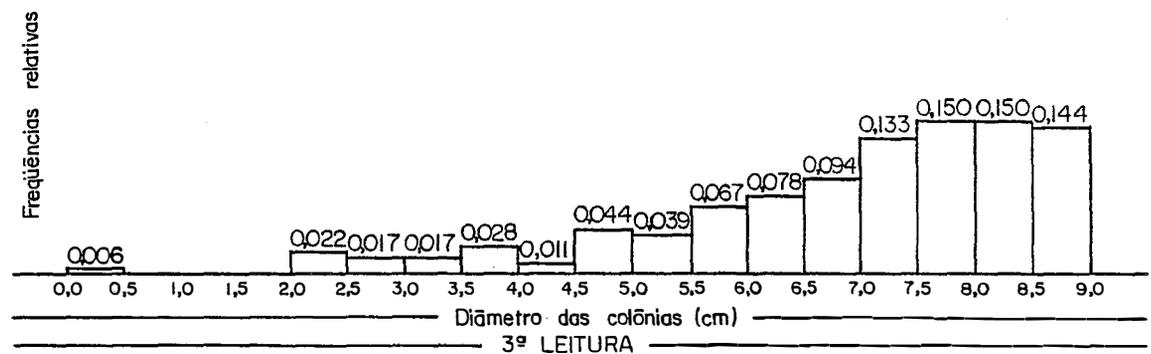
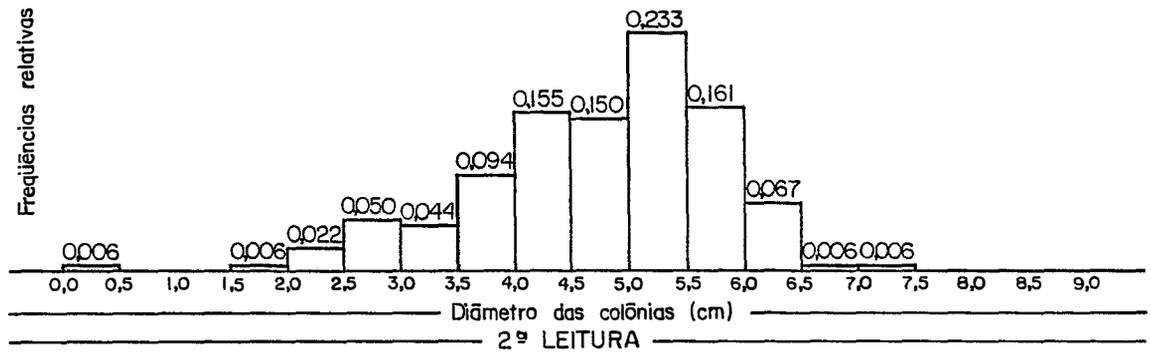
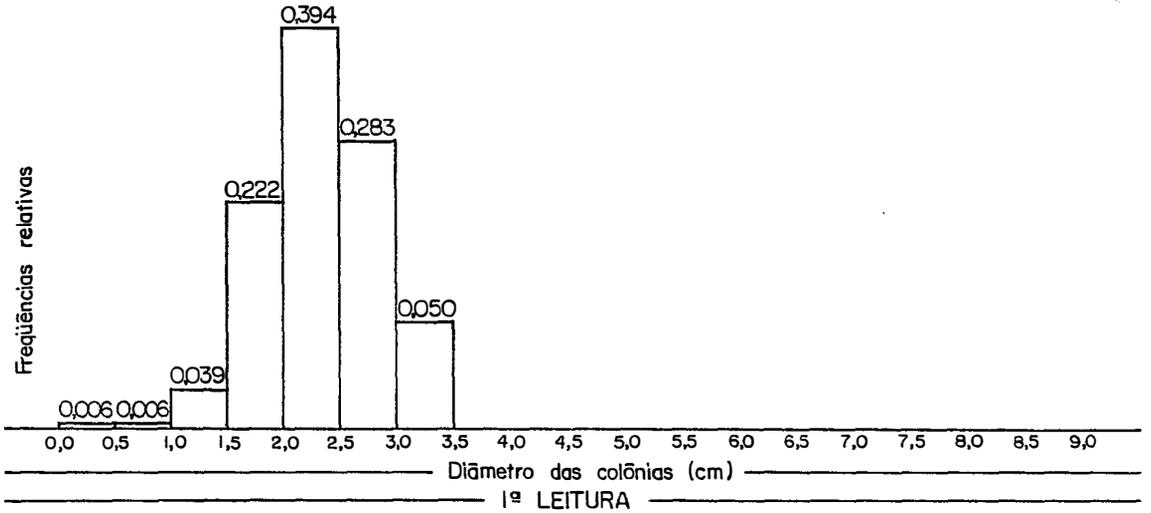


FIGURA 11. Histogramas das Frequências dos Diâmetros Médios das Colônias de *C. sativus* nas 3 Leituras do Meio de Cultura MM (com 3 Repetições).

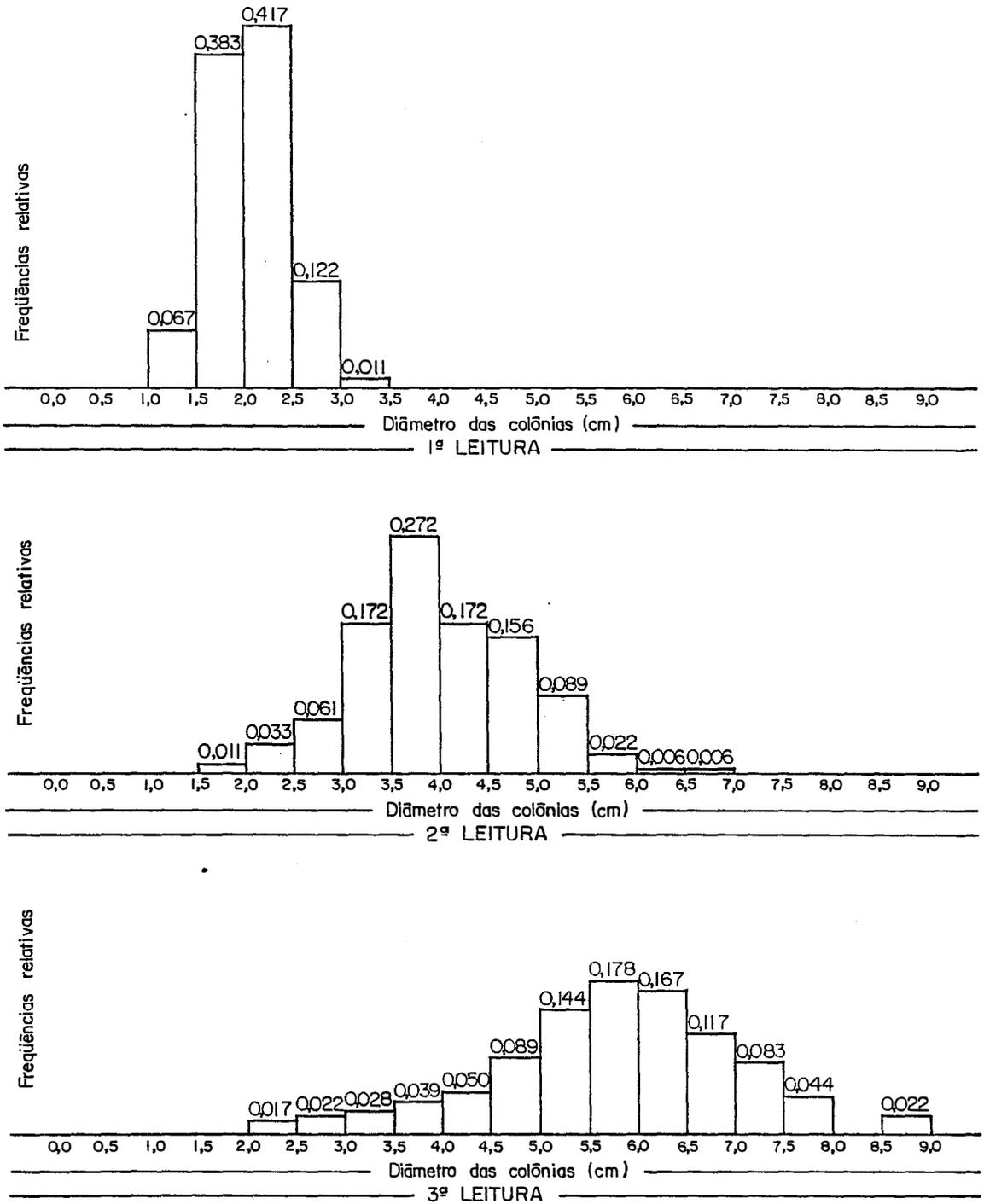


FIGURA 12. Histogramas das Frequências dos Diâmetros Médios das Colônias de *C. sativus* nas 3 Leituras do Meio de Cultura MC (com 3 Repetições).

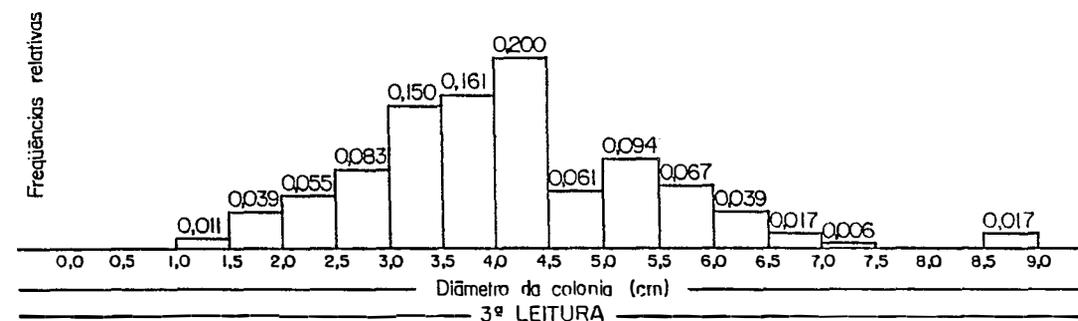
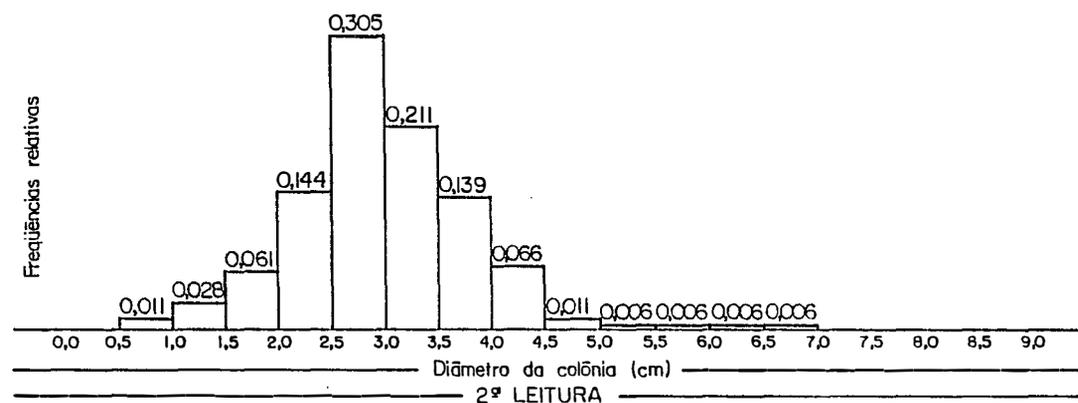
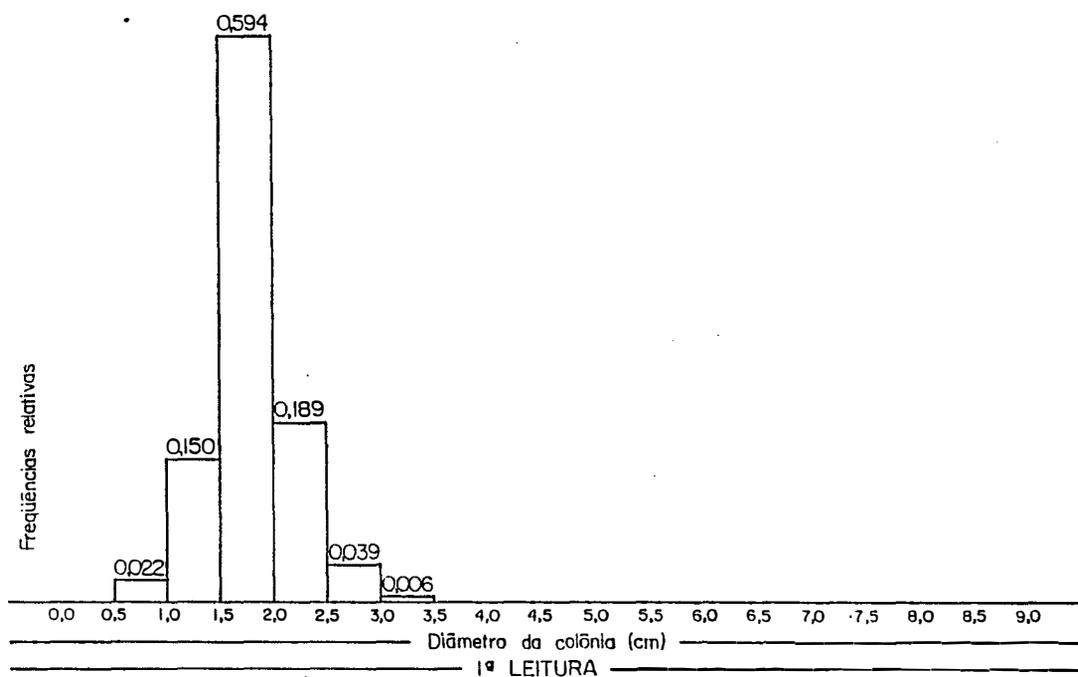


FIGURA 13. Histogramas das Frequências dos Diâmetros Médios das Colônias de *C. sativus* nas 3 Leituras do Meio de Cultura BDA (com 3 Repetições).

principalmente a partir da 2.<sup>a</sup> leitura dos 4 meios.

A Tabela 11 apresenta as estatísticas de diâmetros das colônias de *C. sativus* nos 4 meios de cultura, considerando-se as 3 repetições. Verifica-se que as estatísticas confirmam as observações relativas à distribuição das frequências absolutas da Tabela 10 e das frequências relativas apresentadas nos histogramas, tais como a amplitude crescente da amostra verificada da 1.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura, nas colônias cultivadas nos 4 meios. Observa-se também que apesar do maior valor mínimo de diâmetro da 1.<sup>a</sup> leitura ocorrer em MC (1,15 cm) e de em todos os 4 meios de cultura o valor máximo da 3.<sup>a</sup> leitura ser o mesmo (9 cm), as médias para as 3 leituras mostram um crescimento maior dos isolados no meio C, seguidos de MM, MC e BDA. As medianas para os diâmetros das colônias, nos 4 meios, têm valores que ficam na mesma classe da média ou em classe vizinha à mesma, mostrando a simetria das amostras.

As variâncias para as colônias nos 4 meios de cultura, apresentam-se crescentes da 1.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura, sendo os valores maiores de variância ocorrentes nas 3 leituras do meio C. Apesar das colônias em BDA apresentarem médias de diâmetro menor nas 3 leituras, apresentam maior variabilidade, como se pode observar pelos coeficientes de variação que são os mais elevados.

O valor mínimo de 0,00 cm de diâmetro nas 3 leituras de MM se deve ao isolado 1002 que não apresentou crescimento na 1.<sup>a</sup> repetição, tendo apresentado, no entanto,

TABELA 11. Estatísticas de Diâmetro das Colônias de *C. sativus* (nos 4 Meios de Cultura, nos 3 Níveis de Leitura, Considerando as 3 Repetições).

Meio de Cultura	Leitura	Estatísticas						
		Valor mínimo cm	Valor máximo cm	Média cm	Mediana cm	Variância cm <sup>2</sup>	Desvio Padrão cm	Coefficiente de variação %
C	1º	0,85	3,85	2,58	2,60	0,32	0,56	21,87
	2º	2,15	7,70	5,29	5,50	1,66	1,29	24,37
	3º	2,35	9,00	7,35	7,95	3,25	1,80	24,53
MM	1º	0,00	3,40	2,26	2,30	0,24	0,49	21,74
	2º	0,00	7,05	4,68	4,88	1,15	1,07	22,89
	3º	0,00	9,00	6,83	7,30	2,96	1,72	25,20
MC	1º	1,15	3,30	2,05	2,05	0,14	0,38	18,58
	2º	1,70	6,95	3,96	3,90	0,75	0,86	21,81
	3º	2,30	9,00	5,70	5,75	1,72	1,31	23,04
BDA	1º	0,70	3,20	1,77	1,75	0,16	0,40	22,45
	2º	0,85	6,80	2,96	2,90	0,73	0,85	28,92
	3º	1,15	9,00	4,08	3,98	1,85	1,36	33,33

\* 180 colônias/leitura

os valores de 2,35 cm, 3,9 cm e 5,25 cm de diâmetro na 2.<sup>a</sup> repetição e de 3,05 cm, 5,85 cm e 8,05 cm de diâmetro na 3.<sup>a</sup> repetição, respectivamente nas 1.<sup>a</sup>, 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras.

CHRISTENSEN (1922) também aferiu o diâmetro das colônias, mas de forma diferente da realizada nesse trabalho. Em primeiro lugar iniciou a medir as colônias somente a partir do 3º ou 4º dia de inoculação, além disso, apesar de citar serem as placas de Petri utilizadas de mesmo tamanho, não delimita o diâmetro das mesmas. O autor mediu o aumento em diâmetro em 24 horas e apresenta os dados como a média de aumento em diâmetro por dia sobre um período de 4 dias:

- isolado de centeio: 3,44 cm em BDA; 7,62 cm em AV e 2,27 cm em AC;
- isolado de trigo: 3,56 cm em BDA; 7,06 cm em AV e 1,44 cm em AC;
- isolado cevada (1): 4,31 cm em BDA; 6,40 cm em AV e 2,64 cm em AC;
- isolado cevada (2): 0,94 cm em BDA; 5,12 cm em AV e 2,25 cm em AC.

Considerando os dados do presente trabalho, somente podemos estimar, para tentar uma comparação com o trabalho de CHRISTENSEN (1922), a média de aumento em diâmetro sobre um período de 4 dias, ou seja, do 2º ao 6º dia pós-inoculação, de uma média amostral de 60 isolados e não de isolados individuais como é apresentada pelo referido autor. Assim teríamos no presente estudo o aumento em diâmetro sobre um período de 4 dias de 4,77 em C; 4,57 cm em MM; 3,65 cm

em MC e 2,31 cm em BDA. Mesmo assim fica difícil a comparação entre as duas amostras. A única conclusão a que se pode chegar é a de que os isolados de *C. sativus* apresentam, de modo geral, um diâmetro menor em BDA. Em 1925, CHRISTENSEN estuda 37 isolados de *C. sativus* dos quais apenas cita podem ser diferenciados pela taxa de crescimento radial.

MITRA (1930) ao estudar dois isolados de *C. sativus*, um de trigo e outro de cevada, apresenta dados de crescimento relacionados a uma série de fatores tais como quantidade de meio, temperatura e condições de luminosidade. Novamente em relação ao trabalho de MITRA, temos dificuldade de comparação por terem sido utilizados meios diferentes e temperaturas diferentes. Apresentar-se-ã no entanto alguns dados desse autor para, inclusive, ressaltar a variabilidade de *C. sativus* em relação às condições ambientais. O autor obteve resultados diferentes em termos de diâmetro da colônia, de acordo com a quantidade de meio de cultura utilizado. Assim em ágar de Brown, a 20°C, após 10 dias os isolados de trigo e cevada apresentaram os seguintes diâmetros: em 60 ml de meio - 8,85 cm e 8,23 cm; em 30 ml de meio - 6,03 cm e 6,50 cm; e em 15 ml de meio - 3,92 cm e 2,97 cm, respectivamente. O presente estudo foi realizado com 20 ml dos 4 meios de cultura e incubados a 26°C e medidas as colônias até o 6º dia de incubação. De modo grosseiro podemos dizer que os isolados brasileiros em média crescem mais em 6 dias nos meios C e MM do que os colocados por 10 dias em 30 ml de ágar de Brown, assim como em todos os meios quando comparados com os

colocados em 15 ml de ágar de Brown. Se analisarmos alguns isolados brasileiros em separado, podemos também ressaltar que alguns deles, nos 4 meios utilizados, também apresentam maior diâmetro do que os em ágar de Brown com 60 ml de meio, pois em todos os 4 meios de cultura utilizados no presente estudo ocorreram isolados que alcançaram 9,00 cm de diâmetro no 6º dia pós-inoculação.

MITRA (1930) também estudou esses dois isolados em 7 temperaturas diferentes, em placas com 50 ml de ágar de Brown. A 25°C, temperatura utilizada pelo autor e mais próxima da usada neste trabalho, seus resultados foram os seguintes: isolado de trigo - apresentou diâmetros de 2,5 cm, 4,5 cm e 6,4 cm e o de cevada de 2,5 cm, 3,7 cm e 6,5 cm aos 2, 4 e 6 dias de incubação, respectivamente. Novamente torna-se difícil a comparação devido a ter sido utilizado meio de cultura diferente e em maior quantidade. Podemos, no entanto, comparar, a grosso modo, os dados de 2 dias de incubação com o da 1.<sup>a</sup> leitura em C, os de 4 dias do isolado de trigo com o da 2.<sup>a</sup> leitura em MM e o de cevada com a 2.<sup>a</sup> leitura de MC, os de 6 dias com o da 3.<sup>a</sup> leitura em MM. Saliente-se que os isolados de trigo e cevada de MITRA foram colocados em 50 ml de meio, se estivessem em 20 ml provavelmente, de acordo com os dados anteriores teriam apresentado diâmetros bem menores.

Em 1964, WILSON & MURHPHY estudaram 6 isolados de *C. sativus* comparando-os com 4 isolados de *C. victoriae*. Descrevem o crescimento dos isolados de *C. sativus* como: iso-

lados aveia (1, 2) e cevada de crescimento rápido; isolado aveia (4) de crescimento vagaroso e isolado aveia (5) o mais lento de todos.

O presente estudo e os trabalhos aqui discutidos reforçam o conceito da grande variabilidade de *C. sativus*, tanto em relação a fatores ambientais como meio de cultura, temperatura, etc., como parte integrante do próprio fungo, onde basta verificar na Tabela 11 os valores máximos e mínimos de diâmetro de colônia alcançados pelos isolados brasileiros em suas 3 leituras, nos 4 meios de cultura.

#### 4.1.6.2 - Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias

A Figura 14 apresenta o quadro dos quadrados médios para o fator isolado em cada uma das 12 combinações, dos 4 meios de cultura nas 3 leituras, no delineamento inteiramente casualizado.

FIGURA 14. Quadro dos Quadrados Médios dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* para o Fator Isolados (QM Isolados).

Leituras	Meios de Cultura			
	C	MM	MC	BDA
1. <sup>a</sup>	0,56**	0,38**	0,29**	0,28**
2. <sup>a</sup>	2,76**	1,77**	1,51**	1,67**
3. <sup>a</sup>	5,78**	4,84**	3,69**	4,27**

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade.

GL: Isolados/leitura = 59; resíduo = 120

Observa-se que ocorre significância de 0,01 de probabilidade para os QM Isolados nas 3 leituras dos 4 meios de cultura. Verifica-se, como já era esperado, pela observação das distribuições de frequências e das estatísticas apresentadas no item 4.1.6.1, que a variação aumenta de acordo com o crescimento das colônias, isto é, da 1.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura. Confirma-se também a variação, nos três níveis de leitura, dos diâmetros das colônias dos isolados inoculados em C. Para a 1.<sup>a</sup> leitura, a ordem decrescente de variação em relação aos meios é de C, MM, MC e BDA. Já para as 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras a ordem é C, MM, BDA e MC. A maior variação nessas leituras em BDA do que em MC, apesar das médias de MC serem maiores do que as de BDA, se deve à maior amplitude ocorrida em BDA (5,95 e 7,85 cm de diâmetro) do que em MC (5,25 cm e 6,70 cm de diâmetro) para as 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras, respectivamente. Os quadros das análises de variância resumidos na Figura 14 estão nos Apêndices 4 a 15.

#### 4.1.6.3 - Análise da Variação dos Diâmetros das Colônias no Esquema Fatorial (Isolados, Meios de Cultura e Níveis de Leitura)

A análise da variância para os dados de crescimento dos isolados de *C. sativus*, considerando os fatores meios de cultura, isolados e níveis de leitura mostra serem altamente significativas (nível de 0,01 de probabilidade) todos os fatores e todas as interações de primeira ordem dos fatores aci-

ma citados, conforme Figura 15. (O quadro da análise da variância da Figura 15 está no Apêndice 16.)

Figura 15. Quadro dos Quadrados Médios dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* para os Fatores Isolados, Meios de Cultura e Níveis de Leitura.

Causas da Variação	GL	QM
Blocos	2	4,76
Meio de Cultura	3	464,20 **
Isolados	59	1,50 **
Leituras	2	2633,60 **
Meio de Cultura x Isolados	177	2,01 **
Meios de Cultura x Leituras	6	57,54 **
Isolados x Leituras	118	2,33 **
Meios de Cultura x Isolados x Leituras	354	0,35 n.s.
Resíduo	1438	0,71
Total	2159	

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

n.s - não significativo

O teste de Tukey para médias de diâmetros das colônias de *C. sativus* mostra que, apesar da grande variabilidade existente entre as médias, não é possível distinguir as mesmas nem formar grupos diferenciais. Destacam-se apenas os isolados 58/82, de maior crescimento, com diâmetro médio de 5,87 cm e o 34/80, de menor crescimento, com diâmetro médio de 1,81 cm, que apresentam diferenças altamente significativas tanto entre si como dos demais 58 isolados da amostra, conforme a Tabela 12.

A Tabela 13 apresenta os desdobramentos pelo

TABELA 12. Desdobramento pelo Teste de Tukey para Médias de Diâmetro das Colônias de *C. sativus* nas 3 Leituras dos 4 Meios de Cultura (com 3 Repetições).

Nº ordem	Isolado	Média em	Letras distintas diferem entre si ao nível de 0,01 de probabilidade
01	58/82	5,87	A
02	23 OPR	5,13	B
03	27/81	4,99	BC
04	19 OPR	4,92	BCD
05	31/83	4,87	BCD
06	86/82	4,86	BCD
07	1009	4,83	BCDE
08	1013	4,83	BCDE
09	89/82	4,75	BCDEF
10	101/82	4,74	BCDEF
11	1012	4,59	CDEFG
12	20/81	4,56	CDEFG
13	20 OPR	4,54	CDEFG
14	118/84	4,51	DEFGH
15	1005	4,51	DEFGH
16	77/83	4,49	DEFGH
17	12 OPR	4,49	DEFGH
18	42/84	4,48	DEFGHI
19	51/82	4,47	DEFGHIJ
20	1016	4,68	DEFGHIJ
21	76/82	4,46	DEFGHIJK
22	1004	4,40	EFGHIJK
23	02/81	4,38	EFGHIJKL
24	221/84	4,38	EFGHIJKL
25	14 OPR	4,37	EFGHIJKLM
26	67/82	4,34	FGHIJKLM
27	74/83	4,33	FGHIJKLM
28	57/83	4,32	FCHIJKLMN
29	44/84	4,31	FGHIJKLMNO
30	18 OPR	4,27	GHIJKLMNOP
31	45/80	4,20	GHIJKLMNO PQ
32	1001	4,15	GHIJKLMNO PQ
33	1002	4,07	HIJKLMNO PQR
34	87/84	4,02	IJKLMNO PQRS
35	98/82	4,01	JKLMNO PQRS
36	1008	4,00	KLMNO PQRS
37	1010	3,93	LMNO PQRST
38	25 OPR	3,93	LMNO PQRST
39	33/84	3,92	LMNO PQRST
40	D/85	3,91	MNO PQRST
41	222/84	3,87	NOP QRST
42	39/84	3,86	NOP QRST
43	16 OPR	3,86	OP QRST
44	1003	3,83	PQR ST
45	70/83	3,83	PQR ST
46	1015	3,78	QR ST
47	24 OPR	3,77	QR ST
48	43/84	3,76	QR ST
49	28/81	3,66	RSTU
50	109/82	3,59	STUV
51	79/83	3,53	TUV
52	52/80	3,50	TUV
53	1006	3,49	TUV
54	57/82	3,48	TUV
55	1007	3,29	UVW
56	120/84	3,27	UVW
57	13/81	3,14	VWX
58	39/82	2,93	WX
59	1014	2,71	X
60	34/80	1,81	Y

- número de placas por isolado: 36 (4 meios de cultura x 3 níveis de leitura x 3 repetições).

TABELA 13. Resumo dos Desdobramentos pelos Testes de Tukey para Médias de Diâmetros das Colônias de *C. sativus* por Meio de Cultura (nas 3 Leituras com 3 Repetições).

Nº de ordem	MEIOS DE CULTURA							
	C		MM		MC		BDA	
	isolado	nível 0,01	isolado	nível 0,01	isolado	nível 0,01	isolado	nível 0,01
01	89/82	A	58/82	A	58/82	A	58/82	A
02	51/82	AB	190R	ABC	66/82	AB	66/82	BC
03	190R	ABCD	31/83	ABCD	77/81	BCD	64/82	BCD
04	57/83	ABCD	27/81	ABCDE	57/83	BCDE	27/81	BCD
05	1013	ABCDE	1013	ABCDEF	1002	BCDEF	1016	BCDE
06	1013	ABCDE	200R	ABCDEF	190FR	BCDEF	1016	BCDEF
07	101/82	ABCDEF	86/82	ABCDEF	74/83	BCDEF	101/82	BCDEF
08	1012	ABCDEF	140PR	ABCDEF	42/84	BCDEF	1012	BCDEF
09	1005	ABCDEF	1005	ABCDEF	120PR	BCDEF	1005	BCDEF
10	1001	ABCDEF	31/84	ABCDEF	1012	BCDEF	1001	BCDEF
11	1005	ABCDEF	118/84	ABCDEF	1012	BCDEF	1005	BCDEF
12	74/82	ABCDEF	120FR	ABCDEF	140PR	BCDEF	74/82	BCDEF
13	27/81	ABCDEF	20/81	ABCDEF	140PR	BCDEF	27/81	BCDEF
14	200R	ABCDEF	77/83	ABCDEF	1013	BCDEF	200R	BCDEF
15	57/83	ABCDEF	44/84	ABCDEF	76/82	BCDEF	57/83	BCDEF
16	67/82	ABCDEF	47/80	ABCDEF	20/81	BCDEF	67/82	BCDEF
17	1004	ABCDEF	1004	ABCDEF	1016	BCDEF	1004	BCDEF
18	1009	ABCDEF	1009	ABCDEF	180PR	BCDEF	1009	BCDEF
19	49/82	ABCDEF	1007/84	ABCDEF	1007/84	BCDEF	49/82	BCDEF
20	49/84	ABCDEF	1007/84	ABCDEF	1007/84	BCDEF	49/84	BCDEF
21	230PR	ABCDEF	42/84	ABCDEF	89/82	BCDEF	230PR	BCDEF
22	20/81	ABCDEF	1016	ABCDEF	200PR	BCDEF	20/81	BCDEF
23	02/81	ABCDEF	1016	ABCDEF	1084	BCDEF	02/81	BCDEF
24	221/84	ABCDEF	97/82	ABCDEF	02/81	BCDEF	221/84	BCDEF
25	222/84	ABCDEF	97/82	ABCDEF	45/80	BCDEF	222/84	BCDEF
26	42/84	ABCDEF	160PR	ABCDEF	160PR	BCDEF	42/84	BCDEF
27	42/84	ABCDEF	1010	ABCDEF	98/82	BCDEF	42/84	BCDEF
28	42/84	ABCDEF	1010	ABCDEF	98/82	BCDEF	42/84	BCDEF
29	42/84	ABCDEF	1010	ABCDEF	98/82	BCDEF	42/84	BCDEF
30	140PR	ABCDEF	221/84	ABCDEF	1003	BCDEF	140PR	BCDEF
31	1008	ABCDEF	1005	ABCDEF	230PR	BCDEF	1008	BCDEF
32	45/80	ABCDEF	1008	ABCDEF	87/84	BCDEF	45/80	BCDEF
33	120PR	ABCDEF	D/85	ABCDEF	118/84	BCDEF	120PR	BCDEF
34	28/81	ABCDEF	97/84	ABCDEF	57/82	BCDEF	28/81	BCDEF
35	1016	ABCDEF	1016	ABCDEF	1015	BCDEF	1016	BCDEF
36	33/84	ABCDEF	33/84	ABCDEF	33/84	BCDEF	33/84	BCDEF
37	33/84	ABCDEF	33/84	ABCDEF	33/84	BCDEF	33/84	BCDEF
38	33/84	ABCDEF	33/84	ABCDEF	33/84	BCDEF	33/84	BCDEF
39	1002	ABCDEF	250PR	ABCDEF	1009	BCDEF	1002	BCDEF
40	87/84	ABCDEF	46/82	ABCDEF	67/82	BCDEF	87/84	BCDEF
41	70/83	ABCDEF	222/84	ABCDEF	D/85	BCDEF	70/83	BCDEF
42	70/83	ABCDEF	33/84	ABCDEF	43/84	BCDEF	70/83	BCDEF
43	70/83	ABCDEF	52/80	ABCDEF	39/84	BCDEF	70/83	BCDEF
44	70/83	ABCDEF	180PR	ABCDEF	70/83	BCDEF	70/83	BCDEF
45	70/83	ABCDEF	77/83	ABCDEF	1001	BCDEF	70/83	BCDEF
46	98/82	ABCDEF	51/82	ABCDEF	79/83	BCDEF	98/82	BCDEF
47	1010	ABCDEF	109/82	ABCDEF	1001	BCDEF	1010	BCDEF
48	109/82	ABCDEF	39/84	ABCDEF	1012	BCDEF	109/82	BCDEF
49	13/81	ABCDEF	1015	ABCDEF	1008	BCDEF	13/81	BCDEF
50	52/80	ABCDEF	120/84	ABCDEF	120/84	BCDEF	52/80	BCDEF
51	57/82	ABCDEF	1006	ABCDEF	137/81	BCDEF	57/82	BCDEF
52	1015	ABCDEF	1007	ABCDEF	1007	BCDEF	1015	BCDEF
53	1003	ABCDEF	120/84	ABCDEF	28/81	BCDEF	1003	BCDEF
54	240PR	ABCDEF	43/84	ABCDEF	1007	BCDEF	240PR	BCDEF
55	79/83	ABCDEF	79/83	ABCDEF	82/80	BCDEF	79/83	BCDEF
56	39/82	ABCDEF	13/81	ABCDEF	109/82	BCDEF	39/82	BCDEF
57	120/84	ABCDEF	1002	ABCDEF	1014	BCDEF	120/84	BCDEF
58	1014	ABCDEF	1014	ABCDEF	39/82	BCDEF	1014	BCDEF
59	34/80	ABCDEF	34/80	ABCDEF	34/80	BCDEF	34/80	BCDEF
60	34/80	ABCDEF	34/80	ABCDEF	34/80	BCDEF	34/80	BCDEF

- Letras distintas diferem entre si ao nível de probabilidade indicado  
 - Número de placas por isolado: 9 (3 níveis de leitura x 3 repetições)

teste de Tukey para as médias de diâmetro das colônias por meio de cultura. Verifica-se, novamente, a grande variabilidade das médias de diâmetro e a sobreposição da significância das mesmas. No meio C nenhuma média diferencia-se isoladamente das outras, o mesmo ocorrendo em MC, devido à sobreposição das mesmas. Em MM o isolado 34/80 com menor diâmetro médio (1,91 cm) apresenta diferença estatística altamente significativa em relação ao restante dos isolados. O mesmo ocorre em BDA para o isolado 58/82 que apresenta o maior diâmetro médio (5,96 cm).

A variabilidade e sobreposição da significância das médias dos diâmetros das colônias é também verificada quando realizados os desdobramentos pelos testes de Tukey para as 3 leituras, conforme a Tabela 14. Na 1.<sup>a</sup> leitura nenhuma das médias diferencia-se isoladamente das outras, sendo a variabilidade apresentada menor que nas 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras. Já nas 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras, as médias de diâmetro de colônia dos isolados 58/82 e 34/80 apresentam diferença estatística altamente significativa tanto entre si como com os demais 58 isolados da amostra: o isolado 58/82 com médias de diâmetro de 6,10 e 8,63 cm e o 34/80 com 1,92 e 2,34 cm nas 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras, respectivamente.

Verifica-se, portanto, que as médias dos isolados 58/82 e 34/80 apresentam-se estatisticamente com significância a nível de 0,01 de probabilidade no teste de Tukey geral, que engloba os 4 meios de cultura e os 3 níveis de leitura, apresentado na Tabela 12, devido às suas médias de

TABELA 14. Resumo dos Desdobramentos pelos Testes de Tukey para Médias de Diâmetros das Colônias de *C. sativus* por Nível de Leitura (nos 4 Meios de Cultura, com 3 Repetições).

Nº DE ORDEM	PRIMEIRA LEITURA		SEGUNDA LEITURA		TERCEIRA LEITURA	
	ISOLADO	NIVEL 0,01	ISOLADO	NIVEL 0,01	ISOLADO	NIVEL 0,01
01	58/82	A	58/82	A	58/82	A
02	190PR	AB	230PR	B	230PR	B
03	27/81	AB	190PR	BC	86/82	BC
04	230PR	AB	89/82	BCD	31/83	BCD
05	1013	AB	27/81	BCD	27/81	BCDE
06	1009	ABC	1009	BCDE	42/84	BCDEF
07	51/82	ABCD	1013	BCDE	190PR	BCDEFG
08	89/82	ABCD	101/82	BCDEF	1009	BCDEFG
09	31/83	ABCD	86/82	BCDEFG	101/82	BCDEFG
10	76/82	ABCDE	31/83	BCDEFGH	1013	BCDEFG
11	1004	ABCDEF	200PR	BCDEFGHI	200PR	BCDEFGH
12	1012	ABCDEF	77/83	BCDEFGHI	1005	BCDEFGH
13	101/82	ABCDEF	51/82	BCDEFGHIJ	1012	BCDEFGH
14	39/82	ABCDEF	20/81	BCDEFGHIJ	221/84	CDEFGH
15	77/83	ABCDEF	1012	BCDEFGHIJ	118/84	DEFGH
16	20/81	ABCDEF	120PR	BCDEFGHIJK	20/81	DEFGH
17	140PR	ABCDEF	1005	BCDEFGHIJKL	89/82	DEFGH
18	02/81	ABCDEF	140PR	BCDEFGHIJKLM	1016	DEFGH
19	18/84	ABCDEF	118/84	BCDEFGHIJKLM	120PR	DEFGHI
20	180PR	ABCDEF	76/82	BCDEFGHIJKLM	67/82	EFGHIJ
21	45/80	ABCDEF	1004	BCDEFGHIJKLM	57/83	EFGHIJ
22	86/82	ABCDEF	1016	BCDEFGHIJKLMN	44/84	EFGHIJK
23	1002	ABCDEF	42/84	BCDEFGHIJKLMNO	74/83	EFGHIJK
24	1008	ABCDEF	57/83	CDEFGHIJKLMNOP	76/82	FGHIJKL
25	1016	ABCDEF	02/81	CDEFGHIJKLMNOPQ	77/83	FGHIJKL
26	1065	ABCDEF	74/83	CDEFGHIJKLMNOPQ	02/81	FGHIJKL
27	120PR	ABCDEF	44/84	CDEFGHIJKLMNOPQ	1004	FGHIJKLM
28	200PR	ABCDEF	67/82	CDEFGHIJKLMNOPQ	51/82	FGHIJKLMN
29	1001	ABCDEF	45/80	DEFGHIJKLMNOPQR	180PR	FGHIJKLMN
30	67/82	ABCDEF	221/84	DEFGHIJKLMNOPQR	140PR	GHIIJKLMN
31	28/81	ABCDEF	180PR	DEFGHIJKLMNOPQR	98/82	GHIJKLMN
32	0/85	ABCDEF	1001	EFGHIJKLMNOPQR	1001	GHIJKLMNO
33	44/84	ABCDEF	1002	FGHIJKLMNOPQRS	70/83	HIJKLMNO
34	1003	ABCDEF	1008	FGHIJKLMNOPQRST	87/84	HIJKLMNO
35	160PR	ABCDEF	1010	GHIIJKLMNOPQRST	45/80	HIJKLMNO
36	221/84	ABCDEF	87/84	GHIIJKLMNOPQRSTU	250PR	HIJKLMNO
37	1010	ABCDEF	98/82	HIJKLMNOPQRSTU	1002	IJKLMNOP
38	74/83	ABCDEF	0/85	IJKLMNOPQRSTU	222/84	JKLMNOPQ
39	52/80	ABCDEF	33/84	IJKLMNOPQRSTUV	33/84	JKLMNOPQ
40	33/84	BCDEF	39/84	IJKLMNOPQRSTUV	39/84	JKLMNOPQR
41	57/83	BCDEF	160PR	IJKLMNOPQRSTUV	1008	KLMNOPQRS
42	87/84	BCDEF	250PR	IJKLMNOPQRSTUV	0/85	LMNOPQRS
43	1015	BCDEF	1003	IJKLMNOPQRSTUV	1010	LMNOPQRS
44	43/84	BCDEFG	222/84	JKLMNOPQRSTUV	1015	LMNOPQRS
45	222/84	BCDEFG	28/81	JKLMNOPQRSTUV	240PR	MNOPQRST
46	240PR	BCDEFG	240PR	KL MNOPQRSTUV	43/84	MNOPQRST
47	42/84	BCDEFG	43/84	LMNOPQRSTUV	160PR	MNOPQRST
48	1007	BCDEFG	70/83	MNOPQRSTUV	1003	MNOPQRST
49	1006	BCDEFG	109/82	NOPQRSTUV	109/82	OPQRSTU
50	57/82	BCDEFG	1015	OPQRSTUV	79/83	PQRSTUV
51	39/84	BCDEFG	79/83	PQRSTUV	57/82	QRSTUV
52	280PR	BCDEFG	1006	PQRSTUV	28/81	RSTUV
53	98/82	BCDEFG	52/80	QRSTUV	1006	STUV
54	13/81	BCDEFG	57/82	RSTUVW	120/84	STUV
55	79/83	CDEFG	1007	STUVW	52/80	TUV
56	109/82	CDEFG	120/84	TUVW	1007	UV
57	1014	DEFG	13/81	UVW	13/81	VW
58	70/83	EFG	39/82	VW	1014	WX
59	120/84	FG	1014	W	39/82	X
60	34/80	G	34/80	X	34/80	Y

- Letras distintas diferem entre si ao nível de probabilidade indicado.
- Número de placas por isolado: 12 (4 Meios de Cultura x 3 Repetições).

diâmetro nas 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leituras e para 58/82 à sua média em BDA e para 34/80 à sua média em MM.

A Figura 16 apresenta as fotos das colônias dos isolados 58/82 e 34/80, nos quatro meios de cultura, na 3.<sup>a</sup> leitura do 1º bloco.

Os desdobramentos pelos testes de Tukey para médias de diâmetro das colônias nos 4 meios de cultura mostram diferenças altamente significativas entre as 3 leituras, conforme a Tabela 15.

TABELA 15. Desdobramentos pelos Testes de Tukey para Médias de Diâmetro das Colônias de *C. sativus* por Meio de Cultura nos 3 Níveis de Leitura (com 3 Repetições).

Leitura	Médias de diâmetro por meio de cultura				
	C*	MM*	MC*	BDA*	Os 4 meios**
3. <sup>a</sup>	7,35 <sup>A</sup>	6,83 <sup>A</sup>	5,70 <sup>A</sup>	4,08 <sup>A</sup>	5,99 <sup>A</sup>
2. <sup>a</sup>	5,29 <sup>B</sup>	4,68 <sup>B</sup>	3,96 <sup>B</sup>	2,96 <sup>B</sup>	4,22 <sup>B</sup>
1. <sup>a</sup>	2,58 <sup>C</sup>	2,26 <sup>C</sup>	2,05 <sup>C</sup>	1,77 <sup>C</sup>	2,17 <sup>C</sup>

- Médias da mesma coluna seguidas por letras distintas diferem ao nível de 0,01 de probabilidade.

\* - número de placas por leitura: 180 (60 isolados x 3 repetições).

\*\* - número de placas por leitura: 720 (60 isolados x 4 meios de cultura x 3 repetições)

Esses resultados evidenciam o efetivo crescimento em diâmetro dos isolados de *C. sativus* nos quatro meios de cultura durante os intervalos das 3 leituras (2, 4

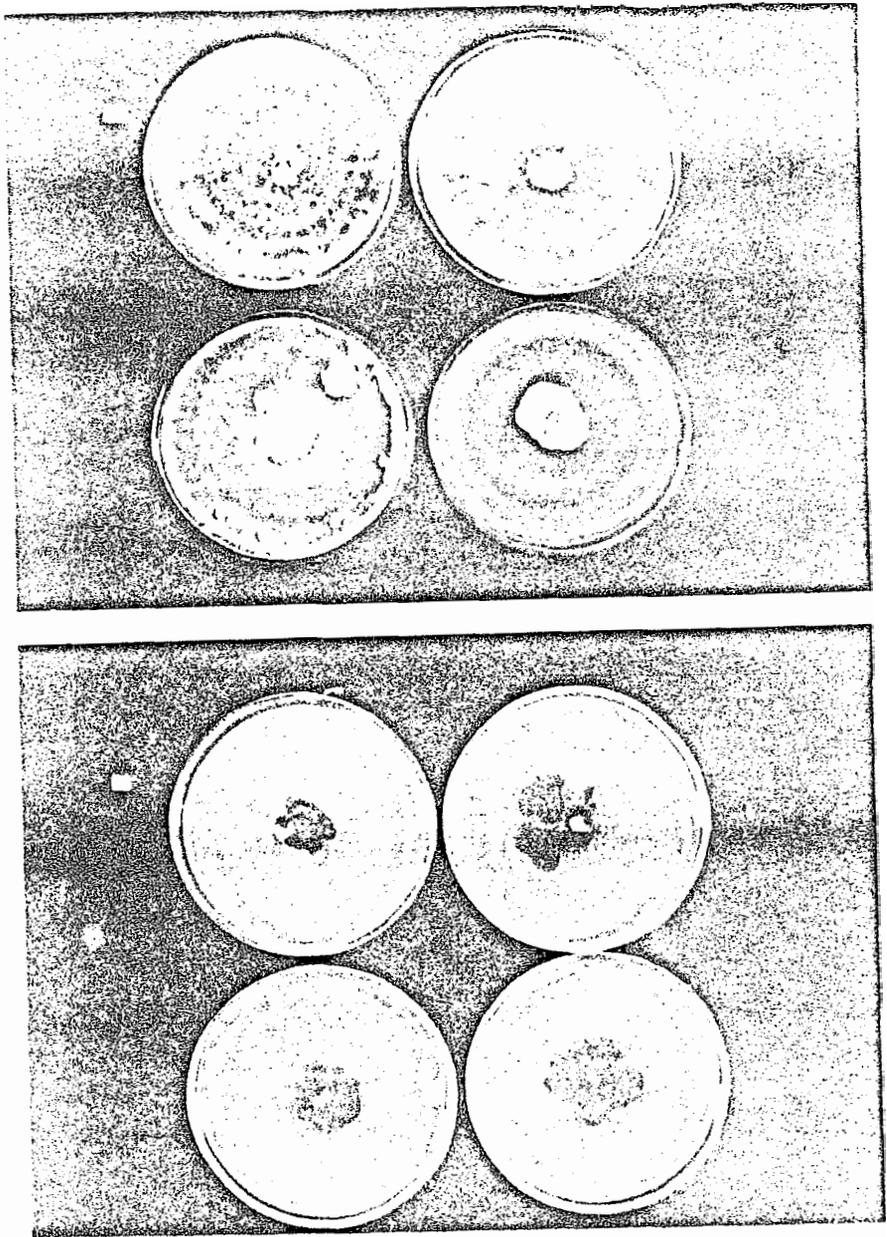


FIGURA 16. Fotos de Colônias de *C. sativus* de Maior e Menor Crescimento. Foto do isolado de maior crescimento, 58/82 (foto superior) e de menor crescimento, 34/80 (foto inferior). A marca indica o meio BDA, à esquerda MC, embaixo à esquerda C e à direita MM.

e 6 dias). Ressaltam também que o meio C propicia melhor crescimento em diâmetro das colônias, seguido por MM, MC e BDA.

Quando são realizados os desdobramentos pelos testes de Tukey para cada isolado individualmente, em relação às suas médias de leitura, observam-se também diferenças altamente significativas entre os três níveis de leitura de cada isolado. Como as medidas de diâmetro das colônias foram realizadas de 2 em 2 dias, esses resultados estatísticos estão de acordo com o observado, visualmente, de grande diferença de crescimento a cada leitura.

Excetuaram-se, entre os 60 isolados, o isolado 34/80, que não apresentou significância estatística entre as três leituras, mostrando o pequeno progresso em aumento de diâmetro durante o seu crescimento. O isolado 39/82 também se destacou dos demais por apresentar diferença altamente significativa entre a primeira leitura e as restantes, sendo que entre a segunda e a terceira leitura não houve significância estatística. Isso comprova o bom crescimento ocorrido entre o segundo e o quarto dias de incubação e a quase interrupção do crescimento entre o quarto e o sexto dias após inoculação (Tabela 16).

TABELA 16. Desdobramentos pelos Testes de Tukey para Médias de Diâmetro das Colônias dos Isolados 34/80 e 39/82 nos 3 Níveis de Leitura (nos 4 Meios de Cultura, com 3 Repetições).

Leitura	Médias de Diâmetro das Colônias por Leitura	
	Isolado 34/80	Isolado 39/82
3. <sup>a</sup>	2,34 <sup>A</sup>	3,20 <sup>A</sup>
2. <sup>a</sup>	1,92 <sup>AB</sup>	3,17 <sup>A</sup>
1. <sup>a</sup>	1,18 <sup>B</sup>	2,38 <sup>B</sup>

- Médias da mesma coluna seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 0,01 de probabilidade.
- Médias de placas por isolado: 12 (4 meios de cultura x 3 repetições).

O desdobramento pelo teste de Tukey para as médias de diâmetro das colônias dos isolados de *C. sativus* nos quatro diferentes meios (C, MM, MC e BDA) mostrou diferenças altamente significativas. As médias de diâmetro das colônias em C (5,07 cm), em MM (4,59 cm), em MC (3,90 cm) e em BDA (2,94 cm) diferem entre si a nível de 0,01 de probabilidade (número de placas por isolado: 540 = 60 isolados x 3 níveis de leitura x 3 repetições). Observa-se também o maior crescimento em diâmetro das colônias em C, seguido de MM, MC e BDA.

Os desdobramentos pelos testes de Tukey para as médias de diâmetros dos meios de cultura por isolado individualmente confirmam de modo geral o maior crescimento no

meio C, seguindo-se em ordem decrescente MM, MC e BDA, o que está de acordo com a observação visual realizada.

A ordem decrescente de diâmetro das colônias dos isolados nos meios C, MM, MC e BDA é apresentada por 78,33% dos isolados, nos quais ocorre significância a nível de 0,01 de probabilidade pelo menos entre a média de C e a de BDA.

#### 4.1.6.4 - Análise da Variação dos Diâmetros das Colônias no Esquema Fatorial (Isolados e Meios de Cultura)

A análise da variância dos diâmetros das colônias no esquema fatorial (isolados, meios de cultura e níveis de leitura) mostrou, como vimos anteriormente, significância a nível de 0,01 de probabilidade para todas as interações de 1.<sup>a</sup> ordem (meios de cultura x isolados, meios de cultura x leitura e isolados x leitura). Como ficou demonstrado pelos desdobramentos pelos testes de Tukey, as médias de diâmetro dos isolados apresentam alta significância estatística em relação aos 3 níveis de leitura, tanto as médias nos 4 meios como em cada meio e por isolado individualmente. Isso evidencia o efetivo crescimento dos isolados ao longo dos 6 dias de observação. Por esse motivo foi desdobrada a análise de variância no esquema fatorial para a interação isolados x meios de cultura, fixando-se os níveis de leitura.

Essas análises de variância mostram serem altamente significativas as interações para meios de cultura e

para isolados com relação aos diâmetros das colônias quando analisados aos 2, 4 e 6 dias de incubação conforme a Figura 17 (os quadros das análises de variância estão nos Apêndices 17 a 19).

FIGURA 17. Quadro dos Quadrados Médios dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* nas 3 Leituras (QM Leituras) para os Fatores Meios de Cultura e Isolados.

Causas da Variação	GL	QM Leituras		
		1. <sup>a</sup>	2. <sup>a</sup>	3. <sup>a</sup>
Blocos	2	0,37 n.s.	0,33 n.s.	8,86 **
Meios de Cultura	3	21,15 **	180,90 **	377,22 **
Isolados	59	1,07 **	5,25 **	13,37 **
Meios de Cultura x Isolados	177	0,15 n.s.	0,82 n.s.	1,74 *
Resíduo	478	0,14	0,65	1,32
Total	719			

\* - Significativo ao nível de 0,05 de probabilidade

\*\* - Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

n.s. - Não significativo

Os desdobramentos pelos testes de Tukey para médias de diâmetro dos isolados mostram, assim como a análise de variância para os três fatores, a sobreposição entre as médias de diâmetro das colônias de *C. sativus*, para todas as 3 leituras. Os desdobramentos pelos testes de Tukey para as médias dos diâmetros das colônias nos 4 meios em separado também apresentam sobreposição de médias. Observa-se, no entanto, que a variabilidade aumenta da 1.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura.

Os desdobramentos pelos testes de Tukey para

médias de diâmetros das colônias nos meios de cultura mostram significância a nível de 0,01 de probabilidade entre os 4 meios de cultura, nas 3 leituras, conforme apresentado na Tabela 17.

TABELA 17. Desdobramentos pelos Testes de Tukey para Médias de Diâmetro das Colônias de *C. sativus* por Nível de Leitura nos 4 Meios de Cultura (com 3 Repetições).

Meio de Cultura	Leitura		
	1. <sup>a</sup>	2. <sup>a</sup>	3. <sup>a</sup>
C	2,58 <sup>A</sup>	5,29 <sup>A</sup>	7,35 <sup>A</sup>
MM	2,26 <sup>B</sup>	4,68 <sup>B</sup>	6,83 <sup>B</sup>
MC	2,05 <sup>C</sup>	3,96 <sup>C</sup>	5,70 <sup>C</sup>
BDA	1,77 <sup>D</sup>	2,96 <sup>D</sup>	4,08 <sup>D</sup>

- Médias da mesma coluna seguidas por letras distintas diferem entre si a nível de 0,01 de probabilidade.
- Número de placas para meio de cultura e leitura: 180 (60 isolados x 3 repetições).

Esta tabela também ressalta o maior crescimento dos isolados no meio C, seguido de MM, MC e BDA para todas as leituras, assim como o aumento do diâmetro das colônias da 1.<sup>a</sup> para a 3.<sup>a</sup> leitura.

Quando são realizados os desdobramentos pelos testes de Tukey para médias de diâmetro das colônias, nos 4 meios de cultura, por isolado individualmente, verifica-se também a preponderância do maior crescimento dos isolados

em C, seguido de MM, MC e BDA. Com essa ordem observa-se 60,00% dos isolados na 1.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> leitura e 73,33% na 2.<sup>a</sup> leitura. Na primeira leitura, 48,33% dos isolados não apresentam significância estatística entre suas médias de diâmetro nos 4 meios de cultura. Na 2.<sup>a</sup> leitura esta frequência como é esperada pelo crescimento dos isolados e conseqüente aumento da variabilidade em relação ao meio de cultura, baixa para 28,33%. Já na 3.<sup>a</sup> leitura ocorre uma elevação para 35,00% que pode ser explicada pelo fato de que muitos isolados nos diferentes meios alcançaram, aos 6 dias, as bordas da placa, não havendo mais espaço para seu crescimento diferencial.

De modo geral, as análises mostram que as médias dos diâmetros das colônias dos isolados de *C. sativus* apresentam diferenças altamente significativas pelo menos entre os meios de cultura que propiciam o maior e o menor crescimento. Assim, temos para a 1.<sup>a</sup>, para a 2.<sup>a</sup> e para a 3.<sup>a</sup> leitura, não interessando a ordem dos meios, que essa diferença estatisticamente significativa ocorre em 51,67%; 71,67% e 65,00%, respectivamente, das colônias estudadas.

As análises de variância acima discutidas re-enfatizam a variabilidade em crescimento dos isolados de *C. sativus*, que é devida tanto ao meio de cultura onde o isolado é cultivado, como ao próprio isolado. Mostram ainda que o crescimento em diâmetro das colônias é altamente significativo a cada 48 horas. Verifica-se também um crescimento diferencial para a maioria dos isolados de acordo com o meio em que são inoculados. Observa-se também que os dois meios

mínimos MM e C propiciam para a maioria dos isolados um maior crescimento em diâmetro da colônia do que os dois meios completos MC e BDA.

WILSON & MURPHY (1964) realizaram também análise de variância das taxas de crescimento, a qual, no entanto, não podemos comparar com o presente estudo por ser relacionada a efeito de temperatura e incluir além de *C. sativus* também isolados de *C. victoriae*.

#### 4.2 - Conídios de *Cochliobolus sativus*

Os conídios e conidióforos são estruturas importantes para a taxonomia dos fungos, principalmente daqueles que não possuem a reprodução sexuada ou como no caso de *C. sativus* esta só ocorre em condições especiais de laboratório. Devido à sua importância sistemática, realizou-se também o estudo da conidiação dos isolados nos 4 meios de cultura e do tamanho e número de septos dos conídios.

##### 4.2.1 - Conidiação de *Cochliobolus sativus*

O estudo de conidiação de *C. sativus* não seguiu o delineamento experimental utilizado para morfologia e crescimento, mas foi aproveitado o 3º bloco deixado em incubação até o 10º dia, quando então foram retiradas as amostras.

Realizaram-se duas contagens, em hematómetro, de

de cada colônia, em cada um dos quatro meios de cultura, cujos resultados médios em  $10^4$  conídios/ml foram:

C : 14,93 ± 9,15                      MC : 10,79 ± 6,73

BDA: 8,13 ± 8,99                      MM : 5,30 ± 4,02

CHRISTENSEN (1922) apenas cita, em seu trabalho, que o isolado de trigo não esporula em AV e que o isolado de centeio esporula abundantemente em arroz, trigo, cevada e vagem fervidas, assim como em BDA 1%. Já MITRA (1930) fornece dados subjetivos sobre a conidiação, afirmando que a mesma varia de acordo com o meio utilizado e de acordo com o isolado estudado. Esse autor estudou isolado de trigo e de cevada em meios diferentes, tendo conseguido os seguintes resultados.

- conidiação do isolado de trigo: pouca em ágar de Brown; moderada em ágar de Brown com amido, em ágar de Richards, em ágar suco de ameixa seca e em ágar farinha de aveia. Boa em palha de *Triticum aestivum*, de *Avena sativa*, de *Hordeum vulgare* e de *Agropyrum repens*
- conidiação do isolado de cevada: moderada em ágar de Brown; boa nos outros 4 meios de cultura e muito boa nos 4 tipos de palha, acima citados.

Em 1964, WILSON & MURPHY também citam apenas o isolado que não esporula: isolado de aveia (4).

Verifica-se que se torna muito difícil comparar os estudos de conidiação de outros autores citados com o do presente estudo, pois não são apresentados em dados numéricos.

Observa-se, no entanto, que a produção de conídios em uma colônia não está relacionada com seu cresci-

to. Na presente amostra, o meio que propicia maior crescimento em diâmetro da colônia é C, seguido de MM, MC e BDA. Já para conidiação, o meio que propicia maior conidiação é C, mas para os restantes inverte-se a ordem, que é MC, BDA e MM.

#### 4.2.2 - Tamanho dos Conídios e Número de Septos de *Cochliobolus sativus*

A Tabela 18 apresenta a distribuição das médias das medidas para comprimento de 50 conídios de cada um dos 39 isolados escolhidos ao acaso e cultivados em BDA. Essa distribuição é apresentada na forma de histograma na Figura 18.

TABELA 18. Distribuição das Frequências Médias de Comprimento (em micra) de Conídios de 39 Isolados de *C. sativus* Cultivados em BDA.

Classe das Médias de Comprimento		Frequência	
Inferior ( $\mu$ )	Superior ( $\mu$ )	Absoluta	Relativa
25,0	30,0	01	0,026
30,0	35,0	01	0,026
35,0	40,0	00	0,000
40,0	45,0	01	0,026
45,0	50,0	10	0,256
50,0	55,0	13	0,333
55,0	60,0	10	0,256
60,0	65,0	03	0,077

- Medidos 50 conídios de cada isolado.

-  $\bar{x} = 51,48 \pm 6,64 \mu$

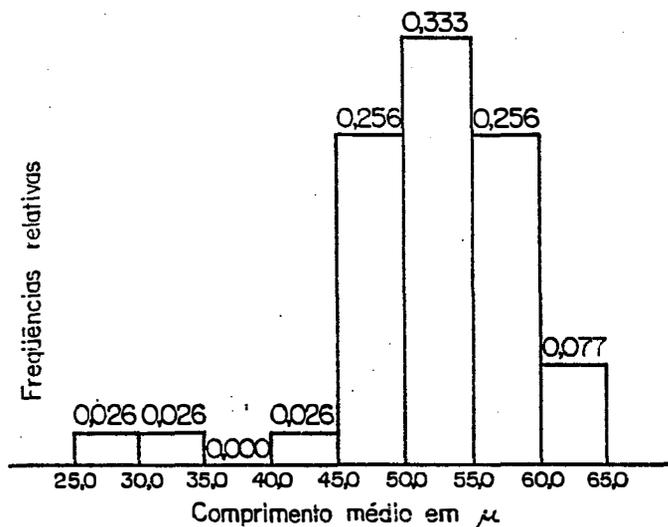


FIGURA 18. Histograma da Distribuição das Frequências Relativas das Médias de Comprimento de Conídios de 39 Isolados de *C. sativus* Cultivados em BDA.

As medidas de largura do conídio e o número de septos são apresentados nas Tabelas 19 e Figura 19 e na Tabela 20 e Figura 20, respectivamente.

TABELA 19. Distribuição das Frequências Médias de Largura (em micra) de Conídios de 39 Isolados de *C. sativus* Cultivados em BDA.

Classe das Médias de Largura		Frequência	
Inferior ( $\mu$ )	Superior ( $\mu$ )	Absoluta	Relativa
14,0	16,0	03	0,077
16,0	18,0	12	0,308
18,0	20,0	23	0,590
20,0	22,0	01	0,025

- Medidos 50 conídios de cada isolado.

-  $\bar{x} = 18,15 \pm 1,15 \mu$

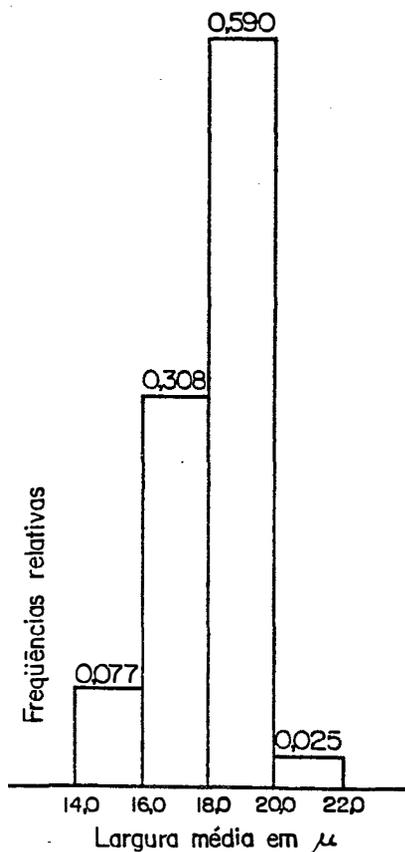


FIGURA 19. Histograma da Distribuição das Frequências Relativas das Médias de Largura dos Conídios de 39 Isolados de *C. sativus* Cultivados em BDA.

TABELA 20. Distribuição das Frequências Médias do Número de Septos de Conídios de 39 Isolados de *C. sativus* Cultivados em BDA.

Classe de Médias do Número de Septos		Frequências	
Inferior	Superior	Absolutas	Relativas
02	03	02	0,051
03	04	00	0,000
04	05	07	0,179
05	06	25	0,641
06	07	05	0,128

- Medidos 50 conídios de cada isolado.

-  $\bar{x} = 5,30$  septos.

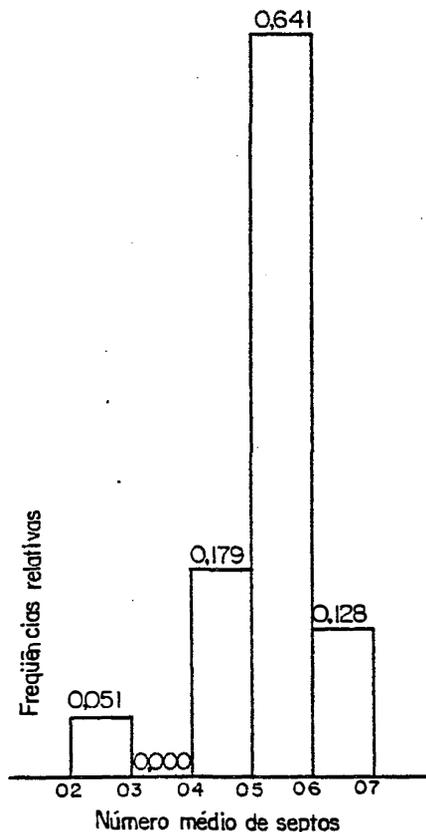


FIGURA 20. Histograma da Distribuição das Frequências Relativas das Médias do Número de Septos dos Conídios de 39 Isolados de *C. sativus* Cultivados em BDA.

Na amostra de isolados estudada foram encontradas médias de comprimento de valor máximo de 62,18  $\mu$  e mínimo de 29,68  $\mu$  e para largura máxima de 20,56  $\mu$  e mínima de 14,73  $\mu$ , mostrando amplitudes de 32,5  $\mu$  e 5,83  $\mu$ , respectivamente. Esses dados mostram uma variação que é bastante grande inclusive para comprimento. Já para o número de septos, o valor máximo médio é de 6,16 e o mínimo de 2,82, mostrando uma amplitude de 3,34 septos, o que é também bem variável.

Nas três tabelas e três figuras apresentadas neste item podemos verificar que as médias e as medianas

coincidem na mesma classe seja de comprimento, largura ou número de septos.

Utilizando-se as médias gerais tem-se as seguintes relações:

$$- \text{comprimento/largura} = 2,84$$

$$- \text{comprimento/número de septos} = 9,71$$

Os dados dos isolados utilizados neste trabalho são semelhantes aos dois isolados selvagens padrões testadores usados como controle, cujos resultados foram:

A18:

$$\text{comprimento: } \bar{x} = 50,75 \pm 8,70$$

$$\text{largura : } \bar{x} = 17,41 \pm 1,83$$

$$\text{comprimento/largura} = 2,91$$

$$\text{número de septos: } \bar{x} = 4,44$$

$$\text{comprimento/número de septos} = 11,43$$

(médias de 50 conídios)

A20:

$$\text{comprimento: } \bar{x} = 55,33 \pm 11,48$$

$$\text{largura : } \bar{x} = 18,43 \pm 2,09$$

$$\text{comprimento/largura} = 3,00$$

$$\text{número de septos: } \bar{x} = 5,84$$

$$\text{comprimento/número de septos} = 9,74$$

(médias de 50 conídios)

Os conídios da amostra estudada apresentaram cor marrom a marrom escura e paredes grossas.

Ao se realizar esse estudo de medida de conídios e de número de septos por conídio, observou-se uma sé-

rie de "anomalias" tais como:

- conídios com ponta bem curva;
- conídios com metade mais clara;
- conídios com septos transversos;
- conídios em S;
- conídios mais claros e mais escuros na mesma colônia;
- conídios bifurcados;
- conídios com falhas de células, etc., alguns deles apresentados na Figura 21.

Verifica-se também que a amostra do presente trabalho apresenta os menores valores mínimos para amplitude e média de largura, assim como o menor valor máximo para média de largura. O mesmo ocorre com o maior valor máximo e o mínimo para média de comprimento. Isso se deve provavelmente ao fato de ter-se realizado este estudo com apenas um meio de cultura (BDA), enquanto que a maioria dos autores citados na Tabela 21 utilizaram dois ou mais meios ou o próprio hospedeiro.. Segundo DRECHSLER (1923) os conídios em cultura tornam-se menores em comprimento e em largura, podendo reduzir-se a corpos subesféricos com 1 ou até sem septos.

Em relação à morfologia de conídios, que não foi objeto de atenção especial deste estudo, mas que descrevemos rapidamente neste item, tem concordância com as descrições morfológicas feitas pelos autores citados na Tabela 21.

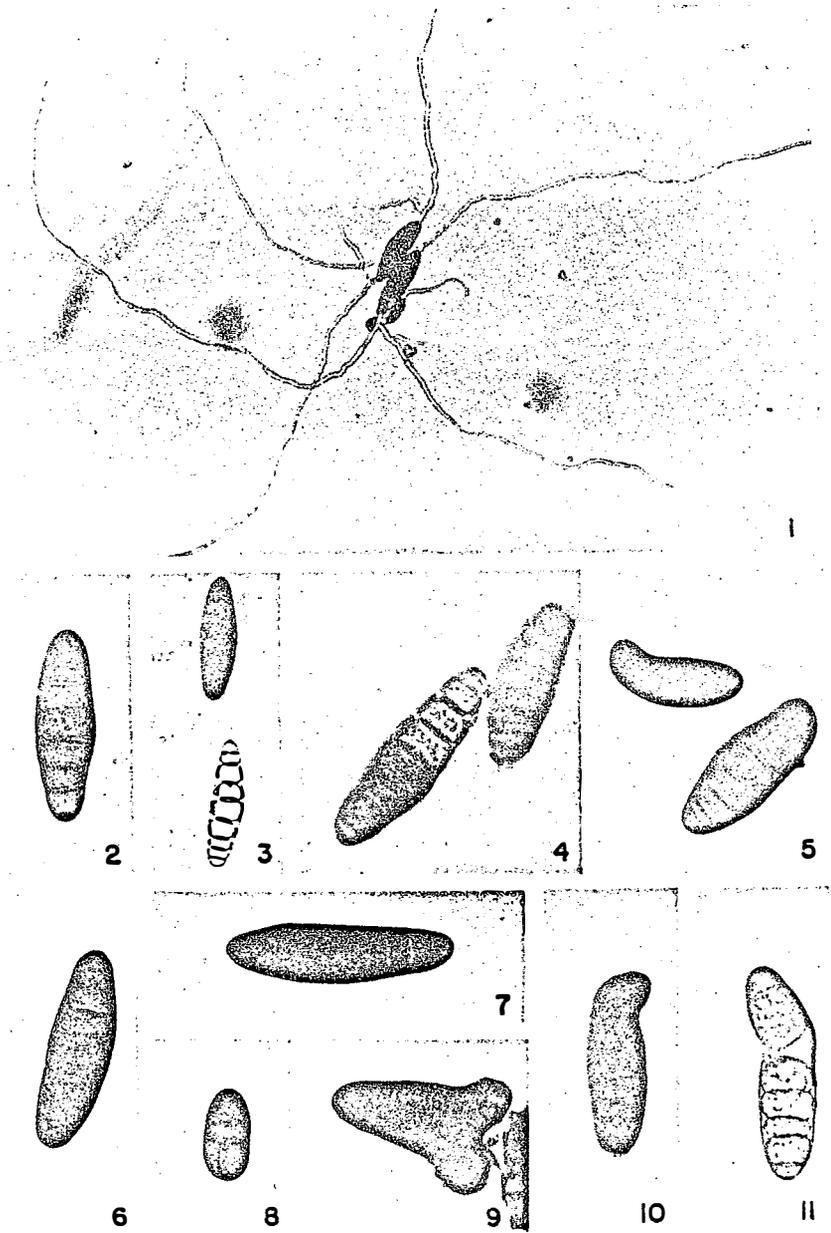


FIGURA 21. Fotos de Conídios de *C. sativus*: 21.1. germinação bipolar; 21.2. reto com hilo bem salientado; 21.3. selvagem (superior) e albino (inferior); 21.4. coloração desuniforme (esquerda) e coloração uniforme (direita); 21.5. extremidades curvas; 21.6. aparente superposição de septos; 21.7. 8 septos; 21.8. septo transverso; 21.9. biseptado; 21.10. extremidade bem curva; 21.11. mais claro com falha entre as células. (Fotos em microscópio ótico com aumento de 400x, com exceção de 21.3 - aumento de 200x e 21.1 - aumento de 100x).

TABELA 21. Tamanho e Número de Septos de Conídios de *C.sativus* Isolados de Cereais e Gramíneas, Incubados em Meios Naturais ou Sintéticos, Coletados por Vários Autores (tamanhos e médias mínimas e máximas).

Autor/ano	Comprimento ( $\mu$ )		Largura ( $\mu$ )		Nº de septos	
	Ampli- tude	Média	Ampli- tude	Média	Ampli- tude	Média
CHRISTENSEN 1922	11,40 117,80	33,00 85,58	11,40 30,40	16,02 23,43	0 11	2,46 7,44
DOSDAL & CHRISTENSEN, 1923		65,7 83,1				
DRECHSLER 1923	25 134		14 30		3 10	
MITRA 1930	17 102	39,5 81,2	13 27	18,0 22,4	0 10	2,03 7,69
MITRA 1931	33,0 86,0		16,5 23,0		4 9	
ITO & KURIBAYASHI 1931	60,0 108,0		17,5 28,0		2 13	
LUTTRELL 1951	60 120		15 20		3 10	
LUTTRELL 1955	36 129	63,8 103,9	14 28	17,7 23,4	2 12	6,0 8,9
LUTTRELL 1963b	43 109		19 25		6 10	
WILSON & MURPHY 1964	53,8 85,8		17,0 27,2		5* 7*	
ELLIS 1971	40 120		17 28		3 12	
Presente estudo 1989	18,52 101,86	29,68 62,18	9,26 27,78	14,73 20,56	1 10	2,44 6,40

\* Indica número modal.

#### 4.3 - Fertilidade de *Cochliobolus sativus*

O estudo da fertilidade dos isolados brasileiros de *C. sativus* contou com a obtenção da reprodução sexuada, a determinação da compatibilidade sexual e o estudo da fertilidade propriamente dito.

##### 4.3.1 - Reprodução Sexuada: Morfologia das Estruturas Reprodutivas de *Cochliobolus sativus*

Apesar de não se ter realizado um estudo detalhado das estruturas reprodutivas surgidas nos pareamentos dos isolados de *C. sativus*, achou-se de interesse abordar alguns aspectos observados no presente trabalho. Tentar-se-á realizar esta abordagem através de fotografias que ilustram melhor as estruturas do que uma descrição.

A Figura 22 apresenta fotos de pseudotécios e do interior dos mesmos: 22.1 - semente de cevada coberta em parte com conídios, apresentando diversos pseudotécios, que são claros e escuros por ter sido essa semente utilizada em pareamento de um isolado selvagem com um dos isolados testadores padrão albino; 22.2 - pseudotécio albino com o bico já bem formado, rodeado por outros dois pseudotécios também albinos, onde se observa bem a forma globosa dos mesmos; 22.3 - pseudotécio selvagem sobre semente de cevada recoberta também por conídios selvagens; 22.4 - pseudotécio selvagem formado no ágar de Sach, afastado da semente de cevada, e com o bico bastante alongado; 22.5 - pseudotécio rom-

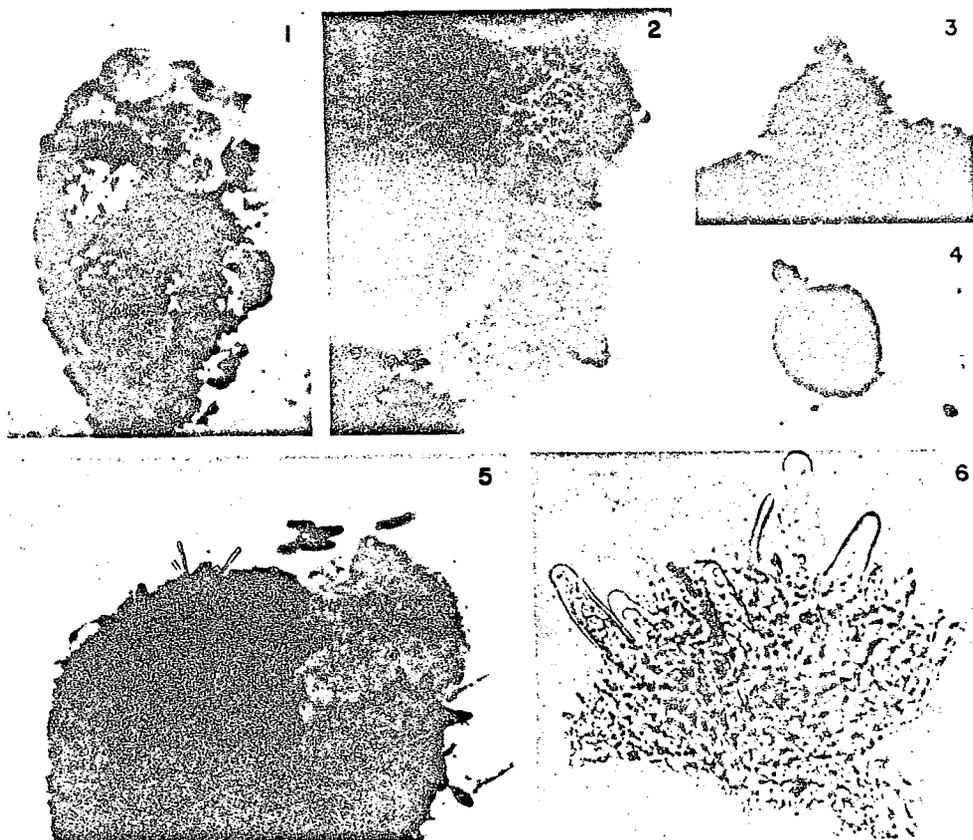


FIGURA 22. Fotos de Pseudotécios Selvagens e Albinos de *C. sativus*. Fotos ao microscópio estereoscópico: 22.1 (2,5x), 22.2 (10x), 22.3 e 22.4 (7,5x); ao microscópio ótico: 22.5 (50x), 22-6 (200x)

pido observando-se os conídios e as hifas que o recobrem;  
 22.6 - porção do interior de um pseudotécio onde se observam ascos vazios e ascos com formação de ascósporos.

A Figura 23 apresenta vários tipos de ascos e ascósporos observados: 23.1 - asco totalmente vazio, sem rompimento de parede ou de estipe, o que demonstra a não formação de ascósporos no mesmo; 23.2 - asco com apenas 1 ascósporo bem formado e outro abortivo, bem menor em uma das extremidades; 23.3 - ascósporo solto do asco, apresentando bem as características de hialinidade e forma filiforme e asco sem ascósporos, mas com material citoplasmático; pode-se observar na extremidade oposta à estipe a natureza bitunicada do asco; 23.4 - asco com 2 ascósporos bem formados e um abortivo; 23.5 - asco com 3 ascósporos bem formados. Observa-se também conídios selvagens e albinos, o que possibilita verificar o tamanho relativo destes dois tipos de esporos (conídios e ascósporos) formados por *C. sativus*; 23.6 - asco vazio, com pouco material citoplasmático e asco com, provavelmente, 8 ascósporos com seu enrolamento helicoidal; 23.7 - asco com 4 ascósporos liberando-se do mesmo; 23.8 - ascósporos ainda enovelados em sua hélice, mas já em processo de germinação; 23.9 - cinco ascósporos já mais frouxamente desenrolados com germinação bastante adiantada; 23.10 - ascósporo com pelo menos 9 tubos germinativos.

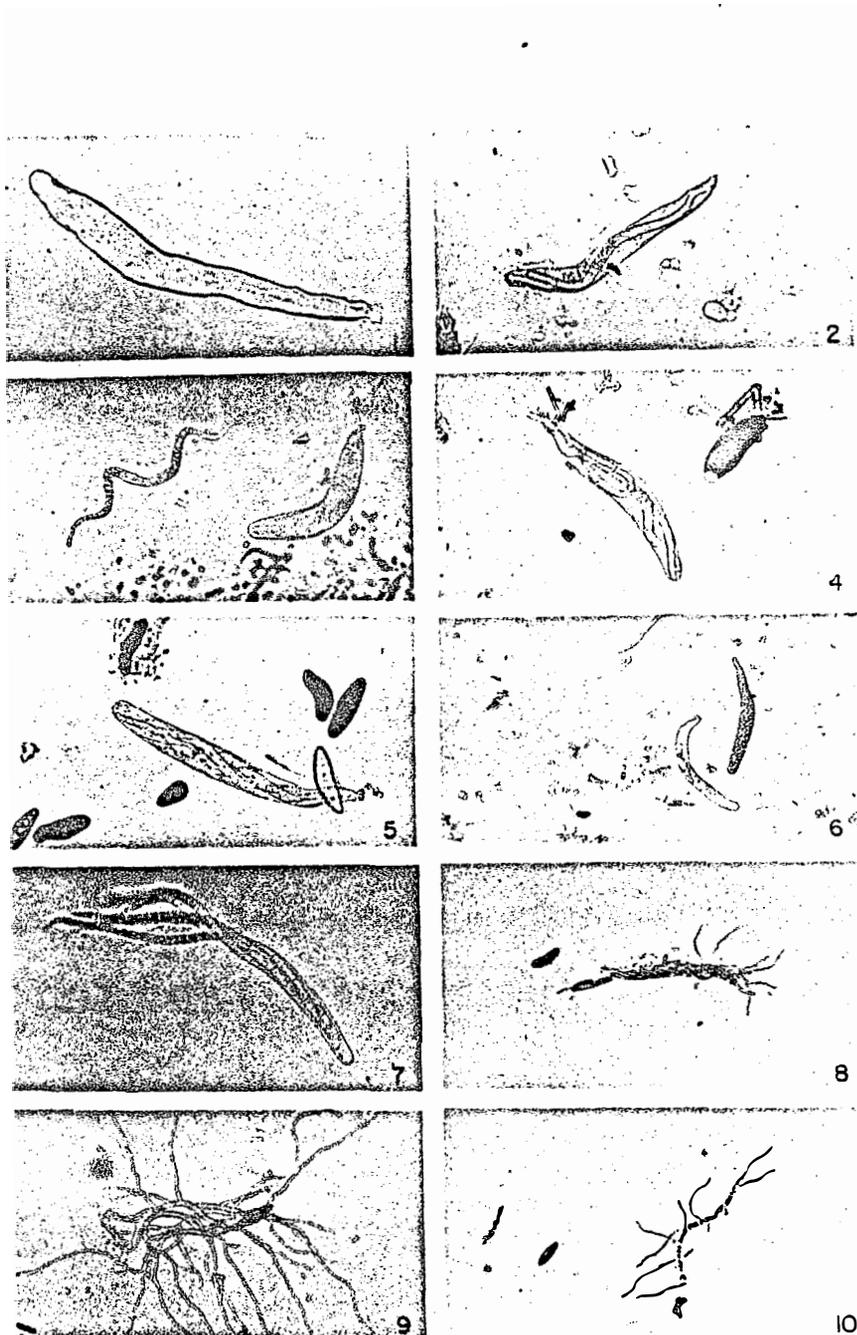


FIGURA 23. Fotos de Ascos e Ascôsporos de *C. sativus* (I) (Fotos ao microscópio ótico: 23.1 (400x), 23.2 a 23.5 e 23.7 (200x), 23.6, 23.8 a 23.10 (100x)).

A Figura 24 mostra alguns ascos e ascósporos com mais detalhes: 24.1 - asco totalmente vazio, íntegro onde se pode observar em alguns locais a túnica dupla; 24.2 - asco sem ascósporos, mas repleto de material citoplasmático; 24.3 - asco com material citoplasmático recuado na extremidade oposta à estipe, revelando a presença de endotúnica e no centro com um asco, abortivo e/ou em formação; 24.4 - asco com 2 ascósporos liberando-se pela estipe; 24.5 - ascósporos de aspecto filiforme e extremidades afiladas; 24.6 - observa-se nesse ascósporo o grande número de septos formados, podem-se contar pelo menos 13 septos.

A maioria dos ascos observados nos cruzamentos tinham menos que 8 ascósporos.

Os trabalhos de KURIBAYASHI (1929), ITO & KURIBAYASHI (1931), TINLINE, SALLANS & SIMMONDS (1949), TINLINE (1951), TINLINE (1953), SHOEMAKER (1955), HRUSHOVETZ (1956a), TINLINE & DICKSON (1958) que tratam da reprodução sexuada do *C. sativus*, são confirmados plenamente pelo presente trabalho. Em relação à morfologia, apesar de não se ter entrado em maiores detalhes, os resultados apresentados no presente estudo são semelhantes aos dos autores acima citados. Destaca-se a origem materna do ascocarpo quando do pareamento de isolados selvagens e albinos pela formação de ascocarpos brancos e pretos. Essa mesma característica observada acima reforça o chamado hermafroditismo ou bissexualidade do *C. sativus*.

Outro fator a destacar é a grande variabilidade encontrada nos cruzamentos em relação ao número de asco-

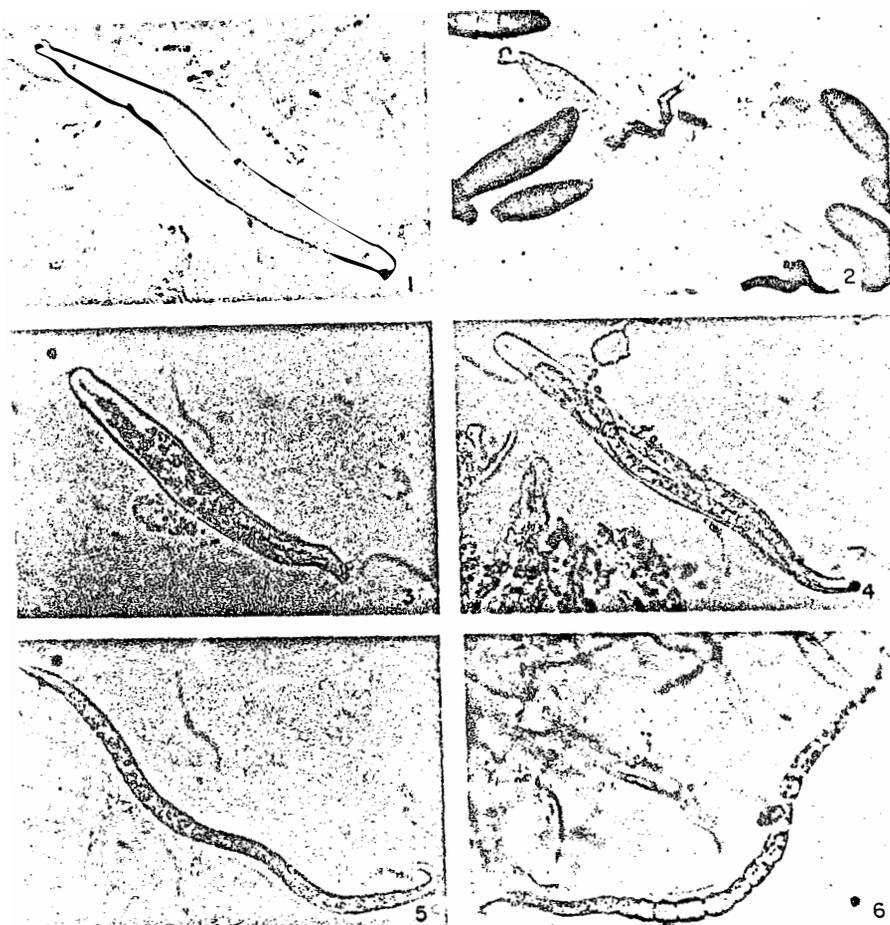


FIGURA 24. Fotos de Ascos e Ascósporos de *C. sativus* (II) (Fotos ao microscópio ótico com aumento de 400x).

carpos formados, assim como ao número de ascos encontrados nos pseudotécios e o número de ascósporos nos ascos (estes variando de 0 a 8), que infelizmente não foram quantificados neste trabalho. Esta variabilidade do número de ascósporos nos ascos é também relatada por SOLANGI (1975).

#### 4.3.2 - Compatibilidade Sexual dos Isolados de *Cochliobolus sativus*

Os 62 isolados brasileiros de *C. sativus* foram pareados com os 4 isolados padrão testadores MAT-1 (A20 e K3) e MAT-2 (A18 e J1-15), tendo-se verificado serem 50% isolados MAT-1 e 50% MAT-2, conforme apresenta a Figura 25.

As dificuldades de cruzamento entre isolados de compatibilidade sexual opostas já se apresentaram nessa determinação da compatibilidade sexual da amostra de *C. sativus* estudada no presente trabalho.

Verifica-se que os isolados MAT-2 testadores têm fertilidade mais alta, pois com cerca de, no máximo, 2 pareamentos foi possível estabelecer a compatibilidade sexual de 83,86% dos isolados brasileiros. Já com os testadores MAT-1 apenas 51,61% tiveram sua determinação de compatibilidade sexual realizada dessa maneira.

Os casos de não surgimento de ascos e/ou ascósporos, mesmo após várias repetições dos pareamentos, ocorreram principalmente nos pareamentos com o MAT-2 testador A18 como o atestam na Figura 25, os pareamentos de A18 com

Isolados presente trabalho	Isolados Testadores					MAT	Isolados presente trabalho	Isolados Testadores					MAT		
	A 18 MAT 2	J1-15 MAT 2	A 20 MAT 1	K 3 MAT 1	MAT			A 18 MAT 2	J1-15 MAT 2	A 20 MAT 1	K 3 MAT 1	MAT			
34/80	▲	▲	●	○		52/80	●	●	△	▲	○	●	○		2
45/80	○	▲	●	○		20/81	●	●	▲	●	○	●	○		2
02/81	▲	▲	●	●		39/82	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
13/81	○	●	▲	○		51/82	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
27/81	▲	▲	●	●		57/82	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
28/81	▲	▲	●	●		86/82	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
58/82	○	○	▲	●		101/82	○	●	●	▲	○	▲	○		2
67/82	▲	▲	●	●		109/82	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
76/82	▲	▲	●	●		31/83	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
89/82	▲	▲	●	○		57/83	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
98/82	▲	▲	●	●		62/83	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
70/83	▲	▲	●	●		74/83	●	○	▲	▲	●	▲	●		2
79/83	▲	▲	○	●		77/83	●	○	▲	▲	●	▲	●		2
118/84	▲	▲	○	○		33/84	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
120/84	▲	▲	●	●		39/84	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
221/84	▲	▲	●	●		42/84	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
1001	▲	▲	●	●		43/84	○	●	▲	▲	●	▲	●		2
1004	○	●	▲	○		44/84	○	●	▲	▲	●	▲	●		2
1006	▲	▲	●	●		87/84	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
1008	○	▲	●	○		121/84	○	●	▲	▲	●	▲	●		2
1009	○	▲	●	○		222/84	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
1014	▲	▲	●	○		1002	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
1015	▲	▲	●	○		1003	○	●	▲	▲	●	▲	●		2
12 OPR	▲	▲	●	●		1005	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
16 OPR	▲	▲	●	●		1007	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
18 OPR	▲	▲	●	●		1010	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
19 OPR	○	●	▲	○		1012	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
23 OPR	○	●	▲	○		1013	●	○	▲	▲	●	▲	●		2
24 OPR	▲	▲	●	●		1016	●	○	▲	▲	●	▲	●		2
25 OPR	▲	▲	●	○		14 OPR	●	●	▲	▲	●	▲	●		2
D/85	▲	▲	●	●		20 OPR	●	●	▲	▲	●	▲	●		2

○ sem ascocarpo    △ com ascos    ● com ascocarpo    ▲ com ascósporos

Obs: símbolos menores indicam resultados de cruzamentos anteriores

FIGURA 25. Quadro da Reação de Compatibilidade Sexual dos Isolados Brasileiros de *C. sativus* quando do Pareamento com os Isolados Padrão Testadores Canadenses.

os isolados 13/81, 58/82, 1004, 1009, 19 OPR e 23 OPR. Já em relação ao testador MAT-1 K3, houve apenas 2 insucessos, o dos pareamentos com os isolados 52/80 e 20/81 e com o MAT-1 A20 apenas com o isolado 101/82.

As repetições dos pareamentos 20/81 x K3 e 101/82 x A20 foram realizados mais 3 vezes, no entanto houve problemas de contaminação do material e de avaria de equipamento, não possibilitando resultados satisfatórios. O mesmo ocorreu com o pareamento 23 OPR x A18. Devido ao longo tempo de incubação para o cruzamento e o tempo hábil de término da tese, não houve possibilidade de repetir esses três pareamentos.

Utilizando-se os dados para determinação de compatibilidade sexual dos isolados de *C. sativus* com os 4 isolados padrão testadores, pode-se observar na Tabela 22, que, considerando-se até 5 pareamentos necessários para obtenção de ascos e ascósporos em alguns cruzamentos, o nível de fertilidade de todas as combinações possíveis é de 92,74%. Ressalta-se que os isolados padrão testadores MAT-1 tem alta fertilidade, pois os isolados A 20 e K3, já no primeiro pareamento apresentaram 83,87% e 77,42% de produção de ascos e ascósporos, respectivamente. Já o isolado MAT-2 A18 apesar de uma fertilidade total de 80,65% necessitou de pareamentos repetidos até 3 vezes para alcançar um nível de fertilidade de 70,97%. Por outro lado, com o primeiro pareamento, o MAT-2 J1-15 obteve 67,74% e com pareamentos repetidos até 3 vezes produziu ascos e ascósporos com todos os 31 isolados

TABELA 22. Freqüência de Fertilidade - Produção de Ascós e Ascósporos -- dos Isolados Padrão Testadores MAT-1 e MAT-2 de *C. sativus* em Todas Combinações Possíveis com os Isolados Brasileiros (em um total de até 5 pareamentos).

Número de pa- reamentos rea- lizados até a obtenção de ascos com as- cósporos	Frequência de Fertilidade dos Isolados Padrão Testadores													
	MAT-1						MAT-2						TOTAL	
	A 20	K3	Total	A 18	J1-15	Total	A 18	J1-15	Total	Abs.	Rel.	Abs.		Rel.
01	26	0,8387	24	0,7742	50	0,8065	04	0,1290	21	0,6774	25	0,4032	75	0,6048
02	02	0,0645	04	0,1290	06	0,0968	13	0,4194	08	0,2581	21	0,3387	27	0,2177
03	01	0,0323	01	0,0323	02	0,0323	05	0,1613	02	0,0645	07	0,1129	09	0,0726
04	01	0,0323			01	0,0161	01	0,0323			01	0,0161	02	0,0161
05							02	0,0645			02	0,0323	02	0,0161
Total	30	0,9678	29	0,9355	59	0,9517	25	0,8065	31	1,0000	56	0,9032	115	0,9274

Abs. = absoluta

Rel. = relativa

- Cada isolado padrão testador (MAT-1 e MAT-2) foi pareado com 31 isolados de compatibilidade sexual oposta.

brasileiros MAT-1 com quem foi pareado.

O fato de ter-se encontrado 50% de isolados brasileiros MAT-1 e 50% MAT-2 confirma os dados encontrados por TINLINE (1951) - 46,15% MAT-1 e 53,85% MAT-2, KLINE & NELSON (1968) - 53,40% de MAT-1 e 46,60% de MAT-2 e por HARDING & TINLINE (1983) em sua população ao acaso 50,77% MAT-1 e 49,23% MAT-2. Já na população de campo único, HARDING & TINLINE (1983) encontraram 38,78% de MAT-1 e 61,22% de MAT-2.

No presente trabalho realizaram-se 12 pareamentos de isolados de compatibilidade semelhante, com 2 repetições, os resultados foram os seguintes:

- pareamentos MAT-1 x MAT-1: 89/82 x 27/81 = sem ascocarpo; 27/81 x 12 OPR = sem ascocarpo; 89/82 x 28/81 = sem ascocarpo; 89/82 x 12 OPR = com prototécio; 27/81 x 28/81 = com prototécio; 28/81 x 12 OPR = com prototécio;

- pareamentos MAT-2 x MAT2: 1013 x 86/82 = sem ascocarpo; 1013 x 42/84 = com prototécio; 42/84 x 87/84 = com prototécio; 1013 x 87/84 = sem ascocarpo; 86/82 x 44/84 = com prototécio; 86/82 x 87/84 = com prototécio.

Outro experimento realizado no presente estudo foi colocar isolados únicos em material para cruzamento (6 tentativas). Destes, 4 não formaram ascocarpo, mas 2 apresentaram prototécio. Com esses testes comprova-se também o heterotalismo de *C. sativus* e a sua auto-esterilidade.

JONES (1971) publica também a caracterização de 50% de *C. sativus* australianos no grupo MAT-1 e 50% MAT-2. Esse trabalho é, no entanto, baseado apenas na presença ou

ausência de peritécio, o autor não verifica a presença de ascos e ascósporos. Esse estudo perde a validade no momento em que se sabe que prototécios muito semelhantes a pseudotécios (chamados de peritécios por Jones) podem ser formados apenas por tecido materno tanto em cruzamentos de isolados de mesma compatibilidade como isolado único em material preparado para cruzamento. Esse fato já havia sido relatado por TINLINE (1951) e SHOEMAKER (1955), e confirmado nos dados apresentados anteriormente no presente trabalho.

JONES (1971) relata que 3 dos cruzamentos de albinos com selvagens só produziram peritécios brancos. Se não houver uma quantidade semelhante de conídios de ambas as linhagens, no caso albinos e selvagens, nas suspensões que serão misturadas para o cruzamento, o resultado poderá não ser o esperado. No caso do trabalho em questão, o autor não contou o número de conídios albinos e selvagens de cada suspensão, mas as ajustou para igual opacidade. Como os conídios albinos são hialinos, a quantidade dos mesmos para igualar a opacidade da suspensão de selvagens deve ter sido maior que a destes últimos, o que pode explicar o aparecimento de peritécios brancos e o não de pretos.

Ao publicar seu trabalho sobre o estágio perfeito de *C. sativus*, TINLINE (1951) relata a mudança morfológica do isolado 19 após muitos meses e que o mesmo perdeu sua capacidade de formar primórdios de peritécio em cultura simples. No entanto, formava peritécios com isolados de grupos de compatibilidade oposta. O autor sugere que o isolado

19 original era hermafrodita e que o mutante perdeu sua capacidade de desenvolver primórdios de peritécios, isto é, a feminilidade, mas reteve o fator masculinidade. Estudos posteriores mostraram ser esta uma mutação verdadeira.

SHOEMAKER (1955) já cita, em seu trabalho sobre biologia, citologia e taxonomia de *C. sativus*, isolados com problemas de fertilidade. Descreve os isolados 104 c e 104 d, que produzem prototécios irregularmente e só puderam ser classificados para compatibilidade sexual pela presença ou ausência de ascos, pois não formavam ascósporos. Cruzamentos desses dois isolados com isolados albinos compatíveis resultou na formação de pseudotécios albinos com ascos. Não houve formação de pseudotécios ou prototécios pretos. Esses dois isolados foram os menos férteis da amostra. Os isolados 18, 1046, 104 e T6 formavam regularmente ascos e ascósporos numerosos.

Ao determinar a compatibilidade sexual dos isolados brasileiros com os testadores padrão canadenses, encontramos alguns casos semelhantes, já ressaltados anteriormente na Figura 25, em que o isolado brasileiro produziu ascos com ascósporos com apenas um dos isolados testadores de compatibilidade oposta. Foram os isolados 13/81, 58/82, 1004, 1009, 19 OPR e 23 OPR da série MAT-1 e 52/80, 20/81 e 101/82 da série MAT-2.

TINLIE & DICKSON (1958) ao descreverem o desenvolvimento do peritécio e a herança de cor de esporo e de compatibilidade sexual, citam alguns isolados monoascospóri-

cos que mostram fertilidade tanto inter como intragrupo, isto é, reagem com ambos os isolados testadores de compatibilidade sexual oposta e com alguns isolados de mesma compatibilidade. As reações intragrupo ocorreram mais frequentemente com os testadores de conídios brancos e raramente com os de conídios pretos. Não encontraram isolados homotáticos. Postulam a possibilidade de fatores que não os de compatibilidade sexual condicionando o heterotalismo no fungo. Como esses isolados com fertilidade intragrupo se originaram de cruzamento entre linhagens irradiada e mutante espontâneo e uma linhagem não tratada, provavelmente tenha também ocorrido mutação na compatibilidade sexual e foi transmitida para uma parte da progênie.

Por não ter-se feito muitos cruzamentos entre isolados de mesma compatibilidade sexual, não podemos afirmar que na presente amostra não possam existir isolados férteis intragrupo. Os cruzamentos intragrupo realizados estão citados anteriormente neste mesmo item.

#### 4.3.3 - Fertilidade dos Isolados Brasileiros de *C. sativus*

##### 4.3.3.1 - Pareamentos MAT-1 x MAT-2

A fim de verificar a fertilidade dos isolados de *C. sativus* utilizados no presente trabalho, foram pareados em todas as combinações possíveis 27 dos 31 isolados MAT-2 e 26 dos 31 isolados MAT-1.

Como descrito no capítulo de Material e Métodos e como realizado para a determinação da compatibilidade sexual dos isolados brasileiros, aqueles pareamentos que não resultaram em ascos com ascósporos foram repetidos. Nesse caso do estudo de fertilidade ocorreu um máximo de até 4 repetições. Esses pareamentos estão especificados nos quadros das Figuras 26, 27, 28 e 29, sendo que o quadro da Figura 30 mostra os resultados gerais obtidos nos pareamentos representados nos quadros citados anteriormente.

Como pode ser verificado nos quadros das Figuras 26 a 29, os resultados não são constantes, como por exemplo, os pareamentos:

- 1012 x 23 OPR: 1º pareamento formou pseudotécio com ascos vazios; 2º, 3º e 4º pareamentos, não ocorreram nem prototécios;
- 51/82 x 76/82: 1º pareamento com pseudotécios com ascos vazios; 2º, 3º e 4º pareamentos, ocorreram apenas prototécios;
- 1005 x 13/81: 1º pareamento com pseudotécio com ascos vazios; 2º pareamento sem prototécios; 3º pareamento com prototécios; 4º pareamento com pseudotécios com ascos vazios.

Devido a esse tipo de inconstância nos resultados dos pareamentos que não produziram ascósporos, utilizou-se para o quadro geral da Figura 30 o estado de reprodução mais avançado que tenha ocorrido. Por exemplo, para os pareamentos 1012 x 23 OPR, 51/82 x 76/82 e 1005 x 13/81, citados anteriormente, foram classificados em pareamentos que

MAT. 1 MAT. 2	34/80	27/81	28/81	67/82	98/82	70/83	120/84	1001	1015	12 OPR	24 OPR	89/82	1006	18 OPR	221/84	118/84	76/82	1014	19 OPR	25 OPR	D/85	45/80	23 OPR	02/81	79/83	13/81
31/83	△	△	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	●	△	●	▲	▲	△	▲	▲	▲	▲
74/83	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	●	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●
33/84	●	▲	▲	△	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲
121/84	▲	▲	△	▲	▲	▲	△	●	▲	▲	△	▲	▲	△	▲	●	△	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲
1002	●	▲	▲	●	▲	▲	▲	●	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△
1007	△	▲	▲	▲	▲	●	●	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	●	▲
1010	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	△
1016	●	▲	▲	▲	△	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	△	△	▲	○	▲	▲	●	△	△
14 OPR	●	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲	○	▲
20 OPR	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲	○	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲	●
86/82	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
109/82	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	△	△	●	▲	△	●	▲	●	▲	▲	▲
57/83	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	△	△	▲	●	●	○	△	▲	▲	○	▲	△	▲
77/83	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	○	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	●	●	▲	▲	▲	▲	▲	○	○	●
42/84	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲
43/84	△	▲	●	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	△	●	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	●
87/84	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
1013	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
1012	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲
44/84	▲	△	▲	▲	▲	▲	▲	●	●	▲	△	▲	●	▲	△	●	▲	▲	●	▲	●	●	△	▲	▲	▲
222/84	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	●	▲	△	▲	●	▲	▲	▲	▲	●	▲	△
62/83	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	●	▲	▲	△	△	●	●	▲	●	▲	△	▲
57/82	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	△	●	▲
1003	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲	▲	△	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	△	△	▲
1005	△	▲	▲	△	▲	▲	●	△	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	●	●	▲	▲	▲	▲	▲	●	●	△	△
20/81	▲	▲	▲	▲	●	▲	●	▲	△	▲	▲	△	▲	▲	●	●	▲	▲	▲	▲	▲	○	●	▲	▲	●
51/82	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	●	●	▲	△	●	○	●	●	○	▲	●	●	

○ sem ascocarpo   ● com ascocarpo   △ com ascos   ▲ com ascósporos

FIGURA 26. Quadro dos Resultados do 1º Pareamento entre os Isolados de *C. sativus* MAT-1 e MAT-2 em Todas as Combinações Possíveis.

MAT. 1 MAT. 2	34/80	27/81	28/81	67/82	98/82	70/83	120/84	1001	1015	12 OPR	24 OPR	89/82	1006	18 OPR	221/84	118/84	76/82	1014	19 OPR	25 OPR	D/85	45/80	23 OPR	02/81	79/83	13/81
31/83	○	○				○										○	○	△	●			○				
74/83						▲									▲	▲										○
33/84	▲			▲																				●		
121/84		○				▲	▲			▲			▲		▲	▲								○		
1002	▲			▲				●		○																○
1007	▲					▲	▲			▲							▲					○		○		
1010					▲					▲														▲		○
1016	▲			○			▲										▲	▲	▲		○			○	▲	○
14 OPR	▲					▲															●				▲	
20 OPR												▲				●					●				▲	○
86/82																▲										
109/82																▲	▲	▲	▲		▲	▲		▲		
57/83										○	○	▲			○	▲	▲	○	○				○	○	○	
77/83								▲								▲	▲	▲						○	▲	○
42/84																								▲		
43/84	▲		○		▲					▲	▲				○					●			○			○
87/84																		▲								
1013																									▲	
1012										▲							▲							○		
44/84	▲						▲	▲		▲			▲		▲	▲			▲		●	○	▲			
222/84					○							▲			●		▲			▲			▲	▲	▲	○
62/83												▲	○					△	●	▲	○		○	○	○	
57/82															●			▲						●	●	
1003						○				○								○						○	●	
1005	▲			▲		▲	●			▲					○	▲						○	▲	○	●	○
20/81				○		▲		○			▲				●	●					●	○	○			○
51/82												▲	▲	▲			●	●	●	●	○	○	○	○	○	○

FIGURA 27. Quadro dos Resultados do 2º Pareamento entre os Isolados *C. sativus* MAT-1 e MAT-2 que Não Resultaram em Ascospores com Ascospores no 1º Pareamento. (Os espaços em branco indicam pareamentos que já apresentaram ascospores e ascospores).

MAT. 1 MAT. 2	34/80	27/81	28/81	67/82	98/82	70/83	120/84	1001	1015	12 OPR	24 OPR	89/82	1006	18 OPR	221/84	118/84	76/82	1014	19 OPR	25 OPR	D/85	45/80	23 OPR	02/81	79/83	13/81	
31/83	▲	▲					▲									▲	○	▲	▲			▲					
74/83																											▲
33/84																									▲		
121/84			▲																						▲		
1002								▲			●																△
1007																							●		▲		
1010																											▲
1016						▲																▲			●		▲
14 OPR																					▲						
20 OPR																▲						▲					▲
86/82																											
109/82																											
57/83													▲	▲			▲		▲	▲				▲		▲	
77/83																									▲		▲
42/84																											▲
43/84			▲												●				▲				▲				▲
87/84																											
1013																											
1012																									○		
44/84																						●	○				
222/84						▲									●												●
62/83															●			▲	▲			▲		▲		○	
57/82															●									△	○		
1003							▲				▲								▲						●	●	
1005								▲								▲							●		●	●	●
20/81						▲			▲						●	○						△	▲	○			○
51/82																	●	●	○	●	●	○	○			●	●

○ sem ascocarpo   ● com ascocarpo   △ com ascas   ▲ com ascósporos

FIGURA 28. Quadros dos Resultados do 3º Pareamento entre os Isolados de *C. sativus* MAT-1 e MAT-2 que Não Resultaram em Ascas com Ascósporos no 2º Pareamento. (Os espaços em branco indicam pareamentos que já apresentaram ascas com ascósporos).

MAT. 1 MAT. 2	34/80	27/81	28/81	67/82	98/82	70/83	120/84	1001	1015	12 OPR	24 OPR	89/82	1006	18 OPR	221/84	118/84	76/82	1014	19 OPR	25 OPR	D/85	45/80	23 OPR	02/81	79/83	13/81	
31/83																	▲										
74/83																											
33/84																											
121/84																											
1002											▲																▲
1007																							▲				
1010																											
1016																									▲		
14 OPR																											
20 OPR																											
86/82																											
109/82																											
57/83																											
77/83																											
42/84																											
43/84																▲											
87/84																											
1013																											
1012																								○			
44/84																						○	▲				
222/84															○												▲
62/83															▲											○	
57/82															▲									▲	△		
1003																									○	○	
1005																							●		○	▲	△
20/81															▲	○						▲		○			○
51/82																	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

○ sem ascocarpo   ● com ascocarpo   △ com ascos   ▲ com ascósporos

FIGURA 29. Quadro dos Resultados do 4º Pareamento entre os Isolados de *C. sativus* MAT-1 e MAT-2 que Não Resultaram em Ascos com Ascósporos no 3º pareamento. (Os espaços em branco indicam pareamentos que já resultaram em ascos com ascósporos).

MAT 1 \ MAT 2	34/80	27/81	28/81	67/82	98/82	70/83	120/84	1001	1015	12 OPR	24 OPR	89/82	1006	18 OPR	221/84	118/84	76/82	1014	19 OPR	25 OPR	D/85	45/80	23 OPR	02/81	79/83	13/81
31/83	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
74/83	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
33/84	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
121/84	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
1002	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
1007	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
1010	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
1016	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
14 OPR	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
20 OPR	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
86/82	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
109/82	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
57/83	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
77/83	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
42/84	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
43/84	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
87/84	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
1013	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
1012	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△	▲	▲
44/84	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲
222/84	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
62/83	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	△
57/82	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
1003	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
1005	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	●	▲	▲	▲
20/81	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲
51/82	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲

○ sem ascocarpo   ● com ascocarpo   △ com ascos   ▲ com ascósporos

FIGURA 30. Quadro Geral dos Resultados Pareamentos entre os Isolados de *C. sativus* MAT-1 e MAT-2 em Todas as Combinações Possíveis, Considerando os Resultados dos 4 Pareamentos.

formaram ascocarpo e ascos.

Dos 22 pareamentos que não resultaram férteis, verifica-se que 7 têm capacidade de formação de pseudotécio com ascos e 15 conseguem formar ascocarpos.

Na presente amostra não se observou pareamento que, apesar de uma ou outra vez não produzir prototécio, não o tenha conseguido fazer em pelo menos uma das repetições, como é, por exemplo, o caso dos pareamentos 51/82 x 45/80, 20/81 x 45/80 ou 1005 x 02/81.

As Tabelas 23 e 24 apresentam, respectivamente, a fertilidade individual dos isolados MAT-1 e MAT-2, assim como suas frequências acumuladas ao longo dos 4 pareamentos, quando necessários, e a frequência geral por pareamento.

De modo geral, em ambas as tabelas, verificamos que já no 1º pareamento, onde foram realizadas todas as 702 combinações MAT-1 x MAT-2 possíveis, o nível de fertilidade foi de 76,21%.

No 2º pareamento foram repetidos 167 combinações, das quais 84 produziram ascos e ascósporos. Considerando este 2º pareamento como único, o nível de fertilidade é de 50,30%. No entanto, considerando-o no cômputo geral das 702 combinações, teremos uma frequência relativa de 11,96%, que acumulada com o resultado anterior eleva o nível para 88,17%.

No 3º pareamento foram repetidas 83 combinações, das quais 47 produziram ascos com ascósporos. Individualmente o nível de fertilidade seria de 56,63%. Considera-

TABELA 23. Freqüência de Fertilidade - Produção de Ascospores com Ascósporos - dos Isolados MAT-1 de *C. sativus*, em Todas Combinações Possíveis com os MAT-2, nos 4 Pareamentos.

ISOLADOS MAT-1	RESULTADOS PAREAMENTOS, COM 27 ISOLADOS MAT-2, COM ASCOS E ASCÓSPOROS													
	1º Pareamento		2º Pareamento		3º Pareamento		4º Pareamento		Total sobre 702					
	Absoluta	Relativa	Absoluta	Relativa	Absoluta	Relativa	Absoluta	Relativa	Absoluta	Relativa				
12 OPR	27	1,0000	1,000								27	0,0385		
70/83	26	0,9630	0,9630	01	0,0370	1,0000					27	0,0385		
89/82	25	0,9259	0,9259	02	0,0741	1,0000					27	0,0385		
67/82	24	0,8889	0,8889	03	0,1111	1,0000					27	0,0385		
27/81	25	0,9259	0,9259	01	0,0370	0,9629	01	0,0370	1,0000		27	0,0385		
28/81	25	0,9259	0,9259	00	0,0000	0,9259	02	0,0741	1,0000		27	0,0385		
1015	24	0,8889	0,8889	02	0,0741	0,9630	01	0,0370	1,0000		27	0,0385		
18 OPR	23	0,8519	0,8519	03	0,1111	0,9630	01	0,0370	1,0000		27	0,0385		
98/82	22	0,8148	0,8148	02	0,0741	0,8889	03	0,1111	1,0000		27	0,0385		
1006	22	0,9148	0,8148	04	0,1482	0,9629	01	0,0370	1,0000		27	0,0385		
1001	22	0,8148	0,8148	03	0,1111	0,9259	02	0,0741	1,0000		27	0,0385		
34/80	19	0,7037	0,7037	07	0,2593	0,9630	01	0,0370	1,0000		27	0,0385		
120/84	19	0,7037	0,7037	06	0,2222	0,9259	02	0,0741	1,0000		27	0,0385		
24 OPR	18	0,6667	0,6667	07	0,2593	0,9260	01	0,0370	0,9630	01	0,0370	1,0000	27	0,0385
25 OPR	22	0,8148	0,8148	02	0,0741	0,8889	02	0,0741	0,9630	00	0,0000	0,9630	26	0,0370
19 OPR	19	0,7037	0,7037	03	0,1111	0,8148	04	0,1481	0,9629	00	0,0000	0,9629	26	0,0370
7682	17	0,6296	0,6296	07	0,2593	0,8889	01	0,0370	0,9259	01	0,0370	0,9629	26	0,0370
118/84	17	0,6296	0,6296	06	0,2222	0,8518	03	0,1111	0,9629	00	0,0000	0,9629	26	0,0370
1014	17	0,6296	0,6296	06	0,2222	0,8518	03	0,1111	0,9629	00	0,0000	0,9629	26	0,0370
221/84	16	0,5926	0,5926	06	0,2222	0,8148	00	0,0000	0,8148	04	0,1481	0,9629	26	0,0370
45/80	21	0,7778	0,7778	00	0,0000	0,7778	02	0,0741	0,8519	02	0,0741	0,9258	25	0,0356
D/85	20	0,7407	0,7407	01	0,0370	0,7777	03	0,1111	0,8888	01	0,0370	0,9258	25	0,0356
02/81	19	0,7037	0,7037	00	0,0000	0,7037	04	0,1481	0,8518	01	0,0370	0,8888	24	0,0341
79/83	16	0,5926	0,5926	06	0,2222	0,8148	01	0,0370	0,8518	01	0,0370	0,8888	24	0,0341
13/81	16	0,5926	0,5926	00	0,0000	0,5926	06	0,2222	0,8148	02	0,0741	0,8889	24	0,0341
23 OPR	14	0,5185	0,5185	06	0,2222	0,7407	03	0,1111	0,8518	01	0,0370	0,8888	24	0,0341
TOTAL:702	535	0,7621	0,7621	84	0,1196	0,8817	47	0,0670	0,9487	14	0,0199	0,9686	680	0,9686

TABELA 24. Freqüência de Fertilidade - Produção de Ascospores com Ascósporos - dos Isolados MAT-2 de *C. sativus* em Todas as Combinações Possíveis com os MAT-1, nos 4 Pareamentos.

ISOLADOS	RESULTADOS PAREAMENTOS, COM 26 ISOLADOS MAT-1, COM ASCOS E ASCOSPOROS														
	1º Pareamento			2º Pareamento			3º Pareamento			4º Pareamento			TOTAL SOBRE 702		
	Freqüência		Acumulada	Freqüência		Acumulada	Freqüência		Acumulada	Freqüência		Acumulada	Freqüência		Acumulada
	Absoluta	Relativa		Absoluta	Relativa		Absoluta	Relativa		Absoluta	Relativa		Absoluta	Relativa	
86/82	25	0,9615	0,9615	01	0,0385	1,0000								26	0,0370
87/84	25	0,9615	0,9615	01	0,0385	1,0000								26	0,0370
1013	25	0,9615	0,9615	01	0,0385	1,0000								26	0,0370
42/84	25	0,9615	0,9615	01	0,0385	1,0000								26	0,0370
109/82	19	0,7308	0,7308	07	0,2692	1,0000								26	0,0370
33/84	23	0,8846	0,8846	02	0,0769	0,9615	01	0,0385	1,0000					26	0,0370
74/83	22	0,8461	0,8461	03	0,1154	0,9616	01	0,0385	1,0000					26	0,0370
1010	22	0,8462	0,8462	03	0,1154	0,9616	01	0,0385	1,0000					26	0,0370
14 OPR	22	0,8462	0,8462	03	0,1154	0,9616	01	0,0385	1,0000					26	0,0370
20 OPR	21	0,8077	0,8077	02	0,0769	0,8846	03	0,1154	1,0000					26	0,0370
77/83	19	0,7308	0,7308	05	0,1923	0,9231	02	0,0769	1,0000					26	0,0370
121/84	18	0,6923	0,6923	06	0,2308	0,9231	02	0,0769	1,0000					26	0,0370
57/83	17	0,6538	0,6538	02	0,0769	0,7307	07	0,2692	1,0000					26	0,0370
1002	21	0,8077	0,8077	02	0,0769	0,8846	01	0,0385	0,9231	02	0,0769	1,0000		26	0,0370
1007	19	0,7308	0,7308	05	0,1923	0,9231	01	0,0385	0,9616	01	0,0385	1,0000		26	0,0370
31/83	18	0,6923	0,6923	00	0,0000	0,6923	07	0,2692	0,9615	01	0,0385	1,0000		26	0,0370
43/84	17	0,6538	0,6538	04	0,1538	0,8076	04	0,1538	0,9614	01	0,0385	1,0000		26	0,0370
1016	16	0,6154	0,6154	06	0,2308	0,8462	03	0,1154	0,9616	01	0,0385	1,0000		26	0,0370
1012	23	0,8846	0,8846	02	0,0769	0,9615	00	0,0000	0,9615	00	0,0000	0,9615	25	0,0356	
57/82	22	0,8462	0,8462	01	0,0385	0,8847	00	0,0000	0,8847	02	0,0769	0,9616	25	0,0356	
222/84	18	0,6923	0,6923	05	0,1923	0,8846	01	0,0385	0,9231	01	0,0385	0,9616	25	0,0356	
62/83	18	0,6923	0,6923	02	0,0769	0,7692	04	0,1538	0,9230	01	0,0385	0,9615	25	0,0356	
44/84	15	0,5769	0,5769	09	0,3462	0,9231	00	0,0000	0,9231	01	0,0385	0,9616	25	0,0356	
1003	21	0,8077	0,8077	00	0,0000	0,8077	03	0,1154	0,9231	00	0,0000	0,9231	24	0,0342	
20/81	16	0,6154	0,6154	02	0,0769	0,6923	03	0,1154	0,8077	02	0,0769	0,8846	23	0,0328	
1005	14	0,5385	0,5385	06	0,2308	0,7693	02	0,0769	0,8462	01	0,0385	0,8847	23	0,0328	
51/82	14	0,5385	0,5385	03	0,1154	0,6539	00	0,0000	0,6539	00	0,0000	0,6539	17	0,0242	
TOTAL/702	535	0,7621	0,7621	84	0,1196	0,8817	47	0,0670	0,9487	14	0,0199	0,9686	680	0,9686	

do no total de pareamentos possíveis é de 6,7%, o que dará um nível de fertilidade acumulado de 94,87%.

Já no 4º pareamento, foram repetidos 36, dos quais apenas 14 completaram a reprodução sexuada. Neste caso o nível individual de fertilidade é de 38,89%. No entanto, no total das combinações possíveis entre 26 MAT-1 e 27 MAT-2, a frequência relativa é de 1,99%, que acumulada com a dos resultados dos outros três pareamentos leva a um nível geral de fertilidade de 96,86%, ou seja, um total de 680 cruzamentos com reprodução completa sobre as 702 combinações possíveis.

Essas tabelas mostram também a frequência de fertilidade dos isolados individualmente. Assim, observa-se na Tabela 23 que, dos 26 isolados MAT-1, 14 (53,85%) produziram ascos e ascósporos com todos os 27 isolados MAT-2 pareados, sendo que o isolado 12 OPR o fez já no 1º pareamento e os isolados 70/83, 89/82 e 67/82 necessitaram de apenas mais uma repetição com 1, 2 e 3 isolados MAT-2, respectivamente, para obterem reprodução total com 100% dos isolados MAT-2.

Apenas 6 (23,08%) dos isolados não conseguiram cruzar com um dos isolados MAT-2, 2 (7,69%) e 3 (11,54%) não cruzaram, respectivamente, com 2 e 3 dos MAT-2.

A Tabela 24 mostra que dos 27 isolados MAT-2, 18 (66,67%) produziram ascos e ascósporos com todos os 26 isolados MAT-1, porém nenhum o conseguiu já no 1º pareamento. Os isolados 86/82, 87/84, 1013, 42/84 necessitaram de mais uma repetição com 1 isolado MAT-1. O isolado 109/82 ne-

cessitou parear com 7 isolados, no 2º cruzamento, ocorrendo então produção de ascos com ascósporos com todos.

Cinco isolados (18,52%) não conseguiram produzir ascos e ascósporos com 1 dos isolados MAT-1: 1 isolado (3,70%) não o fez com 2 MAT-2; 2 isolados (7,41%) não foram férteis com 3 isolados MAT-2, sendo que o isolado 51/82 foi o de menor grau de fertilidade de toda a amostra, pois não produziu ascos e ascósporos com 9 dos isolados opostos.

Dentre os isolados MAT-1, os 4 com menor grau individual de fertilidade foram os com 88,88% de sucesso reprodutivo (isolados 02/81, 79/83, 13/81 e 23 OPR).

Entre os MAT-2, com exceção do isolado 51/82 cujo grau de fertilidade individual foi de 65,39%, os 2 isolados com menor sucesso reprodutivo foram os com 88,46% (isolados 20/81 e 1005).

Os isolados MAT-1 13/81, 19 OPR e 23 OPR e o MAT-2 20/81, que produziram ascos com ascósporos com apenas 1 dos isolados padrão testadores de compatibilidade oposta tiveram níveis de fertilidade entre 88,88 e 96,29%.

KLINE & NELSON (1968) apresentam isolados chamados de fracos, intermediários e fortes em relação à fertilidade, resumo este já bem detalhado no item 2.6.2 da Introdução. Os autores, no entanto, não determinam quais as frequências que indicam estes tipos de isolados. É evidente que isolados com 4% de fertilidade devem ser de fertilidade fraca, mas qual o limite máximo dessa fertilidade fraca? É evidente também que os isolados com 81% a 90% de fertilidade

devem ser os fortes, mas qual o limite mínimo de fertilidade forte? E quais os limites da intermediária? Esse trabalho dá o nível de fertilidade por isolado, semelhante ao das tabelas 23 e 24 do presente trabalho, onde se verifica que os níveis de fertilidade dos isolados brasileiros são de 88,89% a 100,00% para os isolados MAT-1 e de 65,39% a 100,00% para MAT-2. No caso dos MAT-2 apenas 1 isolado apresentou 65,39% de fertilidade, os restantes tiveram 88,46% para mais. Se simplesmente fizermos uma divisão de 1/3 para cada tipo de fertilidade, citado pelos autores, as classes poderiam ser de 0 a 33,33% fertilidade fraca, de 33,34% a 66,67 intermediária e de 66,68% a 100,00% forte. Podemos, segundo eles, dizer que a população de *C. sativus* estudada, com exceção de 1 isolado MAT-2, é de fertilidade forte.

HOSFORD, SOLANGI & KIESLING (1975) relatam um mutante, cultivado de um setor branco (16M), que cruzado com o isolado 47 produziu uma progênie bastante numerosa. No entanto, essa progênie não apresentou fertilidade quando cruzada entre si nem com outros isolados férteis. Esses isolados derivados do cruzamento 16M x 47 parecem ser totalmente estéreis. Caso semelhante não foi encontrado na amostra do presente estudo.

Em 1983, HARDING & TINLINE estudaram duas populações de *C. sativus* para fertilidade diferencial. Este trabalho está também bem detalhado no item 2.6.2 da Introdução desta tese. Ao compararmos os dados desses autores com os do presente trabalho, verificamos diferenças bastante

grandes, apresentadas na Tabela 25.

TABELA 25. Resultados dos Pareamentos entre Isolados de *C. sativus* de Compatibilidade Sexual Oposta.

Autores	Ano	Resultados obtidos em percentagem (%)				
		Sem Pro- totécio	Com Pro- totécio	Com Asco	Com As- cóspero	
HARDING & TINLINE	1983	(A)	23,00	15,00	6,00	56,00
		(B)	32,00	19,00	1,50	48,00
Presente Trabalho	1989	zero	2,14	1,00	96,86	

A = população ao acaso

B = população de campo único

Também em relação ao trabalho dos autores acima citados, a amostra presente apresenta um nível bem mais elevado de fertilidade.

HOSFORD, SOLANGI & KIESLING (1975) descrevem que exames histológicos mostraram bloqueios genéticos no desenvolvimento sexual anterior à formação do crozier (pelo menos 3 genes), anterior à formação do asco e anterior à delimitação do ascósporo. Propõem fatores limitantes da reprodução sexuada, além dos de compatibilidade sexual. HARDING & TINLINE (1983) sugerem que pelo menos dois caracteres recessivos estão operando em *C. sativus*: um governando a formação do ascocarpo e outro controlando a formação do asco e ascósporos.

Os dados do presente estudo não possibilitam realizar a análise da genética da fertilidade de *C. sativus* a fim de confirmar ou refutar as hipóteses dos dois trabalhos acima citado.

#### 4.3.3.2 - Número de Ascocarpos Examinados por Pareamento

No presente trabalho foi postulada também variação nos níveis de fertilidade devido a diferenças técnicas. A maioria dos autores não cita o número de repetições de um pareamento em caso de fracasso, isto é, não produção de ascósporos, nem quantos pseudotécios são examinados por cruzamento. Talvez os únicos autores a detalharem um pouco mais foram HARDING & TINLINE (1983). Citam que cruzamentos que produziram ascósporos foram feitos apenas uma vez. Pareamentos que produziram somente prototécio ou não produziram ascocarpo foram repetidos uma vez e pareamentos com ascos vazios foram repetidos ao menos três vezes.

Em correspondência recebida do Dr. TINLINE<sup>7</sup> (1988), em resposta a perguntas feitas pela autora por mais detalhes técnicos, o mesmo diz não poder especificar o número de ascocarpos que deve ser examinado. Na determinação de compatibilidade sexual ele seleciona 2 a 6 ascocarpos típi-

---

<sup>7</sup> TINLINE, R.D. Carta de 16/12/88, Research Station, Saskatoon, Saskatchewan, Canadá.

cos que pareçam pseudotécios bem desenvolvidos e os examina em uma lâmina ao microscópio. Se não encontrar ascos e ascósporos, repete o processo mais 2 ou 3 vezes. Se esses também forem negativos, o cruzamento é repetido mais uma ou poucas vezes. Ele diz preferir repetir o cruzamento a examinar todos os ascocarpos produzidos, uma das razões é que muitos destes ascocarpos podem ser prototécios desenvolvidos pelo isolado dominante.

A variabilidade dos números de ascocarpos produzidos sobre, sob e ao redor das sementes de cevada preparadas para o pareamento de 2 isolados de compatibilidade oposta é muito grande. Encontra-se desde 1 ascocarpo apenas em uma das dez sementes utilizadas por placa de pareamento, até cerca de 200 corpos de frutificação espalhados pelas 10 sementes de cada placa. Mesmo entre as 10 sementes de cada placa, o número de ascocarpos é variável, de zero a dezenas.

Outro fator que chamou atenção foi o fato de que pareamentos com pequeno número de pseudotécios, muitas vezes nem bem desenvolvidos apresentaram ascos com ascósporos. Em outros com grande número de ascocarpos, com pseudotécios bem desenvolvidos não se encontravam ascos e/ou ascósporos.

Um dos fatores desta dificuldade de encontrar ascos e ascósporos, citado no item 3.3.3 de Material e Métodos, é o mascaramento dos ascos e ascósporos pelo material que preenche o pseudotécio - paráfises e pseudoparáfises. De-

vido a isso optou-se pelo método de microprensagem do material na tentativa de obter um melhor espalhamento do interior do corpo de frutificação.

O fato da ausência de ascos e ascósporos mesmo em pseudotécios bem desenvolvidos fez com que se examinassem todos os ascocarpos produzidos em cada pareamento. Cada lâmina feita com uma média de 6 ascocarpos (4 a 8) em 1 ou 2 gotas de água, sendo o material bem dilacerado e prensado.

A Tabela 26 apresenta a frequência de lâminas feitas por pareamento até a obtenção de asco com ascósporos nos 4 pareamentos realizados.

Com a produção de apenas uma lâmina, o nível de fertilidade da amostra seria em torno de 58,38%, se forem considerados apenas os 680 cruzamentos férteis produzidos no presente trabalho. Caso se considere os 702 pareamentos realizados, esta frequência seria cerca de 56,55%.

É evidente que quanto maior o número de lâminas examinadas e, portanto, maior o número de ascocarpos verificados, maior será a possibilidade de se encontrar pseudotécios férteis.

Pelos resultados deste trabalho, sugere-se o exame de pelo menos 5 lâminas, caso não haja possibilidade de esgotar o material, pois este número (cerca de 30 ascocarpos) já dá uma certeza de encontrar pelo menos cerca de 94% de pseudotécios com ascos e ascósporos.

Ao examinar todos os corpos de frutificação produzidos tem-se certeza da fertilidade ou infertilidade do

TABELA 26. Freqüência de Lâminas Feitas por Cruzamento de Isolados MAT-1 com MAT-2, de *C. sativus*, até a Obtenção de Asco com Ascósporos.

Número de lâminas com 4 a 8 pseudócitos	CRUZAMENTOS ENTRE ISOLADOS MAT-1 E MAT-2											
	1º CRUZAMENTO		2º CRUZAMENTO		3º CRUZAMENTO		4º CRUZAMENTO		TOTAL		TOTAL	
	Freqüência		Freqüência		Freqüência		Freqüência		Freqüência		Freqüência	
	Absoluta	Relativa	Absoluta	Relativa	Absoluta	Relativa	Absoluta	Relativa	Absoluta	Relativa	Relativa	Acumulada
01	269	0,5028	77	0,9167	38	0,8085	13	0,9286	397	0,5838		0,5838
02	138	0,2579	03	0,0357	05	0,1064	01	0,0714	147	0,2162		0,8000
03	43	0,0804	02	0,0238	02	0,0425			47	0,0691		0,8691
04	35	0,0654	02	0,0238					37	0,0544		0,9235
05	11	0,0206			01	0,0213			12	0,0177		0,9412
06	08	0,0150							08	0,0118		0,9530
07	07	0,0131							07	0,0103		0,9633
08	06	0,0112							06	0,0088		0,9721
09	10	0,0187			01	0,0213			11	0,0162		0,9883
10	03	0,0056							03	0,0044		0,9927
11												
12	02	0,0037							02	0,0029		0,9956
13												
14	02	0,0037							02	0,0029		0,9985
.												
.												
.												
.												
22	01	0,0019							01	0,0015		1,0000
Freqüência absoluta	535		84		47		14		680			
Freqüência relativa		0,7868		0,1235		0,0691		0,0206		1,0000		
Freqüência acumulada		0,7868		0,9103		0,9794		1,0000				

pareamento, pois detectar-se-ã . mesmo aqueles pareamentos que produzem ascos e ascocarpos com baixa freqüência.

Os resultados do presente trabalho mostram que a diferença na técnica de leitura dos pareamentos pode levar a diferenças nos níveis de fertilidade. Como demonstrado pelos quadros das Figuras 26, 27, 28, 29 e 30 e nas Tabelas 23 e 24 se os isolados forem pareados 1 vez o nível de fertilidade é um (no caso 76,21%). Se, no entanto, os pareamentos com resultados negativos forem realizados novamente, o nível de fertilidade aumentará, como o que foi encontrado no presente trabalho: com um 2º pareamento o nível de fertilidade elevou-se para 88,17%, no 3º pareamento foi para 94,87% e no 4º pareamento para 96,86%. Esse tipo de enfoque modifica também a fertilidade individual dos isolados como verificado nas Tabelas 23 e 24. Para MAT-1 no 1º pareamento os níveis individuais foram de 51,85% a 100,00%; já no 2º pareamento foi de 59,26% a 100,00%; no 3º de 81,48%, a 100,00% e no 4º de 88,88% a 100,00%. Para MAT-2 no 1º pareamento o nível foi de 53,85% a 96,15%; nos 2º, 3º e 4º pareamentos o isolado menos fértil permanece em 65,39%, mas os anteriores a ele em nível de fertilidade passam de 53,85% no 1º para 76,93%, 84,62% e 88,47% e o isolado com 61,54% no 1º pareamento passa para 69,23%, 80,77% e 88,46%, respectivamente, nos 2º, 3º e 4º cruzamentos, sendo que já no 2º pareamento ocorrem isolados com 100,00% de fertilidade.

Outro fator extrínseco que modifica o nível de fertilidade é o número de ascocarpos examinados. No presente

trabalho optou-se por examinar todos produzidos em cada pareamento, fazendo lâminas com 4 a 8 ascocarpos cada. A Tabela 26 mostra a freqüência de lâminas feitas por cruzamento até obtenção de ascos com ascósporos. Na tabela são considerados apenas os 680 cruzamentos que resultaram em ascósporos. Pode-se observar que a freqüência acumulada considerando os 4 cruzamentos eleva o nível de fertilidade total de 58,38% a 100,00%, se forem examinados todos os ascocarpos. Considerando-se os 702 pareamentos realmente realizados, as freqüências acumuladas serão: 1 lâmina = 56,55%; 2 lâminas = 77,49%; 3 lâminas = 84,19%; 4 lâminas = 89,46%; 5 lâminas = 91,17%; 6 lâminas = 92,31%; 7 lâminas = 93,30%; 8 lâminas = 94,16%; 9 lâminas = 95,73%; 10 lâminas = 96,15%; 12 lâminas = 96,44%; 14 lâminas = 96,72%; 22 lâminas = 96,,86%.

Além desses fatores extrínsecos não se pode deixar de pensar em alguma provável diferença genética entre os isolados brasileiros e os demais. Apesar de dados de outros autores mostrarem semelhanças entre isolados de diversas localidades geográficas, essa hipótese não pode ser descartada, principalmente pelo fato de existirem poucos trabalhos sobre fertilidade de *C. sativus*.

#### 4.4 - Considerações Gerais

*C. sativus* é um fungo de razoável importância econômica e que apresenta uma grande variabilidade tanto morfológica como fisiológica. Variabilidade esta que pode ter

várias origens tais como mutação, heterocariose, dissociação de heterocários, formação de diplóides através de ciclo parassexual, diplóides e haplóides recombinantes resultantes do ciclo parassexual, herança citoplasmática, herança plasmidial e elementos transponíveis.

Verificou-se através do presente trabalho que esta variabilidade dificulta tanto a distinção em grupos como com muito maior dificuldade a distinção de isolados individuais.

IBRAHIM & THRELFALL (1966) aplicaram o sistema de taxonomia numérica através de 223 caracteres unitários, para os quais foram calculados os coeficientes de similaridade e construídas as matrizes de similaridade e os dendogramas de 23 isolados diferentes de *Helminthosporium* de gramineas. Essa análise mostrou que o *H. sorokinianum* (= *H. sativum*) é um gênero claramente distinto dos outros isolados. Os autores o classificam como *Bipolaris*.

Em um resumo apresentado em 1982, DOSTALER et alii também citam a aplicação de taxonomia numérica para o estudo da variabilidade de *Bipolaris sorokiniana*. Utilizando análise de "clusters", análise de componentes principais (PCA) e análise discriminante, foram caracterizados 4 "Clusters". A análise discriminante baseada em caracteres morfológicos, fisiológicos e patológicos confirmou uma variação descontínua entre grupos nos 250 isolados estudados. Os caracteres que pesaram mais fortemente no primeiro componente (PCA) foram comprimento do conídio e septação em MM, crescimento ra-

dial em casaminoácidos (CA) e extrato de batata, micélio aéreo em CA, largura do conídio e crescimento radial em MM, tamanho do conídio em palha de trigo e comprimento e largura da lesão em folhas de trigo. As funções discriminantes desenvolveram 4 "clusters" classificando corretamente 86,4% dos indivíduos em seus próprios grupos. Análise discriminante para tipo de colônia em CA, junto com a variação para virulência, sugere que um gradiente de distribuição (hospedeiro, localidade) deve estar associado com a variabilidade genética descontínua observada em *B. sorokiniana*.

Em vista dos dados obtidos no presente trabalho e os de revisão bibliográfica, surgiram algumas sugestões:

1 - Tentar uniformizar, não só para *C. sativus*, como para outros fungos altamente variáveis, pelo menos um mínimo de condições ambientais que sejam observadas por todos os pesquisadores para que os diversos trabalhos possam ser melhor comparados. Tais como: 2 meios em comum (por exemplo BDA e Czapek), duas temperaturas em comum, dois tipos de fotoperíodo, tamanho da placa de Petri utilizada, maneira de estimar o crescimento da colônia, etc.

2 - Delinear estatisticamente os experimentos e, se possível, utilizar o maior número de características morfológicas, fisiológicas, patogênicas e genéticas para realizar análise multivariada.

3 - Avaliar mais detalhadamente os resultados dos pareamentos entre isolados de *C. sativus*. Observar todos

os pseudotécios produzidos ou pelo menos cerca de 30 a 40 por pareamento, assim como realizar até 4 a 5 repetições de um pareamento que não produziu ascósporos, com a finalidade de uma melhor estimativa da fertilidade desse fungo.

4 - Obter maior número de marcadores genéticos para estimular um melhor estudo da genética de *C. sativus*.

5 - Obter protoplastos de *C. sativus* com a finalidade de fusão e regeneração para estudos mais rápidos que não necessitem de reprodução sexuada, que é um processo demorado (cerca de 50 dias) ou a parassexual, que também é um processo bastante dificultoso.

## 5 - CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente trabalho e sua comparação com os da literatura revisada permitem concluir que:

1 - Em termos de morfologia a variabilidade de *C. sativus* atinge cor do emaranhado micelial, tipo de bordas da zona de crescimento, topografia e textura do micélio aéreo, presença de setores na colônia, ocorrência e tipo de zonação na colônia, crescimento em diâmetro da colônia, conidiação, tamanho dos conídios e número de septos dos mesmos. Esta variabilidade apresentada depende tanto do meio de cultura onde o fungo é cultivado como do próprio isolado.

2 - A variabilidade morfológica e de crescimento apresentada pelos isolados brasileiros de *C. sativus* dificulta a diferenciação dos mesmos tanto individualmente como em grupos, no que se refere às características estudadas no presente trabalho e citadas no item 1 destas conclusões.

3 - Os isolados brasileiros de *C. sativus* apresentaram o tipo de compatibilidade sexual citado na literatura revisada, sendo 50% MAT-1 e 50% MAT-2.

4 - O nível de fertilidade dos isolados brasileiros de *C. sativus* é bastante alto. Apenas um número pe-

queno de pareamentos resultaram em ascos estéreis ou produziram apenas prototécios. A quase totalidade dos pareamentos entre os isolados de compatibilidade sexual oposta (96,86%) resultou em formação de ascos com ascósporos.

5 - Em relação ao estudo de fertilidade, as diferenças entre o presente trabalho e o de outros autores deve-se em grande parte à técnica de leitura do resultado dos pareamentos e do número de repetições de pareamentos com resultados negativos. Essas diferenças podem também ser de origem genética, mas essa hipótese não foi testada no presente trabalho.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AINSWORTH, G.C. Introduction and keys to higher taxa, In: AINSWORTH, G.C., SPARROW, F.K. & SUSSMAN, A.S., eds. *The Fungi*. New York, Academic Press, 1973. Vol. IV A, Cap. 1, p.1-7.
- AITA, L. Teste de resistência ou de tolerância de cultivares de linhagens de trigo à *Cochliobolus sativus*. (Ito & Kurib.) Drechs. ex Dastur (*Helminthosporium sativum* P.K. & B.). In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 11, Porto Alegre, RS, 1980, Sanidade. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1980. V.2, p.132-134.
- ATIA, L. Informações sobre a coleta de esporos de alguns fungos fitopatogênicos por amostragem do ar. *Fitopatologia Brasileira*, 8:377-379, 1983.
- AITA, L. & ARIAS, G. Pesquisa de fontes de resistência ou de tolerância à helmintosporiose (*Helminthosporium sativum* P.K. & B.) em cevada. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 11, Porto Alegre, RS, 1980, Sanidade. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1980. V.2, p.124-126.

- ALEXOPOULOS, C.J. & MIMS, C.W. *Introductory Mycology*. 3.ed. New York, John Wiley & Sons, 1979. cap. 19, Subclass Loculoascomycetidae, p.393-413
- AZEVEDO, J.L. & COSTA, S.O.P. *Exercícios práticos de genética*. São Paulo, Cia. Ed. Nacional / Ed. Universidade de São Paulo, 1973.
- BARNETT, H.L. & HUNTER, B.B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 3.ed. Minneapolis, Burgess Publishing Company, 1972. 241p.
- BETTUCCI, L. & GUERRERO, R.T. *Hongos Xilofagos: estudio de cultivos*. Montevideo, Universidad de la República, Facultad de Agronomía, 1971. 40p. (Boletín nº 118).
- BIBLIOGRAFIA BRASILEIRA DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.). EMBRAPA-DID, CNPT, Passo Fundo, RS. 1981. V.1.
- BIBLIOGRAFIA BRASILEIRA DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.). EMBRAPA-DID, CNPT, Passo Fundo, RS. 1981. V.2.
- BOOSALIS, M.G. Precocious sporulation and longevity of conidia of *Helminthosporium sativum* in soil. *Phytopathology*, 52:1172-1177, 1962.
- CHIDAMBARAM, P.; MATHUR, S.B.; NEERGAARD, P. Identification of seed - borne *Drechslera* species. *Friesia*, 10:165-207, 1973.
- CHINN, S.H.F. & LEDINGHAM, R.J. Application of a new laboratory method for the determination of the survival of *Helminthosporium sativum* spores in soil. *Canadian Journal of Botany*, 36:289-295, 1958.

- CHINN, S.H.F. & TINLINE, R.D. Spore germinability in soil as an inherent character of *Cochliobolus sativus*. *Phytopathology*, 53:1109-1112, 1963.
- CHINN, S.H.F. & TINLINE, R.D. Inherent germinability and survival of spores of *Cochliobolus sativus*. *Phytopathology*, 54:349-352, 1964.
- CHRISTENSEN, J.J. Studies in the parasitism of *Helminthosporium sativum*. *Minnesota Agricultural Experimental Station Technical Bulletin*, 11:1-42, 1922.
- CHRISTENSEN, J.J. Physiologic specialization and mutation in *Helminthosporium sativum*. *Phytopathology*, 15:785-795, 1925.
- CHRISTENSEN, J.J. The influence of temperature on the frequency of mutation in *Helminthosporium sativum*. *Phytopathology*, 19:155-162, 1929.
- CHRISTENSEN, J.J. & DAVIES, F.R. Does heterokaryosis account for the production of variants in *Helminthosporium*. *Phytopathology*, 26:89, 1936. (Resumo).
- CHRISTENSEN, J.J. & DAVIES, F.R. Nature of variation in *Helminthosporium sativum*. *Mycologia*, 29:85-99, 1937.
- CHRISTENSEN, J.J. & DAVIES, F.R. Variation in *Helminthosporium sativum* induced by a toxic substance produced by *Bacillus mesentericus*. *Phytopathology*, 30:1017-1033, 1940.

- CHRISTENSEN, J.J. & SCHNEIDER, C.L. The effect of repeated passage of *Helminthosporium sativum* through the host on genetic variation and pathogenicity. *Phytopathology*, 38: 5, 1948. (Resumo).
- COSTA NETO, J.P. da. *Helminthosporiose do trigo*. Porto Alegre. Divulgação da Secção de Informações e Publicidade Agrícola da Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio, 1977.
- DICKSON, S. The nature of saltation in *Fusarium* and *Helminthosporium*. *Minnesota Agricultural Experimental Station Technical Bulletin*, 88:1-41, 1932.
- DIEHL, J.A. Common root rot of wheat in Brazil. *Plant Disease Reporter*, 63:1020-1022, 1979a.
- DIEHL, J.A. Influência de sistemas do cultivo sobre podridões de raízes de trigo. *Summa Phytopathologica*, 5:134-139, 1979b.
- DIEHL, J.A. Podridão comum de raízes: danos elevados à cultura do trigo. *Agroquímica Ciba-Geigy*, 14:4-7, 1980a.
- DIEHL, J.A. Podridão comum de raízes de trigo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 11, Porto Alegre, RS, 1980. Sanidade. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1980b. V.2, p.127-131
- DIEHL, J.A. *Doenças de raízes de trigo*. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1982a. 15p. (Circular Técnica, 3).
- DIEHL, J.A. Reação de cultivares de trigo à podridão comum de raízes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 17:1733-1735, 1982b.

- DIEHL, J.A. Reação das espécies de gramíneas à podridão comum de raízes causada por *Cochliobolus sativus*. *Fitopatologia Brasileira*, 8:9-12, 1983.
- DIEHL, J.A. Efeito do tratamento de sementes de trigo com fungicidas no controle de *Cochliobolus sativus* e *Phaeosphaeria nodorum*. *Fitopatologia Brasileira*, 12:181-184, 1987.
- DIEHL, J.A. & AITA, L. The reaction of wheat and *Triticale* cultivars to common root rot. *Fitopatologia Brasileira*, 5:369-371, 1980.
- DIEHL, J.A.; KOCHHANN, R.A.; ROVIRA, A.D.; SHIPTON, P.J.; TINLINE, R.D. Fungos associados à podridão comum de raízes de trigo no Rio Grande do Sul em 1979. *Fitopatologia Brasileira*, 6:574-575, 1981. (Resumo)
- DIEHL, J.A.; KOCHHANN, R.A.; TINLINE, R.D. Sistemas de cultivo sobre a podridão comum de raízes e mal do pé do trigo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 18:235-241, 1983a.
- DIEHL, J.A.; OLIVEIRA, M.A. de; IGARASHI, S.; REIS, E.M.; MEHTA, Y.R.; GOMES, L.S. Levantamento e ocorrência de doenças radiculares do trigo III. Paraná. *Fitopatologia Brasileira*, 9:179-188, 1984.
- DIHEL, J.A. & SONEGO, O.R. Levantamento da ocorrência de doenças radiculares do trigo II Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 18:37-40, 1983.

- DIEHL, J.A.; SOUZA, M.A. de; ROSA, A.P.M. da; ANDRADE, J.M. V. Doenças radiculares do trigo em Minas Gerais e Distrito Federal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 17:1627-1631, 1982a.
- DIEHL, J.A.; TINLINE, R.D.; KOCHHANN, R.A. Perdas em trigo causadas pela podridão comum de raízes no Rio Grande do Sul 1979-1981. *Fitopatologia Brasileira*, 8:507-511, 1983b.
- DIEHL, J.A.; TINLINE, R.D.; KOCHHANN, R.A.; SHIPTON, P.J.; ROVIRA, A.D. The effect of fallow periods on common root rot of wheat in Rio Grande do Sul, Brazil. *Phytopathology*, 72:1297-1301, 1982b.
- DOSDALL, L. & CHRISTENSEN, J.J. Variations in the length of spores of *Helminthosporium sativum* P.K. & B. under different conditions of growth. *Phytopathology*, 13:50, 1923. (Resumo)
- DOSTALER, D.; HARDING, H.; SHEARD, J.W.; MORRALL, R.A.A. Application of methods of numerical taxonomy to the study of the variability in *Biopolaris sorokiniana*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 4:305, 1982. (Resumo)
- DRECHSLER, C. Some graminicolous species of *Helminthosporium* I. *Journal Agricultural Research*, 24:641-740, 1923.
- DRECHSLER, C. Phytopathological and taxonomic aspects of *Ophiobolus*, *Pyrenophora*, *Helminthosporium* and a new genus *Cochliobolus*. *Phytopathology*, 24:953-983, 1934.

- ELLIOT, E.S. The effect of sugar concentration on conidial size of some species of *Helminthosporium*. *Phytopathology*, 39:953-958, 1949.
- ELLIS, M.B. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew, Commonwealth Mycological Institute. 1971. 608p.
- EMBRAPA-CNPT. *Avaliação dos impactos sociais e econômicos das tecnologias geradas pelo Centro Nacional da Pesquisa de Trigo (1987)*. Passo Fundo, RS, EMBRAPA-CNPT. 1987. (Documentos, 3).
- FULCO, W.S. Reações de linhagens de trigo em fase inicial de experimentação, da Secretaria da Agricultura, à fusariose (*Gibberella zeae*), à helmintosporiose (*Helminthosporium sativum*) e ao oídio (*Erisiphe graminis tritici*). In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 12, Cascavel, Paraná, 1982. *Resumos e Comunicados Técnicos*, Cascavel, OCEPAR, 1982a. p.96.
- FULCO, W.S. Reações de linhagens de trigo em fase inicial de experimentação, da Secretaria da Agricultura, à fusariose (*Gibberella zeae*), à helmintosporiose (*Helminthosporium sativum*) e ao oídio (*Erisiphe graminis tritici*). *Agronomia Sulriograndense*, 18:3-9, 1982b.
- GILCHRIST, S.L.; FUENTES, F.S.; BAUER, M.L.I. Identificación de *Helminthosporium tritici-repentis* (= *Pyrenophora tritici-repentis*) agente causal de un tizon de la hoja de trigo en México. *Agrociencia*, 56:151-162, 1984.

- GOULART, A.C.P. Eficiência de três fungicidas no tratamento de sementes de trigo (*Triticum aestivum*) visando o controle do fungo *Helminthosporium sativum*. *Summa Phytopathologica*, 14:38, 1988. (Resumo).
- HALL, J.A. & SIVANESAN, A. *Cochliobolus* state of *Curvularia cymbopogonis*. *Transactions of British Mycological Society*, 59:314-317, 1972.
- HARDING, H. Effect of D-amino-acids on conidium size and numbers of pseudosepta per conidium in isolates of *Bipolaris sorokiniana*. *Canadian Journal of Botany*, 53:600-603, 1975a.
- HARDING, H. Effect of pH and sucrose concentration of conidium size and septations in four *Bipolaris* species. *Canadian Journal of Botany*, 53:1457-1464, 1975b.
- HARDING, H. *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drechs. ex Dastur (imperfect stage: *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoem.): a bibliography. Research Station. Research Branch, Agriculture, Saskatoon, Canada. 1980.
- HARDING, H. *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drechs. ex Dastur (imperfect stage: *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoem.): a bibliography. Supplement number one. Research Branch, Agriculture, Canada. 1981.
- HARDING, H. *Cochliobolus sativus*. (Ito & Kurib.) Drechs. ex Dastur (imperfect stage: *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoem.): a bibliography. Supplement number two. Research Branch, Agriculture, Canada. 1983.
- HARDING, H. *Cochliobolus sativus*. (Ito & Kurib.) Drechs. ex Dastur (imperfect stage: *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoem.): a bibliography. Supplement number three. Research Branch, Agriculture, Canada. 1986.

- HARDING, H. & TINLINE, R.D. The existence of differentially fertile strains in two populations of *Cochliobolus sativus*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 5:17-20, 1983.
- HOSFORD, R.M., Jr.; SOLANGI, G.R.M.; KIESLING, R.L. Genetics of pathogenicity and colony characteristics in *Cochliobolus sativus*. *Proceedings American Phytopathology Society*, 1: 94, 1974. (Resumo).
- HOSFORD, R.M., Jr.; SOLANGI, G.R.M.; KIESLING, R.L. Inheritance in *Cochliobolus sativus* *Phytopathology*, 65:699-703, 1975.
- HRUSHOVETZ, S.B. Cytological studies of ascus development in *Cochliobolus sativus*. *Canadian Journal of Botany*, 34: 641-651, 1956a.
- HRUSHOVETZ, S.B. Cytological studies of *Helminthosporium sativum*. *Canadian Journal of Botany*, 34:321-327, 1956b.
- HUANG, H.C. & TINLINE, R.D. Somatic mitosis in haploid and diploid strains of *Cochliobolus sativus*. *Canadian Journal of Botany*, 52:1561-1568, 1974.
- HUANG, H.C.; TINLINE, R.D.; FOWKE, L.C. Ultrastructure of somatic mitosis in a diploid strain of the plant pathogenic fungus *Cochliobolus sativus*. *Canadian Journal of Botany*, 53:403-414, 1975.
- IBRAHIM, F.M. & THRELFALL, R.J. The application of numerical taxonomy to some graminicolous species of *Helminthosporium*. *Proceedings Royal Society B.*, 165:362-388, 1966.

- ITO, S. & KURIBAYASHI, K. The ascigerous forms of some graminicolous species of *Helminthosporium* in Japan. *Journal Faculty of Agriculture, Hokkaido Imperial University*, 29:85-125, 1931.
- JONES, L.C. Studies of compatibility in Australian isolates of *Bipolaris sorokiniana*. *Australian Journal of Biological Sciences*, 24:51-55, 1971.
- KENDRICK, B.W. & CARMICHAEL, J.W. Hyphomycetes. In: AINSWORTH, G.C.; SPARROW, F.K. & SUSSMAN, A.S., eds. *The fungi*. New York, Academic Press, 1973. vol. IV A, Cap. 10, p.323-509.
- KLINE, D.M. & NELSON, R.R. Variation in mating capacities among 10<sup>3</sup> isolates of *Cochliobolus sativus*. *Phytopathology*, 58:1055, 1968. (Resumo)
- KLINE, D.M. & NELSON, R.R. The inheritance of factors in *Cochliobolus sativus* conditioning lesion induction on gramineous hosts. *Phytopathology*, 61:1052-1054, 1971.
- KURIBAYASHI, K. The ascigerous stage of *Helminthosporium sativum*. *Transaction Sapporo Natural History Society*, 10:138-145. Resumo em inglês In: *Review of Applied Mycology*, 8:438-439, 1929.
- LASCA, C. de C.; VECHIATO, M.H.; SCHMIDT, J.R. Seleção de métodos para detecção de *Helminthosporium sativum* em sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Summa Phytopathologica*, 13:14, 1987. (Resumo)

- LEONARD, K.J. & SUGGS, E.G. *Setosphaeria prolata*. The ascigerous state of *Exserohilum prolatum*. *Mycologia*, 66:281-297, 1974.
- LUTTRELL, E.S. A key to species of *Helminthosporium* reported on grasses in the United States. *Plant Disease Reporter, Suppl.* 201:59-67, 1951.
- LUTTRELL, E.S. A taxonomic revision of *Helminthosporium sativum* and related species. *American Journal of Botany*, 42:57-68, 1955.
- LUTTRELL, E.S. The function of taxonomy in Mycology. *Mycologia*, 50:942-944, 1958a.
- LUTTRELL, E.S. The perfect stage of *Helminthosporium turcicum*. *Phytopathology*, 48:281-287, 1958b.
- LUTTRELL, E.S. A *Trichometasphaeria* perfect stage for a *Helminthosporium* causing leaf blight of *Dactyloctenium*. *Phytopathology*, 53:281-285, 1963a.
- LUTTRELL, E.S. Taxonomic criteria in *Helminthosporium*. *Mycologia*, 55:643-674, 1963b.
- LUTTRELL, E.S. Loculoascomycetes. In: AINSWORTH, G. C.; SPARROW; F.K. & SUSSMAN, A.S., eds. *The Fungi*. New York, Academic Press, 1973. Vol. IV A, Cap. 7, p.135-219.
- LUZ, W.C. da. Ocorrência de *Pyrenophora teres* (Died.) Drech. em sementes de cevada (*Hordeum vulgare* L.) no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, 5:273-276, 1980.

- LUZ, W.C. da. Influência do período de umidificação pós-inoculação na reação de cultivares de trigo e mancha foliar (*Cochliobolus sativus*). *Fitopatologia Brasileira*, 7:111-115, 1982.
- LUZ, W.C. da. Identificação dos principais fungos das sementes de trigo. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1987. 28p. (Circular Técnica, 1).
- LUZ, W.C. da & LINHARES. Tratamento de sementes de cevada com fungicidas. *Fitopatologia Brasileira*, 8:415-423, 1983.
- LUZ, W.C. da & MINELLA, E. Microrganismos das sementes de cevada em diferentes locais do Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, 7:387-391, 1982.
- LUZ, W.C. da & VIEIRA, J.C. Controle da mancha foliar (*Cochliobolus sativus*) com aplicação de fungicidas sistêmicos na parte aérea do trigo. *Fitopatologia Brasileira*, 7:47-50, 1982a.
- LUZ, W.C. da & VIEIRA, J.C. Seed treatment with systemic fungicides to control *Cochliobolus sativus* on Barley. *Plant Disease*, 66:135-136, 1982b.
- LUZZARDI, G.C. Estudos sobre a reprodução de Helminthosporium sativum Pamm. King et Bakke "in vitro". In: VI Reunião Conjunta de Pesquisa de Trigo, Porto Alegre, RS - 01 a 05/04/1973. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1974. 2p.

- McDONALD, W.C. Heterothallism in *Pyrenophora teres*. *Phytopathology*, 53:771-773, 1963.
- MEHTA, Y.R. Conidial production, sporulation period and extension of lesion of *Helminthosporium sativum* on flag leaves of wheat. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 16:77-99, 1981a.
- MEHTA, Y.R. Identification of races of *Helminthosporium sativum* of wheat in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 16:331-336, 1981b.
- MILLS, J.T. Morphology of conidia of *Cochliobolus sativus* from untreated and fungicid - treated barley seed. *Canadian Journal of Botany*, 48:541-546, 1970.
- MISRA, A.P. E SINHA, B.K. Saltation in *Helminthosporium sorokinianum* Sacc. & Sorokin (*H. sativum* Pamm, King and Bakke). *Science Culture*, 31:314-315, 1965.
- MITRA, M. A comparative study of species and strains of *Helminthosporium* on certain Indian cultivated crops. *Transactions of British Mycological Society*, 15:254-293, 1930.
- MITRA, M. Saltation in the genus *Helminthosporium*. *Transactions of British Mycological Society*, 16:115-127, 1931.
- MUCHOVEJ, J.J.; MUCHOVEJ, R.M.C.; RIBEIRO-NESIO, M.I. Taxonomia de *Drechslera*, *Bipolaris* e *Exserohilum*. *Fitopatologia Brasileira*, 13:211-223, 1988.

- NELSON, R.R. *Cochliobolus intermedius*, the perfect stage of *Curvularia intermedia*. *Mycologia*, 52:775-778, 1960.
- NELSON, R.R. The perfect stage of *Helminthosporium pedicellatum*. *Mycologia*, 57:665-668, 1965.
- NELSON, R.R. & KLINE, D.M. Intraspecific variation in pathogenicity in the genus *Helminthosporium* to gramineous species. *Phytopathology*, 52:1045-1049, 1962.
- PAXTON, G.E. Consistent mutation of *Helminthosporium sativum* on a no-nitrogen medium. *Phytopathology*, 23:617-619, 1933.
- PIEROBOM, C.R. & ARIAS, G.N. Teste de resistência de cultivares de trigo à helmintosporiose (*Helminthosporium sativum* P.K. e B.). In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA PESQUISA DE TRIGO, 10, Porto Alegre, RS. *Solos e técnicas culturais, economia e sanidade*. Passo Fundo, EMBRAPA, 1978. V.2, p.209-211.
- PONTECORVO, G.; ROPER, J.A.; HEMMONS, L.M.; McDONALD, K.D.; BUFTON, A.J.W. The genetics of *Aspergillus nidulans*. *Advances in Genetics*, 5:141-238, 1953.
- PRESTES, A.M. & PICININI, E.C. Doenças fúngicas da parte aérea do trigo. *Agroquímica Ciba-Geigy*, 23:22-26, 1984.
- RAYNER, R.W. *A mycological colour chart*. Kew, Commonwealth Mycological Institute / British Mycological Society, 1970. 52p.

- REIS, E.M. Podridão de raízes seminais e lesões foliares do trigo (*Triticum aestivum* L.) associadas a *Helminthosporium sativum* Pamm, King & Bakke. transmitido pela semente. *Summa Phytopathologica*, 7:39-44, 1981.
- REIS, E.M. Distribuição vertical de propágulos de *Helminthosporium sativum* no solo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 12, Cascavel, PR, 1982. *Resultados de Pesquisa*. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1982a. p.224-226.
- REIS, E.M. Distribuição vertical de propágulos de *Helminthosporium sativum* no solo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 12, Cascavel, PR, 1982. *Comunicados Técnicos*, Cascavel, OCEPAR, 1982b. p.248-249.
- REIS, E.M. Efeito de tratamento do solo com fungicidas sobre a resistência de plântulas, crescimento, podridão comum das raízes e rendimento de trigo (*Triticum aestivum*). *Summa Phytopathologica*, 8:107-115, 1982c.
- REIS, E.M. Levantamento de plantas cultivadas nativas e invasoras hospedeiras de fungos causadores de podridões radiculares em cereais de inverno e em outras culturas. *Summa Phytopathologica*, 8:134-140, 1982d.
- REIS, E.M. Sementes de trigo infectadas por *Helminthosporium sativum*: fonte de inóculo para a podridão comum das raízes e seu controle pelo tratamento com fungicidas. *Summa Phytopathologica*, 8:29-38, 1982e.

- REIS, E.M. Selective medium for isolating *Cochliobolus sativus* from soil. *Plant Disease*, 67:68-70, 1983a.
- REIS, E.M. Sensibilidade micelial de *Helminthosporium sativum* a alguns fungicidas "in vitro". *Summa Phytopathologica*, 9:111-117, 1983b.
- REIS, E.M. Disseminação anemófila de propágulos de *Helminthosporium sativum* e sua contribuição na densidade de inóculo no solo. *Fitopatologia Brasileira*, 9:109-112, 1984.
- REIS, E.M. *Doenças do trigo nº 1: podridão comum de raízes*. São Paulo, CNDA, 1985. 43p.
- REIS, E.M. *Patologia de sementes de cereais de inverno*. São Paulo, CNDA, 1987. 32p.
- REIS, E.M. & ABRÃO, J.J.R. Effect of tillage and wheat residue management on the vertical distribution and inoculum density of *Cochliobolus sativus* in soil. *Plant Disease*, 67:1088-1089, 1983.
- REIS, E.M. & AMBROSI, I. Effect of winter crop rotation on soil inoculum density of *Helminthosporium sativum* root rots and grain yield in wheat. *Fitopatologia Brasileira*, 12:365-368, 1987.
- REIS, E.M. & BAIER, A.C. Efeito do cultivo de alguns cereais de inverno aumento da população de *Helminthosporium sativum* no solo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 12, Cascavel, PR, 1982. *Resultado de Pesquisa*. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1982. p.227-229.

- REIS, E.M. & BAIER, A.C. Reação de cereais de inverno à podridão comum de raízes. *Fitopatologia Brasileira*, 8:277-281, 1983.
- REIS, E.M. & SANTOS, H.P. dos. The increased sporulation of *Cochliobolus sativus* on aboveground tissues of small grains and its relationship to the origin of inoculum in the soil. *Fitopatologia Brasileira*, 12:206-208, 1987.
- REIS, E.M.; SANTOS, H.P.; LHAMBY, J.C.B. Rotação de Culturas I. Efeito sobre doenças radiculares do trigo nos anos 1981 e 1982. *Fitopatologia Brasileira*, 8:431-437, 1983.
- REIS, E.M. & WÜNSCHE, W.A. Multiplicação de *Helminthosporium sativum* em resíduos culturais e sua relação com o aumento de densidade de inóculo no solo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 12, Cascavel, PR, 1982. *Resumos e Comunicados Técnicos*, Cascavel, OCEPAR, 1982a. - p.258-259.
- REIS, E.M. & WÜNSCHE, W.A. Multiplicação de *Helminthosporium sativum* em resíduos culturais e sua relação com o aumento da densidade do inóculo no solo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 12, Cascavel, PR. 1982. *Resultados de Pesquisa*, Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1982b. p.230-232.
- REYNOLDS, D.R. The Luttrellian concept: introductory remarks. In: REYNOLDS, D.R., ed. *Ascomycete Systematics: The Luttrellian Concept*. New York, Springer-Verlag, 1981. Cap. 1, p.1-3.

- ROSEN, H. R. Variation in pathogenicity in the *Helminthosporium* blight organism of oats and evidence for its relationship to *H. sativum*. *Plant Disease Reporter*, Suppl. 228:114-115, 1954.
- SCHEEREN, P.L. *Informações sobre o trigo (Triticum spp.)*. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1986. 34p. (Documentos, 2).
- SHOEMAKER, R.A. Biology, cytology and taxonomy of *Cochliobolus sativus*. *Canadian Journal of Botany*, 33: 563-576, 1955.
- SHOEMAKER, R.A. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris* grass parasites segregated from *Helminthosporium*. *Canadian Journal of Botany*, 37:879-887, 1959.
- SHOEMAKER, R.A. *Drechslera* Ito. *Canadian Journal of Botany*, 40:809-835, 1962.
- SIVANESAN, A. The teleomorph of *Curvularia tuberculata*. *Transactions of British Mycological Society*, 84:548-551, 1985.
- SOLANGI, G.R.M. Techniques for isolation of ascospores of *Cochliobolus sativus* and variation in numbers of ascospores per ascus. *Agriculture Pakistan*, 26:405, 1975.
- SUBRAMANIAN, C.V. & JAIN, B.L. A revision of some gramini-colous Helminthosporia. *Current Science*, 35:352-355, 1966.

- TARCOMNICU, M. Growth and sporulation of *Helminthosporium sativum* P.K. & B, isolated from maize. *Probleme de Protectia Plantelor*, 8:131-150, Resumo em inglês In: *Review of Plant Pathology* n<sup>o</sup> 4272, 1980.
- TIMONIN, M.I.; PETERSON, E.A.; ROVATT, J.W. Effects of amino acids and substances from wheat roots on the soil-borne plant pathogen *Cochliobolus sativus*. *Soil Science*, 118:180-185, 1974.
- TINLINE, R.D. Studies on the perfect stage of *Helminthosporium sativum*. *Canadian Journal of Botany*, 29:467-478, 1951.
- TINLINE, R.D. The inheritance of some characters in *Helminthosporium sativum*. *Phytopathology*, 43:487, 1953. (Resumo).
- TINLINE, R.D. Induced mutation in *Helminthosporium sativum*. *Proceedings Canadian Phytopathological Society*, 23:21-22, 1955. (Resumo)
- TINLINE, R.D. Pathogenic and cultural variation in *Cochliobolus sativus*. *Transactions of British Mycological Society*, 43:696-697, 1960. (Resumo)
- TINLINE, R.D. *Cochliobolus sativus* IV. Drug resistant, color and nutritionally exacting mutants. *Canadian Journal of Botany*, 39:1695-1704, 1961a.
- TINLINE, R.D. Parasexual recombination in *Cochliobolus sativus*. *Proceedings Canadian Phytopathological Society*, 28:15, 1961b. (Resumo)

- TINLINE, R.D. *Cochliobolus sativus* V. Heterokaryosis and parasexuality. *Canadian Journal of Botany*, 40:425-437, 1962a.
- TINLINE, R.D. *Cochliobolus sativus* VI. Isolation of nutritionally exacting mutants by filtration enrichment. *Canadian Journal of Botany*, 40:1293-1297, 1962b.
- TINLINE, R.D. *Cochliobolus sativus* VII. Nutritional control of the pathogenicity of some auxotrophs to wheat seedlings. *Canadian Journal of Botany*, 41:489-497, 1963.
- TINLINE, R.D. & DICKSON, J.G. *Cochliobolus sativus* I. Perithecial development and the inheritance of spore color and mating type. *Mycologia*, 50:697-706, 1958.
- TINLINE, R.D. & McNEILL, V.M. Parasexuality in plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 7:147-170, 1969.
- TINLINE, R.D.; SALLANS, B.J.; SIMMONDS, P.M. The perithecial stage of *Helminthosporium sativum*. *Proceedings Canadian Phytopathological Society*, 17:16, 1949. (Resumo)
- TINLINE, R.D. & SAMBORSKI, D.J. *Cochliobolus sativus* II. Photoactivated pigmentation. *Mycologia*, 51:77-78, 1959.
- TINLINE, R.D.; STAUFFER, J.F.; DICKSON, J.G. *Cochliobolus sativus* III. Effect of ultra violet radiation. *Canadian Journal of Botany*, 38:275-282, 1960.
- TSUDA, M. & UYAMA, A. *Pseudocochliobolus australiensis* the ascigerous state of *Bipolaris australiensis*. *Mycologia*, 73:88-96, 1981.

- TSUDA, M.; UEYAMA, A.; NISHIHARA, N. *Pseudocochliobolus nisikadoi*, the perfect state of *Helminthosporium coicis*. *Mycologia*, 69:1109-1120, 1977.
- VALARINI, P.J.; BARROS, B.C.; LASCA, C.C. Organismos associados à podridão comum de raízes de trigo. *Summa Phytopathologica*, 7:71-79, 1981.
- VECHIATO, M.H.; LASCA, C.C.; VALARINI, P.J. Sobrevivência do fungo *Helminthosporium sativum* em sementes de trigo (*Triticum aestivum*) armazenadas. *Fitopatologia Brasileira*, 12:226-231, 1987.
- VIRK, S.K. & SINGH, A. Effect of different carbon and nitrogen sources on growth of *Helminthosporium sativum*. *Indian Journal Mycological Plant Pathology*, 10:128-129, 1980.
- VODYANAYA, L. & KHROMOVA, U. Natural variability of *Helminthosporium sativum* Pamm, King et Bakke - the cause of helminthosporioses of grasses. *Agrokhimiya*, 125-128, In: *Review of Plant Pathology*, 49:2896, 1969. (Resumo).
- WIESE, M.V. *Compendium of wheat diseases*. The American Phytopathological Society, Minnesota, 1977. 106p.
- WILSON, V.E. & MURPHY, H.C. Morphology and physiology of *Helminthosporium victoriae* and related species. *Phytopathology*, 54:147-150, 1964.
- YODER, O.C.; VALENT, B.; CHUMLEY, F. Genetic nomenclature and practice for plant pathogenic fungi. *Phytopathology*, 76:383-385, 1986.

ZONTA, E.P. & MACHADO, A.A. SANEST - Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores. Pelotas, UPPel, 1984.  
(Registro SEI nº 06606-0, Categoria A0).

## APÊNDICES

APÊNDICE 1. Freqüências de Cores Ocorrentes no Micélio das Colônias de *C. sativus* (60 Isolados, 4 Meios de Cultura, 3 Níveis de Leitura com 3 Repetições), segundo RAYNER (1970).

CORES DO MICÉLIO DAS COLÔNIAS	LEITURA	MEIOS DE CULTURA									
		C		MM		MC		BDA		TOTAL	
		Freqüência		Freqüência		Freqüência		Freqüência		Freqüência	
		absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa
00 BRANCO	1ª	179	0,9944	179	1,0000	173	0,9611	164	0,9111	695	0,9666
	2ª	179	0,9944	177	0,9888	156	0,8667	162	0,9000	674	0,9374
	3ª	158	0,8778	174	0,9721	169	0,9389	166	0,9222	667	0,9277
	TOTAL	516	0,9556	530	0,9870	498	0,9222	492	0,9111	2036	0,9439
01 ROSA	1ª					01	0,0056			01	0,0014
	2ª										
	3ª										
	TOTAL					01	0,0019			01	0,0005
02 VERMELHO	1ª							01	0,0056	01	0,0014
	2ª										
	3ª										
	TOTAL							01	0,0019	01	0,0005
04 PESSEGO	1ª					01	0,0056	04	0,0222	05	0,0070
	2ª	02	0,0111	01	0,0056	03	0,0167	01	0,0056	07	0,0097
	3ª	05	0,0278	06	0,0335	04	0,0222	01	0,0056	16	0,0223
	TOTAL	07	0,0130	07	0,0130	08	0,0148	06	0,0111	28	0,0130
05 ESCARLATE	1ª					05	0,0278			05	0,0070
	2ª					06	0,0333			06	0,0083
	3ª	01	0,0056			04	0,0222	01	0,0056	06	0,0083
	TOTAL	01	0,0019			15	0,0278	01	0,0019	17	0,0079
08 MARRON AVERMELHADO	1ª										
	2ª										
	3ª	02	0,0111			01	0,0056	01	0,0056	04	0,0056
	TOTAL	02	0,0037			01	0,0019	01	0,0019	04	0,0019
09 FERRUGEM	1ª					02	0,0111			02	0,0028
	2ª					05	0,0278			06	0,0083
	3ª	04	0,0222			04	0,0222	01	0,0056	09	0,0125
	TOTAL	04	0,0074			11	0,0204	02	0,0037	17	0,0079
10 AÇAFRÃO	1ª			01	0,0056	36	0,2000	23	0,1278	60	0,0834
	2ª	14	0,0778	05	0,0279	19	0,1056	06	0,0333	44	0,0612
	3ª	02	0,0111	05	0,0279	23	0,1278	06	0,0333	36	0,0501
	TOTAL	16	0,0296	11	0,0205	78	0,1444	35	0,0648	140	0,0649
11 CASTANHO AMARELO CLARO	1ª									01	0,0014
	2ª									01	0,0014
	3ª	01	0,0056							01	0,0014
	TOTAL	01	0,0019							03	0,0014
12 CASTANHO AMARELADO	1ª										
	2ª										
	3ª	02	0,0111							02	0,0028
	TOTAL	02	0,0037							02	0,0009
17 VERDE GRAMA	1ª										
	2ª										
	3ª			01	0,0056					01	0,0014
	TOTAL			01	0,0019					01	0,0005
37 CARNE	1ª									01	0,0014
	2ª	01	0,0056			01	0,0056	01	0,0056	05	0,0070
	3ª	03	0,0167	04	0,0223					19	0,0264
	TOTAL	19	0,0352	04	0,0074	01	0,0019	01	0,0019	25	0,0116
38 CORAL	1ª										
	2ª										
	3ª			01	0,0056					01	0,0014
	TOTAL			01	0,0019					01	0,0005

## APÊNDICE 1. Continuação

CORES DO MICÉLIO DAS COLÔNIAS	LEITURA	MEIOS DE CULTURA									
		C		MM		MC		BOA		TOTAL	
		Frequência		Frequência		Frequência		Frequência		Frequência	
		absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa
40 CASTANHO	1ª										
	2ª	01	0,0056							01	0,0014
	3ª										
	TOTAL	01	0,0019							01	0,0005
41 SALMÃO	1ª	01	0,0056			07	0,0389	04	0,0222	12	0,0167
	2ª	02	0,0111			08	0,0444	02	0,0111	12	0,0167
	3ª	01	0,0056			01	0,0056	01	0,0056	03	0,0042
	TOTAL	04	0,0074			16	0,0296	07	0,0130	27	0,0125
42 DAMASCO	1ª					03	0,0167			03	0,0042
	2ª			01	0,0056	12	0,0667			12	0,0167
	3ª					14	0,0778			15	0,0209
	TOTAL			01	0,0019	29	0,0537			30	0,0139
43 AMARELO TOSTADO	1ª										
	2ª					02	0,0111			02	0,0028
	3ª					01	0,0056			01	0,0014
	TOTAL					03	0,0056			03	0,0014
44 OCRE	1ª										
	2ª	10	0,0556							10	0,0139
	3ª	21	0,1167							21	0,0292
	TOTAL	31	0,0574							31	0,0144
45 AMARELO	1ª	08	0,0444	06	0,0335	22	0,1222	35	0,1944	71	0,0987
	2ª	09	0,0500	18	0,1006	32	0,1778	26	0,1444	85	0,1182
	3ª	06	0,0333	05	0,0279	18	0,1000	36	0,2000	65	0,0904
	TOTAL	23	0,0426	29	0,0540	72	0,1333	97	0,1796	221	0,1025
47 AMBAR	1ª										
	2ª	01	0,0056							01	0,0014
	3ª										
	TOTAL	01	0,0019							01	0,0005
48 OLIVACEO	1ª	04	0,0222	03	0,0168	57	0,3167	01	0,0056	65	0,0904
	2ª	58	0,3222	53	0,2961	111	0,6167	32	0,1778	254	0,3533
	3ª	113	0,6278	75	0,4190	70	0,3839	22	0,1222	280	0,3894
	TOTAL	175	0,3241	131	0,2439	238	0,4407	55	0,1019	599	0,2777
57 VIRACEO	1ª										
	2ª	01	0,0056					01	0,0056	01	0,0014
	3ª									01	0,0014
	TOTAL	01	0,0019					01	0,0019	02	0,0009
58 VIRACEO ROSACEO	1ª										
	2ª	01	0,0056							01	0,0014
	3ª										
	TOTAL	01	0,0019							01	0,0005
59 TIJOLO	1ª					05	0,0278	02	0,0111	07	0,0097
	2ª	03	0,0167			17	0,0944	10	0,0566	30	0,0417
	3ª	06	0,0333	04	0,0223	22	0,1222	07	0,0389	39	0,0542
	TOTAL	09	0,0167	04	0,0074	44	0,0815	19	0,0352	76	0,0352
60 TIJOLO ESCURO	1ª					02	0,0111			02	0,0028
	2ª	01	0,0056			01	0,0056	19	0,1056	20	0,0278
	3ª					18	0,1000	28	0,1556	47	0,0654
	TOTAL	01	0,0019			21	0,0389	47	0,0870	69	0,0320
61 ROSA AMARELADO	1ª	02	0,0111	07	0,0391	34	0,1889	38	0,2111	81	0,1127
	2ª	15	0,0833	13	0,0726	10	0,0556	14	0,0778	52	0,0723
	3ª	12	0,0667	14	0,0782	05	0,0278	10	0,0556	41	0,0570
	TOTAL	29	0,0537	34	0,0633	49	0,0907	62	0,1148	174	0,0807
62 CANELA	1ª					10	0,0556	14	0,0778	24	0,0334
	2ª	03	0,0167	01	0,0056	17	0,0944	09	0,0500	30	0,0417
	3ª	08	0,0444	01	0,0056	17	0,0944	17	0,0944	43	0,0598
	TOTAL	11	0,0204	02	0,0037	44	0,0815	40	0,0741	97	0,0450
63 SEPIA	1ª					01	0,0056			01	0,0014
	2ª	02	0,0111	02	0,0112	10	0,0556	41	0,2278	55	0,0765
	3ª	08	0,0444	03	0,0168	18	0,1000	73	0,4056	102	0,1419
	TOTAL	10	0,0185	05	0,0093	29	0,0537	114	0,2111	158	0,0732

## APÊNDICE 1. Continuação.

CORES DO MICÉLIO DAS COLÔNIAS	LEITURA	MEIOS DE CULTURA									
		C		MM		MC		BDA		TOTAL	
		Frequência		Frequência		Frequência		Frequência		Frequência	
		absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa
64 MEL	1ª	12	0,0667			02	0,0111	12	0,0667	26	0,0362
	2ª	27	0,1500	02	0,0112	05	0,0278	24	0,1333	58	0,0807
	3ª	11	0,0611	01	0,0056	07	0,0389	61	0,3389	80	0,1113
	TOTAL	50	0,0926	03	0,0056	14	0,0259	97	0,1796	164	0,0760
65 CAMURÇA	1ª	02	0,0111	07	0,0391	31	0,1722	65	0,3611	105	0,1460
	2ª	14	0,0778	17	0,0950	20	0,1111	68	0,3778	119	0,1655
	3ª	18	0,1000	17	0,0950	25	0,1389	73	0,4056	133	0,1850
	TOTAL	34	0,0630	41	0,0764	76	0,1407	206	0,3815	357	0,1655
69 VERDE GRAMA ESCURO	1ª										
	2ª	01	0,0056	01	0,0056					02	0,0028
	3ª	02	0,0111	12	0,0670			02	0,0111	16	0,0223
	TOTAL	03	0,0056	13	0,0242			02	0,0037	18	0,0083
70 VERDE SOMBRIO	1ª	02	0,0111	04	0,0223			05	0,0278	11	0,0153
	2ª	28	0,1556	25	0,1397			42	0,2333	95	0,1321
	3ª	46	0,2556	42	0,2346	02	0,0111	43	0,2389	133	0,1850
	TOTAL	76	0,1407	71	0,1322	02	0,0037	90	0,1667	239	0,1108
84 MARRON VIRÁCEO	1ª							06	0,0333	06	0,0083
	2ª			01	0,0056	03	0,0167			04	0,0056
	3ª										
	TOTAL			01	0,0019	03	0,0056	06	0,0111	10	0,0046
87 CASTANHO AMARELADO GAMO	1ª							06	0,0333	06	0,0083
	2ª					03	0,0167	01	0,0056	04	0,0056
	3ª										
	TOTAL					03	0,0056	07	0,0130	10	0,0046
88 MARRON AVELA	1ª										
	2ª					05	0,0278	01	0,0056	01	0,0014
	3ª							01	0,0056	06	0,0083
	TOTAL					05	0,0093	02	0,0037	07	0,0032
89 OLIVÁCEO AMARELADO	1ª			01	0,0056					01	0,0014
	2ª	01	0,0056	06	0,0335			02	0,0111	09	0,0125
	3ª										
	TOTAL	01	0,0019	07	0,0130			02	0,0037	10	0,0046
90 OLIVÁCEO ESVERDEADO	1ª	02	0,0111	01	0,0056			01	0,0056	04	0,0056
	2ª			04	0,0223			01	0,0056	05	0,0070
	3ª	03	0,0167	02	0,0112	02	0,0111	03	0,0167	10	0,0139
	TOTAL	05	0,0093	07	0,0130	02	0,0037	05	0,0093	19	0,0088
91 AZUL ESVERDEADO	1ª										
	2ª										
	3ª	01	0,0056							01	0,0014
	TOTAL	01	0,0019							01	0,0005
105 CINZA FUMAÇA	1ª	07	0,0389	19	0,1061	01	0,0056	03	0,0167	30	0,0417
	2ª	03	0,0167	05	0,0279			03	0,0167	11	0,0153
	3ª			08	0,0447			03	0,0167	11	0,0153
	TOTAL	10	0,0185	32	0,0596	01	0,0019	09	0,0167	52	0,0241
106 SÉPIA ACINZENTADO	1ª					01	0,0056			01	0,0014
	2ª										
	3ª					01	0,0056			01	0,0014
	TOTAL					02	0,0037			02	0,0009
107 CINZA OLIVÁCEO	1ª	101	0,5611	91	0,5084	56	0,3111	89	0,4944	337	0,4687
	2ª	123	0,6833	137	0,7654	62	0,3444	66	0,3667	388	0,5396
	3ª	102	0,5667	141	0,7877	94	0,5222	86	0,4778	423	0,5883
	TOTAL	326	0,6037	369	0,6872	212	0,3926	241	0,4463	1148	0,5322

## APÊNDICE 1. Continuação..

CORES DO MICÉLIO DAS COLÔNIAS	LEITURA	M E I O S   D E   C U L T U R A									
		C		MM		MC		BDA		TOTAL	
		Frequência		Frequência		Frequência		Frequência		Frequência	
		absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa	absoluta	relativa
108 OLIVÁCEO ESCURO	1ª			03	0,0168	10	0,0556	02	0,0111	15	0,0209
	2ª	04	0,0222	06	0,0335	39	0,2167	33	0,1833	82	0,1140
	3ª	24	0,1333	10	0,0559	76	0,4222	41	0,2278	151	0,2100
	TOTAL	28	0,0519	19	0,0354	125	0,2315	76	0,1407	248	0,1150
118 CINZA CAMUNDONGO	1ª					01	0,0056			01	0,0014
	2ª							01	0,0056	01	0,0014
	3ª										
TOTAL					01	0,0019	01	0,0019	02	0,0009	
119 CINZA CAMUNDONGO ESCURO	1ª										
	2ª							01	0,0056	01	0,0014
	3ª										
TOTAL								01	0,0019	01	0,0005
120 CINZA OLIVÁCEO PÁLIDO	1ª										
	2ª							01	0,0056	01	0,0014
	3ª	01	0,0056					01	0,0056	02	0,0028
TOTAL	01	0,0019						02	0,0037	03	0,0014
121 OLIVÁCEO ACINZENTADO	1ª										
	2ª	01	0,0056	01	0,0056	01	0,0056	01	0,0056	04	0,0056
	3ª							03	0,0167	03	0,0042
TOTAL	01	0,0019	01	0,0019	01	0,0019	04	0,0074	07	0,0032	







## APÊNDICE 2. Continuação.

	MEIOS DE CULTURA																								
	C						MM						MC						BDA						
	1ª		2ª		3ª		1ª		2ª		3ª		1ª		2ª		3ª		1ª		2ª		3ª		
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	
00-45-60-63																									
00-45-60-70																						01	00,56	01	00,56
00-45-60-107																						01	00,56	01	00,56
00-45-61-107																									
00-45-62-64																									
00-45-62-65																						01	00,56	01	00,56
00-45-62-107																						01	00,56	01	00,56
00-45-63-65																						01	00,56	01	00,56
00-45-63-70																									
00-45-63-107																						01	00,56	01	00,56
00-45-64-107																						03	01,67	01	00,56
00-45-65-69																									
00-45-65-70																									
00-45-65-107																						01	00,56	01	00,56
00-45-70-108																						01	00,56	01	00,56
00-45-87-107																						01	00,56	01	00,56
00-45-107-108																						01	00,56	01	00,56
00-48-59-61																									
00-48-59-90																									
00-48-59-107																									
00-48-59-108																						01	00,56	01	00,56
00-48-60-107																									
00-48-61-62																									
00-48-61-107																						01	00,56	01	00,56
00-48-62-63																									
00-48-62-107																						02	01,11	01	00,56
00-48-62-108																									
00-48-63-106																									
00-48-63-107																									
00-48-64-70																									
00-48-64-90																									
00-48-64-107																						01	00,56	01	00,56
00-48-65-107																									
00-48-69-70																						01	00,56	01	00,56
00-48-70-107																									
00-48-70-108																									
00-48-89-107																									
00-48-107-108																									
00-57-70-84																									
00-59-60-65																									
00-59-60-105																									
00-59-60-107																									
00-59-61-65																									
00-59-61-107																									
00-59-65-70																									
00-59-65-107																									
00-59-107-108																									
00-60-61-107																									
00-60-62-70																									
00-60-63-70																									
00-60-63-88																									
00-60-64-65																									
00-60-64-107																									
00-60-64-118																									
00-60-65-70																									
00-60-65-87																									
00-60-65-107																									
00-60-65-108																									
00-60-70-108																									
00-60-107-108																									
00-61-45-65																									
00-61-62-107																									
00-61-63-108																									
00-61-65-107																									
00-61-89-90																									
00-61-105-107																									
00-62-64-70																									
00-62-64-107																									
00-62-65-70																									
00-62-65-107																									
00-62-70-107																									
00-62-107-108																									
00-63-64-65																									
00-63-64-70																									
00-63-64-107																									
00-63-64-121																									
00-63-65-70																									
00-63-65-107																									
00-63-65-108																									
00-63-65-121																									
00-63-87-88																									
00-63-105-107																									
00-63-108-120																									
00-64-65-70																									
00-64-65-107																									
00-64-70-107																									
00-64-70-108																									
00-64-107-108																									
00-65-70-84																									
00-65-70-108																									
00-65-107-108																									
00-70-106-107																									
00-87-88-107																									
04-61-63-105																									
05-10-37-61																									
09-10-45-107				</																					

## APÊNDICE 2. Continuação.

TIPOS DE COMBINAÇÕES DE CORES DO MICÉLIO DAS COLÔNIAS (NUMERAÇÃO DAS CORES SEGUNDO RAYNER, 1970)	MEIOS DE CULTURA																							
	C						MM						MC						BDA					
	1ª LEITURA		2ª LEITURA		3ª LEITURA		1ª LEITURA		2ª LEITURA		3ª LEITURA		1ª LEITURA		2ª LEITURA		3ª LEITURA		1ª LEITURA		2ª LEITURA		3ª LEITURA	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
44-48-70-107				01	00,56																			
45-48-59-107														01	00,56									
45-48-62-107														01	00,56									
45-59-63-65																01	00,56							
45-59-65-108																								
45-60-65-70																								
45-61-107-108																				01	00,56			
45-62-63-65																						01	00,56	
45-63-65-107																						01	00,56	
45-64-65-85																						01	00,56	
5 CORES																								
00-04-05-60-63																						01	00,56	
00-04-10-70-87																								
00-04-41-48-108																								
00-04-61-62-107										01	00,56													
00-05-10-48-107																								
00-05-48-61-107																								
00-08-10-45-107																								
00-08-44-65-107				01	00,56																			
00-09-37-40-107				01	00,56																			
00-09-37-45-70				01	00,56																			
00-09-44-65-107				01	00,56																			
00-09-64-107-108																								
00-10-41-42-60																								
00-10-45-48-59																								
00-10-45-107-108																								
00-10-48-63-107										01	00,56													
00-10-48-70-107																								
00-10-59-61-107										01	00,56													
00-10-60-107-108																								
00-12-37-48-107				01	00,56																			
00-37-59-64-107																								
00-41-42-63-107																								
00-41-62-63-107				01	00,56																			
00-42-45-48-107																								
00-42-48-59-107																								
00-44-48-64-107				01	00,56																			
00-44-63-65-107				01	00,56																			
00-45-48-64-107																								
00-45-59-63-70																						01	00,56	
00-45-60-62-107																						01	00,56	
00-45-60-63-65																						01	00,56	
00-45-60-63-70																						01	00,56	
00-45-60-65-70																						01	00,56	
00-45-60-70-107																						01	00,56	
00-45-61-63-107										01	00,56													
00-45-61-65-107																								
00-45-62-65-107																								
00-45-62-107-108																								
00-45-63-64-107																								
00-45-63-65-70																								
00-45-63-65-107																								
00-45-64-65-70										01	00,56													
00-45-65-70-107																								
00-45-65-107-108																								
00-45-84-87-88																								
00-48-59-62-107																								
00-48-59-64-108																								
00-48-59-89-107																								
00-48-60-65-107										01	00,56													
00-48-61-107-108										01	00,56													
00-48-62-107-108																								
00-48-63-64-65																								
00-48-89-90-91				01	00,56																			
00-59-60-63-107																								
00-59-60-65-107																								
00-59-63-65-107																								
00-59-65-107-108																								
00-60-61-65-70																								
00-60-61-65-107																								
00-60-63-65-105																								
00-60-64-65-107																								
00-60-65-107-108																								
00-61-64-65-70																								
00-61-64-88-107																								
00-62-63-64-65																								
00-62-63-64-70																								
00-62-63-65-107																								
00-62-65-107-108																								
00-63-64-65-70																								
00-63-64-65-107																								
00-63-64-65-121																								
00-64-65-90-108																								
04-10-59-61-107										01	00,56													
05-10-45-62-64																								
37-48-64-65-70				01	00,56																			
42-45-64-65-107																								
45-61-70-84-108																								



APÊNDICE 3. Freqüências dos Tipos de Combinações das Texturas de Capas Micelianas, das Colônias de *C. sativus* (60 Isolados, 4 Meios de Cultura, 3 Níveis de Leitura com 3 Repetições) segundo BETTUCCI & GUERRERO (1971).

TIPOS DE COMBINAÇÕES DE TEXTURA DE CAPAS MICELIANAS	MEIOS DE CULTURA																								
	C						MM						MC						BOA						
	1ª		2ª		3ª		1ª		2ª		3ª		1ª		2ª		3ª		1ª		2ª		3ª		
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	
01	09	5,00	07	3,89	06	3,33	07	3,91	05	2,79	12	6,70	02	1,11	01	0,56	05	2,78	04	2,22	05	2,78	04	2,22	
02	05	2,78	35	19,44	44	24,44	13	7,26	14	7,82	18	10,06	58	32,22	50	27,78	43	23,89	37	20,56	36	20,00	31	17,22	
04	08	4,44				04	2,23	04	2,23				01	0,56					02	1,11					
06	03	1,67	01	0,56			05	2,79			05	2,79		01	0,56					03	1,67	03	1,67	01	0,56
07																				02	1,11				
10																				01	0,56				
12	06	3,33					04	2,23	01	0,56									01	0,56	01	0,56	01	0,56	
01 - 02	27	15,00	33	18,33	32	17,78	27	15,08	51	28,49	51	28,49	31	17,22	23	12,78	26	14,44	85	47,22	58	32,22	33	18,33	
01 - 04	05	2,78	11	6,11	08	4,44	03	1,68	06	3,35	12	6,70			03	1,67	01	0,56		01	0,56	02	1,11		
01 - 06	01	0,56	04	2,22	03	1,67			03	1,68	03	1,68		01	0,56	03	1,67		01	0,56	01	0,56			
01 - 07			02	1,11	07	3,89	03	1,68	01	0,56	03	1,68		01	0,56	01	0,56		03	1,67					
01 - 10	02	1,11			01	0,56	01	0,56	01	0,56	01	0,56		01	0,56				01	0,56					
01 - 12																						04	2,22	05	2,78
02 - 04	39	21,67	19	10,56	06	3,33	18	10,06	11	6,15	03	1,68	09	5,00	06	3,33	04	2,22	02	1,11	02	1,11	01	0,56	
02 - 06	15	8,33	06	3,33	05	2,78	39	21,79	09	5,03	06	3,35	36	20,00	10	5,56	07	3,89	16	8,89	04	2,22	06	3,33	
02 - 07	01	0,56	06	3,33	14	7,78	01	0,56	07	3,91	03	1,68	10	5,56	19	10,56	11	6,11	01	0,56	02	1,11	04	2,22	
02 - 10	13	7,22	01	0,56	01	0,56	19	10,61	05	2,91	04	2,23	04	2,22	02	1,11			10	5,56	09	5,00	05	2,78	
02 - 12	02	1,11	01	0,56	02	1,11			03	1,68	01	0,56	02	1,11			02	1,11	01	0,56	12	6,67	21	11,67	
04 - 06									01	0,56															
04 - 07	01	0,56	01	0,56			01	0,56							01	0,56					01	0,56			
04 - 10	05	2,78							01	0,56															
06 - 07									01	0,56				02	1,11			01	0,56			01	0,56	01	0,56
06 - 10	03	1,67	01	0,56			05	2,79											03	1,67					
06 - 12	01	0,56							01	0,56															
07 - 10	01	0,56					01	0,56	01	0,56			02	1,12	01	0,56					01	0,56			
07 - 12																									
10 - 12	01	0,56																			01	0,56			
01 - 02 - 04	04	2,22	14	7,78	15	8,33	01	0,56	13	7,26	19	10,61	03	1,67	03	1,67	05	2,78	03	1,67	04	2,22	04	2,22	
01 - 02 - 06			07	3,89	03	1,67	02	1,12	15	2,79	03	1,68	02	1,12	14	7,78	07	3,89	04	2,22	05	2,78	05	2,78	
01 - 02 - 07	02	1,11	03	1,67	04	2,22	05	2,79	04	2,23	05	2,79	07	3,89	06	3,33	26	14,44	04	2,22	05	2,78	02	1,11	
01 - 02 - 10	04	2,22					01	0,56	02	1,12									02	1,11	05	2,78	02	1,11	
01 - 02 - 12			02	1,11					01	0,56	02	1,12					02	1,11					32	17,78	
01 - 04 - 06																									
01 - 04 - 07									01	0,56	03	1,68					02	1,11							
01 - 06 - 07																									
01 - 06 - 10																					01	0,56			
01 - 06 - 12																							02	1,11	
01 - 07 - 10					01	0,56					01	0,56											01	0,56	
01 - 07 - 12																							01	0,56	
01 - 10 - 12																							01	0,56	
02 - 04 - 06			02	1,11			01	0,56							01	0,56									
02 - 04 - 07																									
02 - 04 - 10	06	3,33	03	1,67	02	1,11	06	3,35	03	1,68			01	0,56	02	1,11	03	1,67			01	0,56			
02 - 06 - 07	07	3,89	01	0,56											01	0,56							01	0,56	
02 - 06 - 10	03	1,67			01	0,56	04	2,23	03	1,68	03	1,68	06	3,33	09	5,00	07	3,89							
02 - 06 - 12	02	1,11			01	0,56	03	1,68											04	2,22					
02 - 07 - 10									01	0,56	02	1,12											01	0,56	
02 - 07 - 12																							01	0,56	
02 - 10 - 12			01	0,56											01	0,56							02	1,11	
04 - 06 - 10					01	0,56																			
04 - 07 - 10			01	0,56							01	0,56											01	0,56	
06 - 07 - 12																							01	0,56	
07 - 10 - 12																							01	0,56	
01 - 02 - 04 - 06					01	0,56									01	0,56									
01 - 02 - 04 - 07					05	2,78	01	0,56	02	1,12	04	2,23			02	1,11	04	2,22							
01 - 02 - 06 - 07			06	3,33					04	2,23	01	0,56			08	4,44	03	1,67							
01 - 02 - 07 - 10	01	0,56	01	0,56	01	0,56			01	0,56	02	1,12									01	0,56			
01 - 02 - 07 - 12																									
01 - 02 - 10 - 12																									
01 - 04 - 06 - 07																									
02 - 04 - 06 - 07					01	0,56																			
02 - 04 - 07 - 10					01	0,56																			
02 - 06 - 07 - 10																									
02 - 06 - 07 - 12																									
02 - 07 - 10 - 12					01	0,56									01	0,56	01	0,56					01	0,56	
01 - 02 - 04 - 06 - 07																									
01 - 02 - 06 - 07 - 10			01	0,56																					
T O T A L	180		180		180		179		179		179		180		180		180		180		180		180		

01 = acamurçado; 02 = algodonoso; 04 = afechado; 06 = afeiltrado; 07 = flocoso; 10 = sedoso; 12 = aveludado.

APÊNDICE 4. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura C, na 1ª Leituras (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	23,0408	0,5600	2,7892 **
Resíduo	120	24,0933	0,2008	
Total	179	57,1341		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 2,5836 cm

Coefficiente de Variação = 17,343%

APÊNDICE 5. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura C, na 2ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	162,6914	2,7575	2,4643 **
Resíduo	120	134,2750	1,1190	
Total	179	296,9664		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 5,2858 cm

Coefficiente de Variação = 20,012%

APÊNDICE 6. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura C, na 3ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	341,3017	5,7848	2,8904 **
Resíduo	120	240,1634	2,0014	
Total	179	581,4651		

\*\* Significativo ao nível de 0,001 de probabilidade

Média Geral = 7,3464 cm

Coefficiente de Variação = 19,257%

APÊNDICE 7. Quadro da Análise de Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura MM na 1ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	22,2456	0,3770	2,1609 **
Resíduo	120	20,9383	0,1745	
Total	179	43,1839		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 2,2594 cm

Coefficiente de Variação = 18,488%

APÊNDICE 8. Quadro da Análise de Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura MM na 2ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	104,5315	1,7717	2,1024 **
Resíduo	120	101,1266	0,8427	
Total	179	205,6581		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 4,6822 cm

Coefficiente de Variação = 19,606%

APÊNDICE 9. Quadro da Análise de Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura MM na 3ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	285,8018	4,8441	2,3789 **
Resíduo	120	244,3484	2,0362	
Total	179	530,1502		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 6,8286 cm

Coefficiente de Variação = 20,897%

APÊNDICE 10. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura MC na 1ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	17,3985	0,2949	4,1927 **
Resíduo	120	8,4400	0,0703	
Total	179	25,8385		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 2,0453 cm

Coefficiente de Variação = 12,967%

APÊNDICE 11. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura MC na 2ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	89,0780	1,5098	4,0595 **
Resíduo	120	44,6300	0,3719	
Total	179	133,7080		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 3,9633 cm

Coefficiente de Variação = 15,387%

APÊNDICE 12. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura MC na 3ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	217,9357	3,6938	4,9081 **
Resíduo	120	90,3116	0,7526	
Total	179	308,2473		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 5,6961 cm

Coefficiente de Variação = 15,230%

APÊNDICE 13. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura BDA na 1ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	16,6118	0,2816	2,8214 **
Resíduo	120	11,9750	0,0998	
Total	179	28,5868		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 1,7731 cm

Coefficiente de Variação = 17,817%

APÊNDICE 14. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura BDA na 2ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	98,5958	1,6711	6,2323 **
Resíduo	120	32,1767	0,2681	
Total	179	130,7725		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 2,9553 cm

Coefficiente de Variação = 17,522%

APÊNDICE 15. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* no Meio de Cultura BDA na 3ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Isolados	59	252,1564	4,2738	6,5295 **
Resíduo	120	78,5450	0,6545	
Total	179	330,7014		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

Média Geral = 4,0775 cm

Coefficiente de Variação = 19,842%

APÊNDICE 16. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* para os Fatores: 60 Isolados, 4 Meios de Cultura, 3 Níveis de Leituras (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Blocos	2	9,5267	4,7633	6,7040 **
Meios de Cultura	3	1392,6006	464,2002	464,3190 **
Isolados	59	886,8207	15,0309	21,1545 **
Leituras	2	5267,2057	2633,6029	3706,5531 **
Meios de Cultura x Isolados	177	356,4570	2,0139	2,8344 **
Meios de Cultura x Leituras	6	345,2124	57,5354	80,9758 **
Isolados x Leituras	118	274,5869	2,3270	3,2750 **
Meios de Cultura x Isolados x Leituras	354	123,5783	0,3491	0,4913 ns
Resíduo	1438	1021,7366	0,7105	
Total	2159	9677,7249		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade      ns = não significativo  
Média Geral = 4,1249 cm      Coeficiente de Variação = 20,453%

APÊNDICE 17. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* nos 4 Meios de Cultura, na 1ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas de Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Blocos	2	0,7441	0,3721	2,7385 ns
Meios de Cultura	3	63,4363	21,1454	155,6379 **
Isolados	59	62,8638	1,0655	7,8424 **
Meios de Cultura x Isolados	177	26,4868	0,1496	1,1014 ns
Resíduo	478	64,9426	0,1359	
Total	719	218,4736		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

ns = não significativo.

Média Geral = 2,1658 cm

Coefficiente de Variação = 17,019%

APÊNDICE 18. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* nos 4 Meios de Cultura, na 2ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Blocos	2	0,6647	0,3324	0,5100 ns
Meios de Cultura	3	542,7071	180,9024	277,5578 **
Isolados	59	309,6650	5,2486	8,0528 **
Meios de Cultura x Isolados	177	145,2317	0,8205	1,2589 ns
Resíduo	478	311,5435	0,6518	
Total	719	1309,8120		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

ns = não significativo

Média Geral = 4,2217 cm

Coefficiente de Variação = 19,123%

APÊNDICE 19. Quadro da Análise da Variância dos Diâmetros das Colônias de *C. sativus* nos 4 Meios de Cultura, na 3ª Leitura (com 3 Repetições).

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor F
Blocos	2	17,7102	8,8551	6,6588 **
Meios de Cultura	3	1131,6696	377,2232	283,6630 **
Isolados	59	788,8788	13,3708	10,0545 **
Meios de Cultura x Isolados	177	308,3168	1,7419	1,3099 *
Resíduo	478	635,6582	1,3298	
Total	719	2882,2336		

\*\* Significativo ao nível de 0,01 de probabilidade

\* Significativo ao nível de 0,05 de probabilidade

Média Geral = 5,9872 cm

Coefficiente de Variação = 19,261%