**REAÇÃO DE BERINJELA (*Solanum melongena* L.) A *Verticillium*
albo-atrum Reinke & Berth. SOB OS ASPECTOS DE HERANÇA,
PATOGENICIDADE, CONTROLE FITOHORMONAL
E BIOLÓGICO**

ITAMAR SOARES DE MELO

- Eng^o Agrônomo -

Orientador: Prof. Dr. CYRO PAULINO DA COSTA

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Agronomia. ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: *Genética e Melhoramento de Plantas*.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil

Agosto/1984

A *DEUS* por estar presente em mim.

Aos meus *pais* e *irmãos*.

A minha sobrinha *Rafaela*

A memória de minha primeira
professora - minha *avó*.

Ao

Prof. Cyro Paulino da Costa,

mestre inigualável em Melhoramento
de Hortaliças, exemplô de sabedori
a, humildade e dedicação.

MINHA HOMENAGEM

AGRADECIMENTOS

Não posso expressar suficientemente minha dívida para com os colegas e amigos cujas sugestões, ajuda e estímulo me auxiliaram neste trabalho; sem embargo, desejo consignar os meus agradecimentos às seguintes pessoas e instituições:

- *Prof. Dr. Cyro Paulino da Costa;*
- *Dr. Paulo Vanderlei Ferreira;*
- *Dra. Rosa M. Valdebenito;*
- *Eng^o Agr^o, M.S. Carlos A. Labate;*
- *Eng^o Agr^o, M.S. Marcelo Y. Kuabara;*
- *Eng.^a Agr.^a, M.S. Adriana Parada;*
- *Eng^o Agr^o, M.S. Satoru Yokoyama;*
- *Eng^o Agr^o, M.S. Wagner Bettiol;*
- *Biom., M.S. Maria Helena P. Fungaro;*
- *Farm. Bioq. Dayse Maria M. Figueiredo;*
- *Eng.^a Agr.^a Mariana Zatarin;*
- *Docentes dos Departamentos de Genética e Fitopatologia da ESALQ/USP;*
- *Funcionários do Departamento, Sr. Antônio Cella, Sr. Alcides Martins e Srta. Érica Spruck e ao estagiário Ailton Ribeiro;*
- *Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).*

Í N D I C E

RESUMO	vii
SUMMARY.	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.	5
2.1. Etiologia	5
2.2. Variabilidade de <i>Verticillium albo-atrum</i> . . .	10
2.3. Resistência de <i>Solanum melongena</i> L. a <i>Verticillium albo-atrum</i>	13
2.4. Herança da resistência a <i>V. albo-atrum</i> em algumas espécies cultivadas	15
2.5. Proteção cruzada.	18
2.6. Aspectos gerais do controle biológico	23
2.7. Micorrizas vesículo-arbusculares como agentes de biocontrole de doenças de plantas.	28
2.8. Controle de doenças de plantas com reguladores de crescimento.	36
3. MATERIAIS E MÉTODOS.	39
3.1. Local de investigação	39
3.2. Isolados de <i>V. albo-atrum</i> Reinke & Berth. . .	39
3.3. Técnica de isolamento.	40
3.4. Preparo do inóculo de <i>V. albo-atrum</i>	41
3.5. Técnicas de incubação	42
3.6. Isolados de <i>Trichoderma</i> sp. utilizados nos ensaios de controle biológico de <i>V. albo-atrum</i>	44

3.7. Critérios de avaliação da reação do hospedeiro	45
3.8. Procedimentos estatísticos	46
3.9. Experimento I - Reação de cultivares de berinjela a <i>V. albo-atrum</i> Reinke e Berth.	51
3.10. Experimento II - Origem e reação de resistência de populações segregantes de berinjela a <i>V. albo-atrum</i>	51
3.11. Experimento III - Determinação de modo de herança da resistência a <i>V. albo-atrum</i> em gerações segregantes de berinjela.	54
3.12. Experimento IV - Reação de 13 progênies F ₁₀ de berinjela a <i>V. albo-atrum</i>	55
3.13. Experimento V - Patogenicidade de isolados de <i>V. albo-atrum</i> em berinjela.	56
3.14. Experimento VI - Proteção cruzada de <i>Verticillium albo-atrum</i> em berinjela	57
3.15. Experimento VII - Estudos de controle biológico de <i>V. albo-atrum</i> em berinjela com <i>Trichoderma</i> sp.	58
3.16. Experimento VIII - Influência de micorrizas vesículo-arbusculares sobre a murcha de <i>Verticillium</i> em berinjela.	63
3.17. Experimento IX - Efeito de reguladores de crescimento sobre a murcha de berinjela causada por <i>V. albo-atrum</i>	67
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4.1. Experimento I - Reação de cultivares de berinjela a <i>V. albo-atrum</i> Reinke e Berth.	69

4.2. Experimento II - Reação de populações segregantes de berinjela a <i>V. albo-atrum</i>	72
4.3. Experimento III - Determinação do modo de herança da resistência a <i>V. albo-atrum</i> em gerações segregantes de berinjela.	74
4.4. Experimento IV - Reação de 13 progênies de berinjela a <i>V. albo-atrum</i>	81
4.5. Experimento V - Patogenicidade de isolados de <i>Verticillium albo-atrum</i> em berinjela	84
4.6. Experimento VI - Proteção cruzada de <i>V. albo-atrum</i> em berinjela.	90
4.7. Experimento VII - Estudos de controle biológico de <i>V. albo-atrum</i> em berinjela com <i>Trichoderma</i> sp.	93
4.8. Experimento VIII - Influência de micorrizas vesículo-arbuscular sobre a murcha de <i>V. albo-atrum</i> em berinjela.	101
4.9. Experimento IX - Efeito de reguladores de crescimento sobre a murcha de berinjela causada por <i>V. albo-atrum</i>	108
5. CONCLUSÕES.	115
6. BIBLIOGRAFIA	118
7. APÊNDICE.	134

REAÇÃO DE BERINJELA (*Solanum melongena* L.) A *Verticillium*
albo-atrum Reinke & Berth. SOB OS ASPECTOS DE HERANÇA,
PATOGENICIDADE, CONTROLE FITOHORMONAL E BIOLÓGICO

Itamar Soares de Melo

Prof. Cyro Paulino da Costa

- Orientador -

R E S U M O

A berinjela assume a cada dia papel de destaque na olericultura paulista. No entanto, a murcha causada por *Verticillium albo-atrum* Reinke e Berth., de ocorrência generalizada, constitui um dos problemas fitossanitários que mais afeta essa cultura.

Com relação a essa doença, o presente trabalho tem por objetivos identificar fontes de resistência; determinar e comparar níveis de resistência em populações segregantes; determinar o modo de herança da resistência; estimar o coeficiente de herdabilidade; estudar a variação no grau de patogenicidade de *V. albo-atrum* e o fenômeno de proteção cruzada de dois isolados do fungo; tentar a possibilidade do controle biológico com o fungo antagônico *Trichoderma* sp. e mi

.viii.

corrizas vesículo-arbusculares e estudar o efeito de reguladores de crescimento na incidência da doença.

Dos resultados aqui analisados podem ser formuladas as seguintes conclusões: as variedades introduzidas RV-I, RV-II, RV-III e RV-IV representam as melhores fontes de resistência e a população segregante F_2 RC₁ mostrou-se mais resistente do que as demais populações. O coeficiente de herdabilidade, ao nível de progênie, foi estimado em 85,87%. A análise de segregação em F_2 pelo teste χ^2 indicou que a resistência a *Verticillium* é controlada por um único gene recessivo. Dos dez isolados de *Verticillium* utilizados, o isolado V₅ foi o mais patogênico, enquanto o isolado V₁₀ foi menos patogênico. A interação dos dois isolados (V₅ e V₁₀) promoveu o máximo nível de proteção cruzada em berinjela quando o isolado pouco patogênico teve sua concentração 100 vezes maior que a do isolado muito patogênico. Em condições controladas todos os isolados de *Trichoderma* utilizados reduziram significativamente a doença, exceto a mutante M₁. *Trichoderma lignorum* quando foi utilizado em solo artificialmente infestado com o patógeno não conferiu proteção ao hospedeiro, mas no experimento de campo, tanto *T. lignorum* quanto o isolado T₃ reduziram sensivelmente a incidência da murcha.

Os fungos micorrízicos *Glomus leptotichum* e *Glomus macrocarpum* intensificaram a severidade da murcha ver-

· ticilar enquanto *Gigaspora margarita* e *Gigaspora heterogama* re
duziram.

Os reguladores de crescimento 2,4-diclorofenoxiacético, ácido giberélico, ácido indol-3-butírico, Cycocel e ácido succínico atrasaram e reduziram a incidência da doença. O maior controle foi conseguido com 2,4-D. O modo de ação dos reguladores não foi investigado.

EGGPLANT (*S. melongena* L.) REACTION TO *V. albo-atrum*
Reinke & Berth. UNDER THE ASPECTS OF INHERITANCE,
PATHOGENICITY, PHYTOHORMONAL AND BIOLOGICAL CONTROL

Itamar Soares de Melo

Prof. Cyro Paulino da Costa

- Adviser -

S U M M A R Y

Verticillium wilt of eggplant, incited by a microsclerotial form of *Verticillium albo-atrum* Reinke and Berth. is currently a major disease of this vegetable crop in São Paulo State, Brazil. The use of resistant cultivars associated with the biological control is the most efficient way to control the fungus.

In relation to this disease the present research aimed at identifying sources of resistance; establishing levels of resistance in segregating populations; determining the mode of inheritance; evaluating progenies for resistance reaction and estimating heritability; studying the pathogenicity of ten isolates of *V. albo-atrum*; investigating the effects of cross-protection by two isolates with different degrees of pathogenicity; studying the biological control of *V. albo-atrum* by *Trichoderma* sp. in laboratory, greenhouse

and field conditions; investigating the interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizae and *V. albo-atrum* in eggplant and studying the effects of the following growth-regulators: 2,4-Dichlorophenoxyacetic, gibberelic acid, indole-3-butyric acid, Cycocel and succinic acid on the *Verticillium* wilt.

The following conclusions can be formulated from the results herein analysed: a) the introduced varieties RV-I, RV-II, RV-III and RV-IV were the most resistant and the Brazilian varieties showed high susceptibility to *V. albo-atrum*; b) the segregating population BC to P₁ of the backcross of the cultivars (F₁: F. Market X RV-I) X F. Market is the most promising one to start an intensive selection program for resistance to pathogen; c) the genetic coefficient of variation for the character in the progenies indicate sufficient genetic variability for further improvement; d) an estimative of the heritability of 85,87% was obtained; e) based upon segregation ratios tested by chi-square, the resistance is conditioned by a single recessive gene; f) the isolate V₅ was the most pathogenic, while the isolate V₁₀ was less pathogenic; g) the interaction of the two isolates (V₅ and V₁₀) of *V. albo-atrum* induced a high degree of cross-protection in eggplant when the conidial concentration of the less pathogenic isolate was higher than that of the

more pathogenic one; h) the best results of the biological control under greenhouse conditions was obtained with *Trichoderma hamatum* and the isolate T₃ of *Trichoderma* sp. In field conditions, *T. lignorum* and the isolate T₃ reduced significantly the disease; i) the mycorrhizas *Glomus leptotichum* and *Glomus macrocarpum* enhanced the severity of the disease while *Gigaspora margarita* and *Gigaspora heterogama* reduced it; j) All the growth-regulators delayed and reduced the severity of symptoms expression caused by *Verticillium*. There was a distinct and significant reduction of the disease with 2,4-D. The mode of action of the plant growth-regulators was not investigated.

1. INTRODUÇÃO

Verticillium albo-atrum Reinke e Berth. é um dos mais importantes parasitas vasculares de plantas superiores. Sua extensa gama de hospedeiros, que inclui várias espécies agrícolas de expressão econômica, entre elas a berinjela (*Solanum melongena* L.), e sua ampla distribuição de um extremo a outro das regiões temperadas enfatizam sua importância. No Brasil, é uma doença crônica que pode causar a perda total da produção em anos de severas epidemias.

O agente causal da doença é a forma microesclerótica de *Verticillium albo-atrum*. Trata-se de um parasita especializado, cuja principal fonte de inóculo é o solo, onde suas estruturas de resistência permanecem viáveis por até 14 anos (WILHELM, 1955). Formas especializadas do fungo mostram preferência de hospedeiro ou são mais patogênicas a algumas espécies ou variedades do que a outras.

Os sintomas na berinjela variam com as condições climáticas e com a variedade afetada. A margem de temperatura ótima para infecção situa-se entre 22 a 26°C. O fungo ocorre em todos os tipos de solo, preferindo os levemente alcalinos ou neutros. As folhas basais infectadas tornam-se flácidas e se cobrem de manchas esbranquiçadas ou amareladas que logo se necrosam. É muito frequente o caráter unilateral da enfermidade, onde pode se necrosar uma só metade de uma folha, um só lado de um talo ou um só ramo de uma planta. Os sintomas nas folhas são reflexos devido às toxinas produzidas pelo fungo. Há nos caules infectados uma forte descoloração vascular.

As variedades de berinjela ora plantadas em nosso meio carecem de resistência a *V. albo-atrum*. Ademais, o controle químico efetivo da doença tem sido inconsistente e as medidas preventivas recomendadas, como a rotação de cultura, têm se mostrado pouco eficientes, devido a grande longevidade dos microesclerócios e ao grande número de espécies suscetíveis ao fungo. Nesse sentido, o uso de variedades geneticamente resistentes, adaptadas as nossas condições, figura como o método ideal de controle, pois minimiza o custo de produção e as variedades assim obtidas são acessíveis aos agricultores. Para isso, é imprescindível ensaiar algumas variedades e híbridos promissores frente a um amplo espectro do patógeno, no sentido de se estudar a variabilidade do hospedeiro e escler-

recer a possível especialização do fungo.

O manejo adequado de doenças - uso de hospedeiros resistentes e práticas culturais para maximizar a ação de antagonistas, é o método mais eficiente de controle, onde o principal objetivo é manter a produção por evitar epidemias e por não recorrer a medidas não biológicas. O controle biológico de doenças de plantas é um método que ganha importância com a evolução dos conhecimentos fitopatológicos. Microrganismos e plantas podem agir como reguladores ou mesmo exterminadores de outros, atuando em antagonismo ou competição. Controle biológico de doenças de plantas tem sido tentado pelo uso de organismos não patogênicos, ou pouco patogênicos contra os patogênicos.

Muitos reguladores de crescimento também tem reduzido a severidade de doenças de plantas causadas por certos patógenos (DAVIS e DIMOND, 1953; AGRIOS, 1969; ERWIN, 1977).

O presente trabalho teve por objetivo estudar, no complexo berinjela X *Verticillium*, vários aspectos, relatados abaixo, que poderão fornecer subsídios para o estabelecimento de um programa de melhoramento de berinjela visando resistência a murcha.

- a) Identificar fontes de resistência e avaliar, quanto a reação de resistência a *Verticillium*, populações segregantes de berinjela;
- b) Determinar o modo de herança da resistência;

.4.

- c) Avaliar e proceder seleção entre e dentro de progênies de berinjela;
- d) Estudar a variação no grau de patogenicidade de isolados de *Verticillium*;
- e) Verificar a influência da proteção cruzada de isolados de *Verticillium* no desenvolvimento da doença;
- f) Tentar a possibilidade de controle biológico da murcha de berinjela com o fungo antagonico, *Trichoderma* sp.;
- g) Estudar a influência de micorrizas vesículo-arbusculares sobre a murcha de berinjela;
- h) Estudar os efeitos de reguladores de crescimento sobre a incidência da enfermidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Etiologia

O gênero *Verticillium* foi estabelecido por Nees von Esenberk em 1816, tomando por base a morfologia dos conidióforos (ISAAC, 1967). O fungo foi primeiramente isolado na Alemanha, de plantas doentes de batata, por Reinke e Berthold em 1879, os quais o descreveram com o nome de *Verticillium albo-atrum* (PRESLEY, 1950). Em 1913 Klebahan isolou um *Verticillium* vascular de dâlias doentes e considerou o isolado suficientemente diferente do anterior para justificar o estabelecimento de uma nova espécie, *Verticillium dahliae*. A principal diferença, segundo a descrição de Klebahan, parece ser a produção de microesclerócios pelo *V. dahliae* e a ausência destas estruturas no *V. albo-atrum* Reinke e Berth. Ainda segundo PRESLEY (1950), este critério foi sustentado por Van der Mer, Dufrenoy e Berkeley, Madden e Wilson, ao tempo de Carpenter, Wollenweber e Rudolph consideraram que a descri

ção original de Reinke e Berthold inclui ambos os tipos, já que ilustraram corpos semelhantes e microesclerócios nos seus desenhos originais. Desde então controvérsias têm sido mantidas sobre a validade das espécies.

VIEGAS (1939) acredita que microesclerócios não têm valor na separação das duas espécies e que só há uma espécie, *V. albo-atrum*, e que esta se divide em linhagens fisiológica e patogenicamente distintas. Trabalhando com culturas monospóricas de formas microesclerociais e miceliais de *V. albo-atrum*, PRESLEY (1941) obteve de ambas as culturas tanto formas que produziam microesclerócios como outras que não, concluindo que muitas das linhagens são meramente variantes de *V. albo-atrum*.

WILHELM *et alii* (1948) demonstraram a influência da temperatura sobre as características das colônias do tipo conidial selvagem de *V. albo-atrum*. As colônias que cresciam a baixas temperaturas eram pretas e consistiram quase exclusivamente de microesclerócios, enquanto que aquelas desenvolvidas em temperaturas maiores (25 a 31°C) eram de cor creme claro e somente tinham desenvolvimento espalhado dos microesclerócios. Concluíram que as estruturas de resistência e particularmente os microesclerócios não são elementos de confiança para separar espécies.

FORDYCE JR. e GREEN JR. (1964) induziram mutan

tes bioquímicos em dois isolados, representando *V. albo-atrum* e *V. dahliae* através de irradiação com ultra-violeta. Os resultados foram pareados e analisados para identificar recombinantes parassexuais e heterocariontes. De um total de 4.600 isolamentos monospóricos, obtiveram 21 colônias com características recombinantes. Concluíram que a anastomose e a recombinação parassexual entre culturas de *V. albo-atrum* e *V. dahliae* dá evidências adicionais à hipótese de que são linhagens de uma espécie única, *V. albo-atrum*.

Estudando 11 isolamentos de *V. albo-atrum* e *V. dahliae* sob condições nutricionais diferentes, SHMOTINA e GORLENKO (1968) constataram que os polissacarídeos glucose e maltose exercem o papel mais importante na formação dos microesclerócios. Concluíram que as duas denominações referem-se à mesma espécie.

De acordo com WILHELM (1951) *V. albo-atrum* é um fungo invasor do solo, sendo sua existência saprofítica limitada a uma precária locação em material de plantas invadido, e sua persistência depende da durabilidade de estruturas de resistência. Ainda WILHELM (1955) relatou que *V. albo-atrum* persistiu por 13 anos em meio de cultura, sobrevivendo por intermédio de microesclerócio no estágio seco da cultura e por 14 anos em solo de campo livre de hospedeiros, refletindo a longevidade da estrutura de resistência.

EMMATY e GREEN JR. (1969) demonstraram a sensibilidade de microesclerôcio à fungistase do solo e à inibção da germinação pela lavagem com água na ausência do solo.

KIRALY *et alii* (1970) relataram, para cultivo de *V. albo-atrum* "*in vitro*", que o ótimo desenvolvimento ocorre com pH 5,9 - 6,3; temperatura de 24 - 27°C; fonte de carbono a L-arabinose e maltose. A formação de novos "*strains*" com respeito à morfologia, fisiologia e virulência é o resultado do processo parassexual ou mutação.

Em inúmeras culturas suscetíveis a *V. albo-atrum* são abundantes os trabalhos referentes aos diversos aspectos das relações hospedeiro/patógeno. Formas de maior virulência do patógeno foram determinadas no lúpulo (ISAAC e KEYWORTH, 1948); no tomateiro (ALEXANDRE, 1962) e no algodoeiro (SCHNATHORST e MATHRE, 1966).

Na verificação da relação hospedeiro/patógeno, entre tomate e isolados patogênicos de *Verticillium*, GRIFFITHS e ISAAC (1966) notaram que a penetração por formas hialinas dos diferentes isolados foi muito mais lenta que para culturas com estruturas de resistência. Em campos de ensaio ficou demonstrado que a patogenicidade das formas hialinas foi reduzida, sugerindo uma falta de agressividade para o isolado na ausência de estruturas de resistência. Frequentemente, formas hialinas não tiveram êxito em penetrar intracelularmente nos teci-

dos da raiz e sim penetração intercelular.

Com relação à patogenicidade de *V. albo-atrum*, HORNER (1953) testou *Verticillium* de vários hospedeiros em hortelã pimenta. Constatou que todos os isolados cresceram no caule e que os sintomas típicos de murcha somente foram expressos por isolados originalmente obtidos de hortelã pimenta com sintomas de murcha.

SCHEFFER *et alii* (1956), analisando os aspectos fisiológicos da murcha de *Verticillium*, observaram que a transpiração foi inibida antecedendo e acompanhando a expressão de sintomas. Disfunção vascular na forma de descoloração e bloqueio dos vasos foi evidente.

DIXON e PEGG (1969) concluíram seus estudos afirmando que tiloses sempre ocorrem subsequente à colonização hifática da raiz, caule e xilema peciolar. Sua formação resultante da reação específica do "*strain*" do fungo e hospedeiro, não constitui um mecanismo primário de resistência, e que lise de hifas e tiloses não parecem estar relacionadas. Estudando a invasão vascular do lúpulo, TALBOYS (1958) encontrou que sintomas agudos estavam usualmente associados com intensa colonização micelial do sistema vascular e suaves tiloses. Suaves sintomas estavam associados com escassa colonização micelial e intensas tiloses associadas à hiperplasia do xilema.

De acordo com PEGG e DIXON (1969), tiloses têm sido consideradas como estruturas de defesa do hospedeiro, retardando o desenvolvimento de hifas nos vasos ou a rápida colonização por conídios. Contudo, as tiloses, para prevenir a distribuição do fungo, devem retardar, concomitantemente, o transporte de água mais eficiente do que seria capaz o patógeno. Além disso, se tiloses podem retardar ou prevenir a distribuição do fungo, elas devem também reduzir a severidade da doença. Isso não foi totalmente constatado.

SINHA e WOOD (1967) analisando resistência e suscetibilidade de plantas de tomate, concluíram que tiloses devem ser iniciadas não diretamente por metabólitos do parasita, mas por substâncias formadas pelo hospedeiro como uma resposta à injúria do parasito. Substâncias anti-fúngicas aparecem nos elementos vasculares, e estas finalmente, atingem concentrações que reduzem ou inibem o crescimento do parasito, causando também lise de hifas.

2.2. Variabilidade de *Verticillium albo-atrum*

Procurando determinar a suscetibilidade de tomates a certos isolados de *Verticillium* de Ohio e da Califórnia, ALEXANDER (1962) verificou que variedades suscetíveis foram suscetíveis a ambos os isolados, enquanto que as variedades

des resistentes foram altamente resistentes ao isolado da Califórnia e suscetíveis ao de Ohio. Conclui-se que o fato pode ser devido a diferentes raças fisiológicas do patógeno ou a diferentes níveis de resistência da planta.

Segundo MATHRE *et alii* (1966) mais de uma raça de *Verticillium* pode atacar o algodoeiro. Muitos isolados, obtidos de áreas diferentes dos Estados Unidos, México e Peru, foram patogenicamente idênticos ao da Califórnia quando inoculados em tomateiros e algodoeiros. Por outro lado, os isolados obtidos no Peru foram os menos patogênicos.

GRIFFITHS e ISAAC (1966), estudando as relações entre tomateiros e isolados de *Verticillium*, encontraram variação em patogenicidade entre dois isolados no campo. Os isolados hialinos foram menos patogênicos que aqueles que formavam microesclerócios. A falta de agressividade parece estar relacionada àquelas estruturas.

Os resultados dos estudos de EVANS e McKEEN (1975) sobre a variação patogênica de 11 isolados de *Verticillium* obtidos de pimentão e 32 de outras culturas, mostraram evidências da existência de linhagem ou linhagens causando murcha em pimentão. Muitos isolados que atacavam plantas de tomate e berinjela não atacavam o pimentão, mostrando que linhagens patogenicamente diferentes podiam ocorrer juntas no solo. WILHELM (1975) obteve isolados de *Verticillium* atacando So-

lanum sarachoides que se mostraram patogênicos ao morangueiro incluindo cultivares resistentes a isolados obtidos de tomateiro.

Comparando a patogenicidade de dois isolados (T-1 e SS-4) de *V. albo-atrum* de algodoeiro na Califórnia, SCHNATHORST e MATHRE (1966) verificaram que ambos podem ser diferenciados pelos sintomas causados a *Gossypium hirsutum* e *G. barbadense*. Embora respostas diferenciais aos isolados fossem verificadas em algodoeiros, pouca evidência de raças diferentes foi encontrada utilizando outras espécies de plantas. Enquanto melão, melancia e *Vigna sinensis* não foram afetadas por nenhum dos isolados, o quiabeiro mostrou-se altamente suscetível a ambos os isolados e os tomateiros foram suscectíveis ao isolado T-1 e não ao SS-4.

RAVA (1970), estudando a variabilidade de *Verticillium albo-atrum*, ensaiou 28 isolados procedentes do Uruguai que causavam murcha em girassol (*Helianthus annuum*, L.)). Seus resultados mostraram não existir especialização fisiológica, apesar de ter um isolado mais agressivo que os demais.

Mais recentemente, SILVA (1978) estudou a variabilidade de 21 isolados de *V. albo-atrum* obtidos de diferentes ervas daninhas e de diferentes regiões, sobre tomateiro Santa Cruz cv. "Kadã". Verificou não existir especialização a nível de raças fisiológicas entre os isolados estudados,

embora os isolados tenham diferido entre si quanto à agressividade.

2.3. Resistência de *Solanum melongena* L. a *Verticillium albo-atrum*

Berinjela (*Solanum melongena* L.) infectada mostra áreas cloróticas nas folhas que se tornam flácidas, as plantas tornam-se definhadas, murcham e morrem. Os primeiros sintomas são geralmente vistos nas folhas mais velhas que começam a amarelar e murchar.

As cultivares de berinjela comerciais carecem na sua maioria, de resistência a *V. albo-atrum*. Embora diferenças na suscetibilidade entre tais cultivares existam, não parece haver níveis elevados de resistência. BRAVERMAN (1963) avaliou 290 introduções (PI's) de berinjela e encontrou tolerância em cinco PI's da Turquia: 169650, 169666, 191851, 176759 e 204731. LOCKWOOD e MARKARIAN (1961) obtiveram plantas de berinjela resistentes a *V. albo-atrum* através de seleção de plantas individuais, feita a partir de introduções de *Solanum melongena* L. que tinham sido selecionadas para resistência em 1950 na Estação Experimental de Agricultura de Utah. Linhas uniformemente resistentes à murcha de *Verticillium* foram obtidas através de seleção e autofecundação, primeiro usando um único isolado de *V. albo-atrum* e depois numa

mistura de seis isolados do fungo. As seleções resistentes foram cruzadas com variedades padrões e as gerações avançadas resistentes e com tipos de plantas e frutos comercialmente aceitos foram avaliadas em condições de campo. Em trabalho subsequente LOCKWOOD e MARKARIAN (1967) relataram o desenvolvimento e avaliação daquelas linhas. Além disso, as linhas endogâmicas resistentes foram cruzadas com variedades comerciais e os híbridos F_1 foram avaliados. Os resultados indicaram que é possível, através de seleção de introduções estrangeiras de berinjela ou pelo melhoramento destas com variedades comerciais, desenvolver variedades de berinjela combinando um grau de resistência a *Verticillium* com tipo de fruto em forma de sino, preferido pelo mercado. Em todos os testes descritos as várias linhas mostraram consistentemente um nível superior de resistência a *Verticillium* do que o da conhecida variedade Black Beauty.

O'BRIEN (1983) avaliou, para resistência a *V. albo-atrum*, a coleção PI de berinjela consistindo de 473 linhas e 10 cultivares. Após a inoculação com 1 milhão de esporos/mililitro, as plantas foram avaliadas através de uma escala de notas (1 = plantas mortas; 10 = nenhuma infecção). Trinta e seis introduções de plantas com notas 5 (cinco) ou superior foram selecionadas como potencialmente resistentes ou tolerantes à murcha. As três introduções com menor suscetibilidade foram PI's 164458, 381160 e 3181166, todas da Índia. En-

entre as cultivares sobreviventes, Harris 468 Special Highbush e Harris Hybrid 77631 tiveram as notas mais altas seguidas por Black Jet, Black Knight, Black Magic, Early Royal, Jersey King, Long Black Beauty e Peerless.

Referindo-se à espécie *Verticillium dahliae* como agente causador da murcha em berinjela, FIGUEIREDO *et alii* (1968) ensaiaram cinco variedades de berinjela com o objetivo de estudar a resistência dessas variedades à murcha verticilar. Os resultados mostraram que, nas condições em que foram feitas as experiências, todas as variedades estudadas foram suscetíveis. Todavia, as variedades Santa Genebra, Florida Market e Fort Myers Market apresentaram comportamento superior. As variedades Extra Early Long Purple e Pitangueiras mostraram ser altamente suscetíveis ao fungo.

2.4. Herança da resistência a *Verticillium albo-atrum* em algumas espécies cultivadas

A herança da reação de resistência a *V. albo-atrum* em girassol (*Helianthus annuum* L.) foi estudada por FICK e ZIMMER (1974). As linhagens endógamas HA 89, HA 124 e P-21 VR 1 e os seus híbridos F_1 foram altamente resistentes à murcha de *Verticillium* em condições de campo. As taxas de segregação do cruzamento-teste e populações F_2 indicaram a presença de um único gene dominante para resistência em cada li-

nhagem. Intercruzamentos entre as linhagens resistentes mostraram que o mesmo gene condicionava resistência nas três linhagens. Para determinar se o mesmo gene ou genes diferentes estava (m) presente (s) entre HA 89, HA 124 e P-21VR1, cruzamentos foram feitos entre HA 89 e P-21VR1 e entre HA 124 e P-21VR1. Os F_1 's resultantes foram cruzados com as linhagens suscetíveis RHA 273 ou RHA 274. Se diferentes genes para resistência estivessem envolvidos, estas populações segregariam 3 resistentes: 1 suscetível, visto que, se o mesmo gene estivesse envolvido, nenhuma segregação ocorreria. Assim, através destes intercruzamentos concluiu-se que o mesmo gene está presente em todas as três linhagens de girassol.

A herança da tolerância a *V. albo atrum* em algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) não está bem elucidada (BARROW, 1970). Alguns cruzamentos demonstraram segregação transgressiva em condições de campo (COTTON, 1965; FISHER, 1968).

BARROW (1970), estudando a herança da tolerância a *V. albo-atrum* em algodoeiro, encontrou que, as respostas de híbridos F_1 's das duas linhagens "Acala 9519" e "Acala 1479", tolerantes à murcha, quando cruzadas com "Acala 227", uma linhagem suscetível, foram ou tão tolerantes quanto "Acala 9519" ou tão suscetíveis como "Acala 227". Plantas de "Acala 227" quando cruzadas com 11 plantas de "Acala 9519" produziram todas as plantas F_1 tolerantes com exceção de uma. O cruzamen-

to A227 x A9519-A produziu a maioria das plantas F_1 suscetíveis. Tal resposta foi atribuída à heterozigosidade das plantas parentais tolerantes. Desse modo, a tolerância ao isolado SS-4 de *V. albo atrum* agiu como um caráter dominante nas plantas F_1 dos cruzamentos A9519 X A227 e A1479 X A227.

WILHELM *et alii* (1969) têm relatado a presença de um gene dominante para resistência à murcha em algodoeiro, entre os cruzamentos Upland X Sea Island.

BARROW (1970) também observou herança do tipo dominante para resistência quando um isolado de *Verticillium albo-atrum* foi usado nos testes envolvendo os cruzamentos de Upland tolerante X Upland suscetível. Os resultados dos simples cruzamentos indicaram que alguma heterozigosidade estava presente nos pais tolerantes, já que as progênes F_1 foram agrupadas em tolerantes e suscetíveis.

A estimativa da herdabilidade no sentido amplo da tolerância à murcha em algodoeiro Upland Americano foi estudada por ROBERTS e STATEN (1972). Em condições severas de campo os autores compararam as gerações F_2 e F_3 de cruzamentos de variedades tolerantes X suscetíveis. A estimativa da herdabilidade variou de 0 a 0,833 dependendo da geração avaliada e tipo da tolerância do parental presente.

Em algumas culturas de interesse agrícola a he

rança da resistência a *V. albo-atrum* parece muito simples. SCHAIBLE *et alii* (1951) concluíram que a resistência a *V. albo-atrum* em tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) na variedade W6 (resistente) difere da variedade Moscow (suscetível) por um único gene dominante. Os autores foram capazes de transferir a resistência pelo método de retrocruzamento. Dominância para resistência tem sido também relatada em morango (*Fragaria* spp.) (WILHELM, 1955) e batatinha (*Solanum tuberosum* L.) (McLEAN, 1955). Recessividade para resistência tem sido mostrada em algumas fontes de girassol (PUTT, 1964) e de berinjela (LOCKWOOD e MARKARIAN, 1961).

2.5. Proteção cruzada

Imunidade adquirida e proteção cruzada são fenômenos bem estabelecidos com vários vírus de plantas (BENNETT, 1953). A proteção pode ser sistêmica ou localizada (ROSS, 1961; YARWOOD, 1960) e não é necessariamente específica para certas combinações de vírus. Proteção com bactérias fitopatogênicas é desconhecida, exceto para o caso relatado por LOVREKOVICK e FARKAS (1965). De acordo com os autores, pré-tratamento de folhas de fumo com suspensão de *Pseudomonas tabaci*, mortas pelo aquecimento, tem induzido proteção contra infecção por *P. tabaci*. Há vários exemplos de proteção de plantas com combi-

nação de plantas com combinações fungo-vírus (BOZARTH *et alii*, 1962; HECHT e BATEMAN, 1964; WILSON, 1958).

YARWOOD (1956) relatou proteção cruzada com dois fungos da ferrugem do girassol. Quando certas quantidades de uredosporos de *Uromyces phaseoli* foram colocadas sobre folhas de girassol antes ou ao mesmo tempo da inoculação das folhas com *Puccinia helianthi*, as folhas foram protegidas da infecção com *P. helianthi*. Similarmente, uredosporos de *P. helianthi* protegeram folhas de feijoeiro da infecção causada por *U. phaseoli*.

De acordo com WILSON (1958), proteção cruzada entre o fungo da ferrugem do feijoeiro, *Uromyces phaseoli typica* e o vírus do mosaico do fumo (TMV) foi demonstrada em tecidos de folhas de feijão. Folhas infectadas com TMV mostraram uma resistência à ferrugem e folhas com ferrugem mostraram uma resistência à infecção de TMV.

Efeitos de antagonismo local entre o fungo da ferrugem da aveia, *Puccinia cereolata* e o fungo da ferrugem foliar de trigo, *P. recondita*, foram verificados por JOHNSTON e HUFFMAN (1958). Folhas de plântulas de trigo suscetíveis a *P. recondita* foram inoculadas com uredosporos de *P. cononata*, antecedendo a inoculação de *P. recondita*. As pústulas de ferrugem desenvolvidas nas folhas foram poucas em número e de um tipo de infecção diferente daquelas sobre plantas inocula

das so com *P. recondita*.

DAVIS (1964) apresentou evidência de proteção cruzada em plântulas de repolho, tomate, linho, melancia e algodão, desenvolvidas individualmente sob luz em um substrato de agar em tubos de ensaio e inoculadas com várias combinações de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, f. sp. *batatas*, f. sp. *tracheiphilum*, f. sp. *aconglutinans* raça 1, f. sp. *dianthi*, f. sp. *lycopersici*, f. sp. *niveum* e f. sp. *lini*. Exames histológicos indicaram que infecção cruzada foi comum; os não patogênicos penetraram na raiz poucos milímetros do ponto de inoculação. Segundo DAVIS (1967), plantas de tomate foram mais resistentes à murcha de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* quando primeiro inoculadas com "formae speciales" de *Fusarium oxysporum* não patogênicas ao tomateiro. Presumivelmente, a proteção cruzada relatada neste estudo é consequência de infecção cruzada.

Resistência à murcha de *Fusarium* induzida pela inoculação simultânea com uma mistura das raças 6 e 11 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* tem sido reportada por BORLAUG (1945) onde cita a baixa porcentagem de plantas de linho doentes, em condições de campo e casa de vegetação. Fato semelhante tem sido observado por McCLURE (1951) com *F. solani* f. sp. *batatas* em batata doce e por PERRY (1959) com o patógeno da podridão da raiz em ervilha.

Pesquisas na Universidade de Ohio demonstraram que tomate, algodão e caupi foram protegidos contra a murcha de *Fusarium* quando antes inoculados com espécies de *Cephalosporium* (CHISLER *et alii*, 1962; LONG, 1963; ROY e PATEL, 1963).

Muller (1958) citado por TOKESHI (1971), estudando fitoalexinas, reportou que tubérculos de batatas resistentes a uma raça de *Phytophthora infestans* e suscetíveis a uma segunda, tornaram-se resistentes a segunda raça quando os tubérculos tinham sido pré-inoculados com a raça a qual foram resistentes.

Estudando proteção cruzada em tomateiro TOKESHI (1971) demonstrou que a cultivar "New Yorker" resistente à murcha causada por *Verticillium*, mas suscetível à murcha causada por *Fusarium* e o cultivar "Heinz 1548", resistente à murcha de *Fusarium*, mas suscetível à murcha de *Verticillium*, quando inoculadas simultaneamente em concentrações diferentes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 1 e *Verticillium albo-atrum* apresentaram proteção cruzada com *Verticillium* na cultivar "New York" e com *Fusarium* na cultivar "Heinz 1548".

Na mesma linha de pesquisa, SCHNATHORST e MATHRE (1966), trabalhando com dois isolados de *V. albo-atrum* em algodoeiro, um moderado e o outro severamente patogênico, demonstraram que quando o isolado moderado foi inoculado e uma inoculação posterior com o isolado severo, com um poten-

cial de inóculo inferior ao do isolado moderado, as plantas foram protegidas da murcha de *Verticillium*. Quando solo de campo naturalmente infestado com o isolado severo (estimado em 5×10^3 propágulos viáveis/g) foi suplementado com inóculo microesclerocial (10^5 propágulos viáveis/g) do isolado moderado, 94% das plantas foram protegidas. Em contraste, 100% da murcha do isolado severo desenvolveu em solo de campo não suplementado.

Vários trabalhos (BEAL, 1969; BELL e PRESLEY, 1969) e ZAKI *et alii* (1972)) têm demonstrado que conídios de *V. albo-atrum* mortos pelo calor também induziam proteção quando infiltrados em hastes de algodoeiros. Acumularam-se fortes evidências no sentido de que a proteção cruzada e a resistência de variedades de algodoeiros estão relacionadas com a produção de gossipol e compostos correlatos, uma vez que já se comprovou a formação dessas substâncias nos tecidos após a infecção, bem como seu efeito anti-fúngico em testes *in vitro*. Falta, porém, verificar se o nível desses compostos no local da infecção é suficientemente alto para ser o responsável pela proteção constatada.

Trabalho semelhante sobre proteção cruzada de *Verticillium albo-atrum* foi desenvolvido por PINTO (1978) em tomateiro. A interação de dois isolados, um mais e outro menos patogênico, promoveu alto nível de proteção cruzada, quando o isolado pouco patogênico teve sua concentração conidial

maior que a do isolado muito patogênico.

2.6. Aspectos gerais do controle biológico

O controle biológico pode ser interpretado geralmente como o encorajamento de organismos benéficos já existentes em uma localidade e a introdução àquele lugar de novas espécies de organismos benéficos.

Baseado em sua revisão sobre o assunto GARRETT (1965) considera o controle biológico de doenças de plantas como um método de larga aplicação no futuro. Os trabalhos de WEINDLING *et alii* (1950), WOOD e TVEITT (1955), CARDOSO (1968), TOKESHI (1971) e muitos outros têm ressaltado a importância deste método de controle.

A maioria dos exemplos de proteção de plantas pela infestação do solo com dois ou mais fungos são provavelmente devido, direta ou indiretamente, ao antagonismo ou competição por nutrientes entre os fungos; onde isto pode ser mostrado no solo e *in vitro*. Assim, ANWAR (1949) relatou proteção em plantas de cevada contra *Helminthosporium sativum* na presença de *Trichoderma lignorum* e *Penicillium* sp. no solo. O autor demonstrou reações antagônicas entre estes organismos "*in vitro*".

WEINDLING e FAWCETT (1936) estudaram o contro-

le da Rizoctoniose das mudas de citros, acidificando-se o solo. Concluiu que o efeito controlador desta prática se deve a um aumento, nestas condições, de *Trichoderma* spp., fungo de ação antagônica à *Rizoctonia solani*. WEINDLING (1941) isolou e testou toxina produzida por *Gliocladium fimbriatum* e por algumas espécies de *Trichoderma*, verificando sua alta ação antagônica contra esporos de *Sclerotinia americana* e hifas de *Rhizoctonia solani*.

TVEITT e WOOD (1955) testaram quarenta e sete isolados de *Chaetomium*, representando vinte e sete espécies, quanto a sua habilidade em controlar o crestamento de plântulas de aveia, causado por *Fusarium nivale*. Alguns isolamentos de *C. globosum* e de *C. cochliodes* deram alto índice de controle, rivalizando com o tratamento de sementes por fungicidas mercuriais. *C. cochliodes* é altamente eficiente no controle, quando misturado nos solos 10 meses antes da semeadura da aveia. Os isolados que proporcionaram um bom controle não se mostraram muito antagônicos ao crescimento do *Fusarium* em placas de Petri.

Anteriormente aos trabalhos de TVEITT e WOOD (1955), WARKSMAN e BUGIE (1944) já tinham isolado uma substância antibiótica produzida por *Chaetomium*, a chaetomina, que se assemelha em ação à penicilina, agindo principalmente sobre bactérias gram-positivas.

TARVETT (1938) relatou considerável diminuição da intensidade de murcha do linho quando se inoculou uma espécie de *Chaetomium* junto com um biótipo altamente patogênico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*, sendo que foram observadas modificações semelhantes às micorrizas de *Pinus* em plantas inoculadas com esses dois organismos.

Em certas áreas da Jamaica, as bananeiras mostram-se resistentes ao "Mal do Panamá" causado por *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. MEREDITH (1944) atribuiu este fato à ação antagônica de actinomicetos. Em mais de 7.500 isolamentos realizados em 66 amostras de solos, o autor testou a capacidade antagônica de 1.020 deles e relatou que 122 isolados provaram ser antagônicos a *F. oxysporum cubense* "in vitro". Posteriormente, THAYSEN e BUTLIN (1945) verificaram a presença de uma substância termolábil e não filtrável em filtros de porcelana com ação inibidora sobre o desenvolvimento daquele patógeno, nos metabólitos dos actinomicetos relatados por MEREDITH (1944). Entretanto, MEREDITH (1966), trabalhando com os mesmos actinomicetos, ou em combinação com a prática de cobertura morta, não obteve resultados promissores "in vitro".

SMITH (1957) parece ter sido o primeiro autor a relatar o efeito de *Cephalosporium*, então citado como *Micromonospora*, sobre a murcha fusariana do tomateiro. O autor atribuiu a redução da murcha à ação de substância antibiótica sis

têmica. ALLISON e PHYLLIPS (1963) conseguiram aumentar a atividade antagônica de *Cephalosporium* por passagens sucessivas em algodoeiro ou tomateiro, aos respectivos agentes de murcha fusariana. LONG (1963) não conseguiu maior redução de murcha em caupi com reisolamentos de *Cephalosporium*, quando comparado com os isolamentos originais com que ele trabalhou. Patel (1964), citado por CARDOSO (1968), estudou o efeito de *Cephalosporium* na redução da murcha fusariana do algodoeiro e relatou que passagens sucessivas de *Cephalosporium* resultaram em diferentes efeitos protetores conforme os isolados testados tendo havido aumento na eficiência em alguns casos e diminuição em outros. Rodebaugh (1964), citado por CARDOSO (1968), estudou o aspecto bioquímico da ação de *Cephalosporium* na proteção de tomateiro contra a murcha fusariana e relatou que em plantas pré-inoculadas com *Cephalosporium*, a atividade de metil esterase péctica aumentava vagarosamente após a inoculação com *Fusarium* para depois diminuir rapidamente. Quando as plantas foram inoculadas só com *Fusarium* o aumento de atividade de dessa enzima foi rápido.

Estudando o controle biológico da murcha de *Verticillium* (*Verticillium albo-atrum*) do quiabeiro, Bedi (1966), citado por CARDOSO (1968), verificou que baixas concentrações de *Cephalosporium* inoculadas antes do *Verticillium* reduziram significativamente a incidência da doença. *Cephalosporium* e

Verticillium não se mostraram antagônicos em cultura, porém, extratos de raízes de plantas inoculadas com *Cephalosporium* inibiam o desenvolvimento de *Verticillium*. O mesmo autor sugere que a natureza da resistência induzida em plantas inoculadas com *Cephalosporium* à invasão de *Verticillium* é de natureza bioquímica.

Mostafa (1966), citado por CARDOSO (1968), estudou o controle de *Fusarium* e de *Verticillium* do algodoeiro com uma série de fungos, isolados de plântulas de algodoeiro e de outras fontes. O autor postulou que *Chaetomium* e *Gliocladium* atuaram através da produção de substâncias difusíveis com ação inibidora sobre o crescimento dos patógenos, outros (*Cephalosporium*, *Gonatorrhodiella* e *F. oxysporum*), através da indução de formação de tiloses, retardando a colonização dos vasos pelos agentes da murcha; *Colletotrichum gossypii*, *Botryodiplodia* e *Phoma* reduziram o índice de murcha por produção de substâncias tóxicas e por obstrução dos vasos. *Alternaria*, *Curvularia*, *Thielaviopsis*, *Macrophomina* e *Volutella* não diminuíram a intensidade das murchas e causaram danos ao algodoeiro.

Estudos interessantes sobre fungos antagônicos a *Verticillium* foram feitos por CATANI *et alii* (1967). O fungo *Penicillium funiculosum* foi antagônico "in vitro" mas não foi eficiente na proteção de berinjela, devido a fitotoxicidade da substância ativa. *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma*

lignorum e *Gliocladium roseum* foram eficientes "*in vitro*" e "*in vivo*". Os autores mostraram que "*in vivo*" houve proteção inicial, que não permaneceu até o fim do ciclo, ressaltando a necessidade de desenvolvimento de técnicas para manutenção da população antagônica.

A utilização de métodos biológicos para o controle de *Verticillium albo-atrum* em berinjela já foi testada com sucesso utilizando *Trichoderma lignorum* na Rússia (BULMISTRU e SHTEINBERG, 1978). Trinta e quatro isolados de fungos de solo, compreendendo 12 gêneros e 15 espécies foram testadas por MARROIS *et alii* (1982) em condições de casa de vegetação contra *Verticillium* de berinjela. Seis isolados que reduziram a doença nos experimentos de casa de vegetação foram avaliados em dois campos com solo e sistemas de cultivo diferentes. Os autores concluíram que um isolado de *Talaromyces flavus* reduziu a murcha de *Verticillium* em 76 e 67% nos campos 1 e 2 respectivamente, e a produção de frutos foi aumentada em ambos os campos.

2.7. Micorrizas Vesículo-Arbusculares como Agentes de Biocontrole de Doenças de Plantas

2.7.1. Considerações Gerais

Micorrizas vesículo-arbusculares (VA) são associações mutualísticas formadas por fungos da família *Endog*

naceae e raízes da maioria das espécies vegetais, em quase todas as famílias das angiospermas e em algumas gimnospermas, pteridófitas e briófitas, cuja ocorrência, embora mais acentuada em solos de baixa fertilidade, tem sido constatada nos mais diversos ecossistemas. Morfológica e anatomicamente, elas são caracterizadas pela invasão intracelular das células corticais pelas hifas do fungo, com formação de arbúsculos, vesículas e esporos característicos. O micélio formado externamente funciona como uma extensão do sistema radicular da planta hospedeira, aumentando a interface raiz-solo e, consequentemente a absorção de nutrientes e água do solo.

Dentre os nutrientes absorvidos por estes fungos, o fósforo (P) é o mais importante do ponto de vista nutricional para o hospedeiro (TINKER, 1975). O processo de absorção de P pelas hifas é ativo, pois a concentração iônica deste elemento no solo é usualmente menor que 1 ppm, e as hifas contêm 0,3% (PEARSON e TINKER, 1975). O P absorvido é acumulado nos vacúolos das hifas como grânulos de polifosfato, os quais são transportados, onde o P é convertido à forma iônica e transportado ativamente para as células do hospedeiro, por processos enzimáticos (DEXHEIMER *et alii*, 1982).

Como simbioses obrigatórios, os fungos endomycorrízicos obtêm nutrientes orgânicos essenciais de seus hospedeiros e as plantas assim colonizadas exibem maior taxa fotossintética do que plantas não colonizadas (ALLEN *et alii*, 1981).

Por outro lado, o fungo pode perfeitamente funcionar como um dreno de carboidratos do hospedeiro, causando redução de crescimento da planta hospedeira. A transferência de material do hospedeiro para o fungo ocorre nos arbúsculos, mas isto ainda não está claro (WOOLHOUSE, 1975).

O manejo das micorrizas oferece grande oportunidade para maximizar a produção agrícola, onde a principal meta da pesquisa com fungos micorrízicos está voltada à perspectiva de utilização imediata em solos agrícolas depauperados pela erosão, mineração, construção civil, etc.

Com relação às doenças de plantas, encontram-se na literatura vários estudos indicando que infecção radicular por fungos micorrízicos pode influenciar as doenças causadas por fungos do solo. Em algumas combinações hospedeiro parasita, intensificando-as e noutras reduzindo a severidade da doença.

2.7.2. Interação Entre Micorrizas e Fungos Fitopatogênicos

Os organismos que causam doenças de plantas, principalmente os fungos e nematóides, e os benéficos, como as micorrizas vesículo-arbusculares (VA), ocorrem comumente juntos nas raízes ou rizosfera da mesma planta.

As micorrizas VA possuem grandes potenciais co

mo agentes de biocontrole, quando ambos os microrganismos ocorrem simultaneamente nas raízes ou rizosfera. Segundo WILHELM (1973) a avaliação de micorrizas VA como agentes de biocontrole é uma das áreas mais desafiantes em patologia vegetal. As primeiras evidências do efeito de micorrizas sobre o decréscimo da severidade de doenças causadas por fungos fitopatogênicos foram apresentadas em trabalhos envolvendo *Phytophthora cinnamomi* e os fungos ectomicorrízicos *Pisolithus tinctorius* e *Cenococcum graniforme* em *Pinus* sp. (MARX, 1973). Esses fungos reduziram o número de propágulos do patógeno no solo, além de exercer certa proteção à planta.

A maioria dos relatos na literatura indicam que os fungos micorrízicos VA têm diminuído a severidade da doença. SCHENCK *et alii* (1977) mostraram que pré-colonização da raiz por *Gigaspora margarita* ou *Glomus macrocarpus* reduziu o dano causado por *Phytophthora parasitica* nas raízes de citrus (*Citrus aurantium* L. e *Citrus sinensis* X *Poncirus trifoliata* (L) Raf.). As plantas de citros colonizadas com espécies micorrízicas tiveram maior peso da raiz e diâmetro do caule do que plantas não micorrizadas. Para assegurar bom desenvolvimento micorrízico nas raízes de citros, as plantas foram expostas 110 dias a fungos micorrízicos antes de serem inoculadas com *P. parasitica*.

PAGET (1975) trabalhando com *Cylindrocarpon*

destructans (Zins.) Schol., um patógeno do morango (*Fragaria vesca* L.), obteve menos plantas definhadas e uma redução na infecção radicular quando as raízes foram colonizadas por micorrizas VA. DEHNE e SCHONBECK (1975) indicaram que a murcha do tomateiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder e Hans, foi reduzida pela colonização com *G. mosseae*.

Quando *G. mosseae*, *Pythium ultimum* e *Rhizoctonia solani* foram inoculadas simultaneamente em *Euphorbia pulcherrima* Willd., STEWART e PFLEGER (1977) verificaram sintomas de definhamento nas plantas. Contudo, quando os dois patógenos foram inoculados 20 dias depois de *G. mosseae*, o crescimento do hospedeiro foi equivalente àquele onde nenhum patógeno foi acrescentado.

A presença de *G. mosseae* nas raízes de cebola (*Allium cepa* L.) aumentou a resistência a *Pyrenochaeta terrestris* (Hans.) Gorenz, Walker e Larson (Becker, 1976 e Safir, 1968, citados por LOPES *et alii*, 1983). Safir (1968) citado por LOPES *et alii* (1983) encontrou alta quantidade de açúcares redutores em plantas infectadas com micorrizas, sugerindo que isso poderia explicar o baixo índice de raiz rosada em cebola causada por *P. terrestris*.

Um exemplo típico de interação entre micorriza e fungos fitopatogênicos foi observado em soja por ZAMBOLIM e SHENCK (1981)

envolvendo o simbiote *G. mosseae* com vários fungos, tais como *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani*. Em plantas inoculadas com tais patógenos simultaneamente com *G. mosseae*, o crescimento era sempre semelhante ou superior à testemunha, tanto em solo desinfestado como em solo natural. Nenhum efeito direto de *G. mosseae* sobre os fitopatógenos foi encontrado. Os autores concluíram que as plantas crescendo na presença do fungo simbiote tornavam-se mais tolerantes aos fitopatógenos.

ROSS (1972) relatou que o fungo micorrízico *Glomus macrocarpus* var. *geosporus* (Nicol. e Gerd.) Gerd. e Trappe aumentou a incidência da descoloração vascular causada por *Phytophthora* em cerca de 88% das plantas, enquanto que menos de 20% das plantas sem o simbiote desenvolveram os sintomas de descoloração. O autor afirmou que *G. macrocarpus* produziu vesículas e clamidosporos no córtex da raiz que podem ter afetado a penetração ou o desenvolvimento do patógeno. Outra explicação é que, altos níveis de fósforo nas parcelas provavelmente contou para ineficiência de resposta do simbiote. Estes níveis de fósforo devem ter sido suficientemente altos para reduzir a incidência e o desenvolvimento de *G. macrocarpus*. Há casos onde os fungos micorrízicos não tiveram nenhum efeito sobre a severidade da doença. Ramirez (1974) citado por SCHENCK e KELLAM (1978) estudou o efeito de três espécies de fungos micorrízicos VA, *Glomus macrocarpum* var. *macrocarpum*,

Gigaspora heterogama e *Gigaspora margarita* sobre a infecção de raiz causada por *Phytophthora palmivora* em mamão (*Carica papaya* L.). Apesar de *G. macrocarpus* e *G. heterogama* terem incrementado significativamente a altura da planta, não houve nenhuma redução significativa na porcentagem de raízes infectadas por *P. palmivora*. O peso das raízes inoculadas com estes simbiontes e com *P. palmivora* foram significativamente menores do que os pesos das raízes de plantas inoculadas somente com *P. palmivora*.

MENGE *et alii* (1978) mostraram que a pré-inoculação de *Citrus sinensis* L. "Pineapple" por *Glomus fasciculatum* não forneceu proteção alguma contra a infecção da raiz causada por *Phytophthora parasitica*, Dast.

A natureza do efeito exercido pelos fungos micorrízicos sobre o patógeno não é conhecida na maioria dos casos. Contudo, em poucos estudos as diferenças nos constituintes químicos entre as plantas com e sem micorrizas foram observadas. BALTRUSCHAT e SHÖNBECK (1975) demonstraram que plantas com micorrizas continham níveis superiores de arginina, e que este aminoácido, quando adicionado a extratos de raízes não infectadas por micorrizas, poderia inibir a formação de clamidosporos de *Thielaviopsis basicola*.

ZAK (1964) sugeriu quatro maneiras pelas quais os fungos ectomicorrízicos podem proteger as raízes: (a) uti-

lizando excesso de carboidratos e assim reduzindo a atração da raiz ao patógeno; (b) fornecendo uma barreira física à infecção; (c) secretando antibiótico, e (d) favorecendo os organismos protetores de rizosfera. Todos estes fenômenos poderiam ser operativos com os fungos micorrízicos VA, exceto aquele que fornece uma barreira física desde que nenhuma cobertura de hifas é formada sobre as superfícies radiculares. Em adição, os fungos micorrízicos VA em alguns exemplos podem afetar os patógenos pela indução de mudanças bioquímicas e morfológicas em tecido do hospedeiro que são desfavoráveis ao desenvolvimento do patógeno (BALTRUSCHAT *et alii*, 1973).

MOSSE (1973) discutiu a especificidade de espécies de fungos micorrízicos VA e mostrou que há ampla evidência para indicar que um fungo micorrízico pode ser mais benéfico a uma espécie de planta específica do que a outra. As interações entre fungos micorrízicos VA, fitopatógenos e plantas hospedeiras podem também variar com combinações específicas.

SCHENCK *et alii* (1975) encontraram *Glomus macrocarpum* efetivo em reduzir populações de nematóides em cultivares de soja suscetíveis, mas o mesmo fungo micorrízico não foi tão efetivo numa cultivar resistente.

2.8. Controle de Doenças de Plantas Com Reguladores de Crescimento

Muitos reguladores de crescimento são conhecidos por influenciar profundamente os processos bioquímicos de plantas superiores e alguns deles têm reduzido a severidade de doenças de plantas causada por certos patógenos; como *Fusarium* em tomate (DAVIS e DIMOND, 1953), *Phytophthora* em batata (AGRIOS, 1969) e *Verticillium* em algodão (ERWIN, 1977).

Em plantas de tabaco tratadas com hidrazida maleica, um retardante de crescimento, o nematóide *meloidogyne* é incapaz de induzir a formação de galhas (AGRIOS, 1969). Tratamento de folhas de tabaco com cinetina antes ou imediatamente após a inoculação com um vírus, também reduz a multiplicação do vírus e o número e tamanho das lesões. (AGRIOS, 1969).

Assim como outras variáveis ambientais, a resistência do hospedeiro, pode ser aumentada, diminuída, ou não ter nenhum efeito, dependendo do produto específico, da sua concentração, do hospedeiro, do patógeno, e de outras variáveis.

Os retardantes de crescimento, como certos herbicidas, aumentam a resistência às doenças vasculares. Três diferentes retardantes de crescimento minimizaram os sintomas da murcha de *Verticillium* em algodão (ERWIN, 1977). Estes produtos reduziram sensivelmente a população interna do fungo

nos pecíolos superiores das plantas. Aparentemente o sistema de defesa do hospedeiro é melhorado por estes reguladores de crescimento. A produção de sementes e linter de algodão foi aumentada pelo CCC nas dosagens de 10 e 25 g/ha, mas não foi afetada por 50 g/ha e foi reduzida por 75 g/ha.

Resistência a muitos patógenos de plântulas (*Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium solani* e *Thielaviopsis*) é diminuída por vários herbicidas. Por exemplo, três de oito herbicidas incrementaram a severidade da podridão de raiz de soja causada por *Thielaviopsis* (LEE *et alii*, 1977). Estudos com chloranben mostraram que este herbicida aumentou a exudação de aminoácidos de raízes e com isso estimulou a germinação de clamidosporos de *Thielaviopsis* e a colonização de raízes pelo fungo. Em contraste, o herbicida dinitroanilina, com poucas exceções, aumentou a resistência aos patógenos do solo, tais como *Rhizoctonia*, *F. oxysporum* e *Verticillium dahliae* (GRINSTEIN *et alii*, 1976). Resistência de berinjela e tomate a dois patógenos foi aumentada pelos herbicidas trifluralina e nitralina, dando uma redução de 97% na severidade da doença (BELL e MACE, 1981). Os herbicidas chlorofenoxiacéticos podem aumentar a resistência às doenças de murchas vasculares (BELL, 1981), porém podem também incrementar a suscetibilidade à doença foliar causada por *Dreschlera* em *Bouteloua gracilis* (HODGES, 1978).

Cycocel (CCC), descrito como um retardante de crescimento, retardou a expressão dos sintomas de murcha causados por *Verticillium* em tomate (SINHA e WOOD, 1964, 1967).

DAVIS e DIMOND (1953) relatam que vários reguladores de crescimento levemente fungitóxicos, que incluem o ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético, ácido β -naftalenoacético, ácido 2,3,5-triidodobenzóico, ácido β -naftoxyacético e ácido indol-3-acético, exercem um efeito marcante em reduzir a murcha causada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* de tomate. Os autores mostram que estes reguladores exercem um baixo grau de toxicidade ao patógeno em estudos *in vitro*, causam redução de peso e diminuição no conteúdo de açúcares redutores das plantas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local de Investigação

O presente trabalho foi realizado no laboratório de microbiologia, na casa de vegetação e no campo experimental do Departamento de Genética da ESALQ/USP, em Piracicaba, SP., latitude de 22°42'30"S.

3.2. Isolados de *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth

Utilizaram-se dez isolados de *V. albo-atrum*, obtidos de caules de plantas infectadas nas condições de campo para estudo de variabilidade. Os isolados constam na Tabela 1.

Tabela 1 - Isolados de *V. albo-atrum* utilizados e procedência.

Isolado	Procedência	Hospedeiro
V ₁	Campinas	Berinjela
V ₂	Monte Mor	Berinjela
V ₃	Capivari	Berinjela
V ₄	Campinas	Tomate
V ₅	Campinas	Berinjela
V ₆	Piracicaba	Berinjela
V ₇	Atibaia	Berinjela
V ₈	Piracicaba	Berinjela
V ₉	Monte Mor	Tomate
V ₁₀	Tatui	Berinjela

3.3. Técnica de Isolamento

Os isolamentos foram feitos mediante a cultura do tecido vascular dos caules de plantas com sintomas de murcha, desinfectados exteriormente por flambagem. Pequenos pedaços de tecido vascular foram desinfectados em álcool a 50%, sublimado corrosivo 1:1000 e água esterilizada e transferidos para placas de Petri com BDA (Extrato de batatas, 200 g, Glucose, 20 g; Agar, 20 g; Água, 1000 ml) mais 200 ppm de sulfato de estreptomicina. As placas foram incubadas a 24-26°C e as colônias obtidas foram repicadas para tubos com BDA inclinado.

3.4. Preparo do Inóculo de *V. albo-atrum*

Os isolados foram cultivados em Erlenmeyer de 250 ml contendo 40 ml de meio de BDA. Cerca de 2 ml de uma suspensão de conídios foram vertidas para cada frasco. Em seguida, os frascos foram incubados por 4 a 5 dias a 24°C.

No preparo das suspensões conidiais, foram adicionados 20 ml de água destilada esterilizada às culturas e o Erlenmeyer então agitado para desalojar os conídios dos conidióforos.

Naqueles experimentos onde se precisava de uma maior quantidade de esporos, utilizou-se o milho pipoca-água como meio de cultura. Uma vez que a esporulação do fungo ocorre na superfície do meio, a superfície de esporulação no grão de milho é muito maior do que nos meios convencionais, produzindo, portanto, quantidades maiores de inóculo.

O milho pipoca foi colocado em frascos de 500 ml até 2/3 da capacidade, juntando-se, em seguida, água destilada até a altura do nível do milho. Os frascos foram esterilizados em autoclave por 30 minutos e 1,0 atmosfera de pressão. Esporos do fungo foram suspensos em água esterilizada e transferidos para os frascos contendo o meio de milho pipoca-água. Os frascos foram mantidos em condições ambientes por um período de 12 a 15 dias antes da inoculação.

Após a filtração das suspensões conidiais, a concentração de conídios foi determinada em hemacitômetro tipo Neubauer e ajustados para 5×10^5 conídios/ml. Para o experimento de proteção cruzada de *V. albo-atrum*, as concentrações foram diferentes para cada tratamento.

3.5. Técnicas de Inoculação

3.5.1. Em função dos experimentos, foram empregadas três técnicas de inoculação. Utilizaram-se, na maioria dos ensaios, a técnica da imersão das raízes de plantas numa suspensão conidial, antes do transplante das mesmas. Adotou-se o seguinte procedimento:

- a) Prepararam-se as mudas em sementeiras;
- b) No momento da inoculação, as mudas foram retiradas do local de semeadura, lavando-se as raízes em água corrente;
- c) As raízes foram mergulhadas na suspensão de conídios por dois minutos e as mudas transplantadas em caixas plásticas (dimensões de 38 cm X 27 cm X 10 cm) em substrato isento de patógeno.

3.5.2. Para os experimentos de Herança de Resistência e Controle Biológico utilizou-se solo artificialmente infestado, cujo procedimento adotado foi o seguinte:

- a) Preparou-se o substrato constituído por uma mistura 2:1 de terra roxa e esterco curtido;
- b) Esterilizou-se o substrato submetendo-o à pressão de 1,0 atmosfera (120°C), durante duas horas, em autoclave;
- c) O substrato, dividido sempre em quantidades de 10 kg, foi colocado sobre uma superfície limpa, verteu-se o volume estabelecido de inóculo;
- d) O substrato infestado foi colocado em canteiros no interior da casa de vegetação, previamente pulverizado com benomyl e em vasos de barro com capacidade de 5 kg, também desinfestados com solução 3:1 de água e alvejante comercial (solução a 5,2% de hipoclorito de sódio).
- e) Mudas de berinjela da cultivar Campineira com 20 a 25 dias de idade foram transplantadas para os canteiros para comprovar se o solo estava uniformemente infestado. Após

ter averiguado o ataque severo a essas plantas, é que se procedeu o estudo sobre a herança da resistência a *Verticillium*.

3.6. Isolados de *Trichoderma* sp. utilizados nos Ensaios de Controle Biológico de *V. albo-atrum*

Foram testados, quanto à sua capacidade de controle biológico, 9 cepas de *Trichoderma* sp. isolados do solo pelo método de diluição em série e plaqueamento e 4 mutantes morfológicos de *Trichoderma* sp. obtidos através de radiação ultra-violeta (lâmpada tipo Mineral Light 2650 Å). Além disso, utilizaram-se também 2 isolados de *Trichoderma* sp. (T_1 e T_3) e 2 espécies de *Trichoderma* (*T. lignorum* e *T. hamatum* fornecidos pela Dra. Rosa Valdebenito, do Departamento de Fitopatologia da ESALQ).

Os isolamentos foram feitos, retirando-se de cada amostra de solo 10 gramas deste, as quais eram suspensas em 90 ml de água destilada e esterilizada, contendo 1% de carboximetilcelulose. Após agitação, faziam-se as diluições em série, trabalhando-se com as concentrações de 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} . De cada uma das diluições pipetava-se uma alíquota de 1 ml, vertendo-a em placas de Petri contendo meio de Martin (MARTIN, 1950).

Três dias após o plaqueamento, as colônias eram contadas, os fungos identificados e repicados para placas de

Petri contendo BDA.

Os isolados de *Trichoderma*, assim identificados, eram cultivados para obtenção de inóculo em meio de torta de filtro Oliver. O inóculo obtido neste meio foi preparado em frascos de 500 ml os quais continham 3/4 de seu volume ocupado por torta de filtro Oliver e 20 ml de caldo de cana estéril diluído em água na proporção de 1:2 e infestado com 4×10^7 esporos de *Trichoderma*. A incubação se deu a 28°C no escuro.

3.7. Critérios de Avaliação da Reação do Hospedeiro

A reação do hospedeiro foi avaliada:

3.7.1. Pelo índice de sobrevivência, baseado no critério de ACOSTA *et alii* (1964) para a murcha Bacteriana do Tomateiro. O índice de sobrevivência (IS) expressa o número de dias de sobrevivência das plantas inoculadas com *V. albo-atrum*, cuja fórmula é a seguinte:

$$IS = \frac{\sum n_1 \cdot t_1}{n}$$

onde:

n_1 = número de plantas mortas na data t_1 de avaliação;

t_1 = número de dias a partir da inoculação até a avaliação;

n = número de plantas antes da inoculação.

3.7.2. Pela frequência de plantas infectadas, observando-se os sintomas externos (murcha) e internas (escurecimento dos vasos), de acordo com a relação: número de plantas infectadas/número de plantas inoculadas.

3.7.3. Por uma classificação de escala de notas, segundo o critério recomendado por WELLMAN (1939) e modificado por TOKESHI (1966) no estudo da murcha do tomateiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Na classificação utilizaram-se todos os sintomas visíveis, internos e externos, causados por *V. albo-atrum*, cujo critério é mostrado na página seguinte, Figura 1a.

3.8. Procedimentos Estatísticos

Para fins de análise estatística os dados obtidos em porcentagem foram transformados em $\arcsin \sqrt{\%/100}$; dados de notas em $\sqrt{x + 1/2}$, dados em índice de sobrevivência em $\sqrt{x}$, de acordo com o procedimento preconizado por STEEL e TORRIE (1960).

A comparação das médias dos tratamentos foi feita pelo teste de Tukey, nos Experimentos I, II, IV, V, VI e VIII, segundo PIMENTEL GOMES (1973), pelo teste "t", comparando todos os tratamentos com o controle (LITTLE e HILLS, 1972), no Experimento IX e pelo teste de Dunnett, onde os tratamentos do Experimento VII foram testados contra o controle (STEEL

Figura 1a - Critério de classificação das plantas à doença segundo o critério de WELLMAN (1939).

Observação: 0 = planta sadia;
 20 = vasos coloridos no primeiro internódio;
 40 = vasos coloridos e uma folha amarela;
 60 = vasos coloridos até a metade do caule;
 80 = vasos coloridos até próximo ao ponteiro;
 100 = vasos coloridos até o ponteiro e plantas mortas.

NOTA	SINTOMAS APRESENTADOS PELAS PLANTAS
0	Plantas sadias sem sintomas externos ou internos observáveis no caule cortado na altura do primeiro internódio.
20	Vasos coloridos na região do primeiro internódio sem outros sintomas visíveis.
40	Vasos coloridos até a altura da primeira folha, com pelo menos uma folha com amarelecimento.
60	Vasos coloridos até a metade do comprimento do caule, com duas ou mais folhas com amarelecimento.
80	Vasos coloridos até próximo ao ponteiro; a maioria das folhas murchas, com exceção do ponteiro.
100	Plantas mortas, ou com vasos coloridos e folhas murchas até o ponteiro.

e TORRIE, 1960).

Na análise genética da reação do hospedeiro ao patógeno, relativo ao Experimento III, foi utilizado o teste χ^2 , de acordo com SNEDECOR e COHRAN (1973).

A análise de variância entre e dentro de progênies, referente ao Experimento IV, foi efetuada de acordo com STEEL e TORRIE (1960), e a esperança matemática do quadrado médio segundo VENCovsky (1978). O modelo da análise com as respectivas esperanças dos quadrados médios está apresentado na Tabela 2.

Estimou-se o coeficiente de variação genética (C.V.g) entre progênies através da seguinte equação:

$$C.V.g = \frac{\hat{\sigma}_p^2 \times 100}{\bar{X}}$$

onde:

$$\hat{\sigma}_p^2 = \frac{Q'_2 - Q'_1}{r} = \text{Estimativa da variância entre progênies, ao nível de parcelas;}$$

$\bar{X}$ = Média de progênies.

O coeficiente de herdabilidade foi estimado, como sendo a relação entre a variância genética e a variância fenotípica, como segue:

$$\hat{h}^2 = \frac{\hat{\sigma}_p^2}{\hat{\sigma}_p^2 + \frac{\hat{\sigma}_e^2}{r}}$$

onde:

$\hat{\sigma}_e^2$ = variância do erro entre parcelas;

r = número de repetições.

Foi calculado ainda, um coeficiente de variação dentro de progênes para se determinar as progênes mais adequadas para a seleção. Para tanto, o quadrado médio dentro de progênes ($\overline{QM}_d$) foi obtido independentemente, através das médias das estimativas individuais de parcelas, ponderadas pelos graus de liberdade, ou seja:

$$\overline{QM}_d = \frac{\sum_i (gl)_{ij} (QM_d)_i}{\sum_i (gl)_i} = \frac{\sum_i (SQ_d)_i}{\sum_{ij} (gl)_{ij}}$$

sendo:

$\overline{QM}_d$ = quadrado médio dentro de cada parcela;

SQ_d = soma de quadrados dentro de cada parcela;

gl = número de graus de liberdade dentro de cada parcela.

Tabela 2 - Esperanças matemáticas dos quadrados médios da análise de variância em blocos ao acaso, para a obtenção da estimativa do coeficiente de variação genética entre progênies F_{10} de berinjela.

Fonte de Variação	G.L.	Q.M.	E(Q.M.)
Blocos	$r-1$		
Progênies	$p-1$	Q_2	$\sigma_e^2 + r \sigma_p^2$
Erro	$(r-1)(p-1)$	Q_1	σ_e^2

onde:

G.L. = graus de liberdade;

Q.M. = quadrado médio;

E(Q.M.) = esperança matemática dos quadrados médios;

r = número de repetições;

p = número de progênies;

Q_1 = quadrado médio do erro entre parcelas;

Q_2 = quadrado médio entre progênies, ao nível de parcelas;

σ_e^2 = variância do erro entre parcelas;

σ_p^2 = variância genética entre progênies de *Solanum melongena* L., ao nível de parcelas.

3.9. EXPERIMENTO I - REAÇÃO DE CULTIVARES DE BERINJELA A *Verticillium albo-atrum* REINKE E BERTH

O material utilizado neste experimento constou de 14 cultivares e introduções de berinjela relacionadas na Tabela 5, testadas contra *V. albo-atrum*.

A semeadura foi feita em caixas plásticas (38 X 27 X 10 cm) com solo esterilizado. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com três repetições, e cada parcela constou de duas linhas em cada caixa com 10 plantas.

A técnica de inoculação e a avaliação da reação do hospedeiro foram feitas segundo os procedimentos descritos nos itens 3.5.1. e 3.7.1., respectivamente. As plantas foram inoculadas aos 28 dias após a semeadura. Após a inoculação as plantas foram deixadas em condições ótimas para se recuperarem do transplante. Durante a condução do experimento efetuaram-se três adubações com solução nutritiva completa.

3.10. EXPERIMENTO II - ORIGEM E REAÇÃO DE RESISTÊNCIA DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE BERINJELA A *Verticillium albo-atrum*

Originalmente foram cruzadas as cultivares suscetíveis Florida Market e Campineira com a introdução re-

sistente RV-IV. A geração F_1 foi retrocruzada para o progenitor suscetível, obtendo-se o F_1RC_1 e deste, as demais gerações, assim denominadas F_2RC_1 ; F_3RC_1 ; F_4RC_1 ; F_5RC_1 ; F_6RC_1 ; F_7RC_1 ; F_8RC_1 e F_9RC_1 . Foram avaliadas, quanto a reação de resistência a *Verticillium*, as gerações de F_3RC_1 à F_9RC_1 do cruzamento de Florida Market com RV-IV e as gerações F_3RC_1 à F_7RC_1 do cruzamento de Campineira com RV-IV.

Dentro de cada uma destas gerações foram selecionadas, para resistência a *V. albo-atrum*, progênies de plantas individuais. Praticou-se seleção para característica de planta e de fruto. As progênies de cada geração foram misturadas em iguais proporções para constituir a população correspondente.

O esquema a seguir, mostra, resumidamente, o processo seguido para obtenção das populações segregantes de *S. melongena* L. testadas para resistência a *V. albo-atrum*.

Fez-se um experimento em blocos casualizados com 3 repetições, além do controle não inoculado, sendo que cada parcela foi composta por uma das 12 gerações. Utilizaram-se 20 plantas por repetição. O experimento foi montado em caixas de madeira com dimensões 36 X 52 cm.

A inoculação das plantas, em 02/08/83, ou seja, 20 dias após a semeadura e a avaliação, 36 dias após a inoculação, foram as mesmas descritas para o Experimento I.

A introdução RV-IV, assim como as introduções RV-I, RV-II e RV-III, mencionadas mais adiante, provenientes da Estação Experimental de Vineland no Canadá, foram cedidas gentilmente pelo Dr. E. Tigchelaar, da Universidade de Purdue.

3.11. EXPERIMENTO III - DETERMINAÇÃO DO MODO DE HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *V. albo-atrum* EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE BERINJELA

A cultivar Florida Market, suscetível a *V. albo-atrum*, foi cruzada com a introdução resistente RV-I e a cultivar Campineira, também suscetível, foi cruzada com as introduções, RV-I, RV-II e RV-IV. As gerações F_1 , F_2 e retrocruzamento para o progenitor suscetível provenientes dos cruzamentos dessas introduções com a cultivar Campineira foram avaliadas qualitativamente no estágio juvenil da cultura, de acordo com o procedimento descrito no ítem 3.7.2. A técnica de inoculação foi a mesma descrita nos experimentos anteriores. As plantas foram inoculadas aos 30 dias após a semeadura.

Como padrões referenciais de reação de resistência e suscetibilidade a *V. albo-atrum* foram utilizados os respectivos progenitores. As plantas classificadas como resistentes não mostraram sintomas visíveis da doença. Todas as plantas mostrando sintomas foram classificadas como suscetíveis.

As gerações segregantes dos cruzamentos entre F. Market X RV-I e Campineira X RV-I (Esta geração foi usada para averiguação dos resultados obtidos no ensaio anterior)

foram avaliados em solo artificialmente infestado com o patógeno em canteiros localizados no interior da casa de vegetação.

A semeadura foi feita em solo esterilizado e as plântulas foram repicadas para vasos plásticos de 10 cm de diâmetro e, quando as plantas tinham 45 dias de idade, as mesmas foram transplantadas para os canteiros. A avaliação da severidade da doença, por ocasião do florescimento das plantas, foi feita quantitativamente, baseando-se numa escala de classificação por notas (ítem 3.7.3.).

3.12. EXPERIMENTO IV - REAÇÃO DE 13 PROGÊNIES F_{10} RC_1 DE BERINJELA A *V. albo-atrum*

Neste ensaio foram utilizadas 13 progênies F_{10} , obtidas de plantas individuais selecionadas para resistência à murcha de *Verticillium*. Tais progênies são resultantes do cruzamento entre a cultivar suscetível Florida Market e a linhagem resistente denominada RV-IV. O híbrido F_1 foi retrocruzado para o progenitor suscetível e as demais gerações segregantes foram multiplicadas no campo do Departamento de Genética da ESALQ, onde foi feita seleção para características de fruto e de planta. Somente as plantas resistentes das gerações F_9 e F_{10} foram autofecundadas, depois de terem sido previamente inoculadas e selecionadas.

As plantas das 13 progênies foram inoculadas com 20 dias de idade empregando-se a técnica de imersão das raízes na concentração de inóculo (5×10^5 conídios/ml). A avaliação dos sintomas foi feita empregando-se a mesma metodologia descrita em 3.7.3.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 3 repetições, sendo que o número de plantas por parcela variou de 14 a 25.

3.13. EXPERIMENTO V - PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE *Verticillium albo-atrum* EM BERINJELA

A variação na patogenicidade de 10 isolados de *V. albo-atrum* (descritos na Tabela 1, de Material e Métodos), sobre as variedades Florida Market e Campineira, a linhagem RV-1V e o híbrido F₁₀₀ (Florida Market X Campineira) foi estudada no período de 26 de outubro de 1983 a 17 de dezembro de 1983 em condições de casa de vegetação.

O delineamento experimental foi parcelas subdivididas, com 3 repetições, além de testemunhas não inoculadas. A parcela constou de isolados e a sub-parcela de cultivares. Utilizaram-se 15 plantas por repetição.

A semeadura foi feita em caixas de plástico com dimensões de 38 cm de comprimento, 27 cm de largura por

10 cm de altura e a inoculação através da imersão das raízes na suspensão conidial, a qual foi de 5×10^5 conídios/ml para cada isolado. Após a inoculação as plantas foram deixadas em condições ótimas para recuperar-se do transplante.

A avaliação da reação do hospedeiro e patogenicidade foi baseada no critério de índice de sobrevivência, efetuando-se avaliações de plantas mortas em intervalos de 5 dias a partir do 10º dia após a inoculação, totalizando um período de 35 dias.

3.14. EXPERIMENTO VI - PROTEÇÃO CRUZADA DE *Verticillium albo-atrum* EM BERINJELA

A variação no grau de patogenicidade, comprovado no Experimento V, revelou ser o isolado V_5 mais patogênico e V_{10} de baixa patogenicidade, quando mudas de berinjela das cultivares Florida Market, Campineira; a introdução RV-1 e o híbrido F_{100} foram inoculadas pelo método da imersão das raízes. Assim, procurou-se neste experimento estudar a influência de um isolado sobre o outro no desenvolvimento da murcha em plantas de berinjela, cultivar Florida Market.

Fez-se o ensaio em blocos casualizados com 6 repetições, além da testemunha não inoculada. Cada bloco consistiu de 6 caixas contendo os sete tratamentos descritos na Tabela 3. Utilizaram-se 15 plantas por parcela.

Tabela 3 - Concentrações de inóculo dos dois isolados de *V. albo-atrum*.

Tratamentos	Concentração de conídios por ml	
	Isolado V ₅ (mais patogênico)	Isolado V ₁₀ (menos patogênico)
Controle	0	0
T ₁	2×10^6	0
T ₂	0	2×10^6
T ₃	2×10^6	2×10^7
T ₄	2×10^6	2×10^6
T ₅	2×10^6	2×10^5
T ₆	1×10^6	2×10^6
T ₇	2×10^5	2×10^7

A inoculação foi efetuada 25 dias após a semeadura, utilizando-se 60 ml de suspensão conidial para os isolados individuais. Na mistura, utilizaram-se 30 ml de suspensão de cada isolado. A técnica de inoculação e avaliação foram aquelas descritas nos itens 3.5.1. e 3.7.3., respectivamente. A avaliação ocorreu 28 dias após a inoculação.

3.15. EXPERIMENTO VII - ESTUDOS DE CONTROLE BIOLÓGICO DE *V. albo-atrum* EM BERINJELA COM *Trichoderma* sp.

3.15.1. TESTES DE ANTAGONISMO "*in vitro*" - A fim de selecionar um isolado adequado de *Trichoderma* sp. foram tes

tados 11 isolados, isolados da rizosfera de berinjela, 4 mutantes e 2 espécies de *Trichoderma* para verificação de antagonismo ou hiperparasitismo a *V. albo-atrum* em placas de Petri contendo BDA. *V. albo-atrum* e *Trichoderma* foram colocados simultaneamente, usando, para tanto, discos de micélio, sendo cada qual depositado num ponto oposto da placa e a cerca de dois centímetros de seus bordos, conforme JOHNSON *et alii* (1959). Cada tratamento foi repetido 4 vezes. As placas foram deixadas no escuro a temperatura ambiente e as observações foram feitas 12 dias depois do plaqueamento.

3.15.2. CONTROLE BIOLÓGICO DE *V. albo-atrum* EM CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO - Aqueles fungos selecionados no laboratório, prováveis inibidores de *Verticillium*, foram testados em condições de casa de vegetação. Para tanto, fizeram-se dois ensaios, utilizando dois métodos de inoculação do patógeno. Os fungos utilizados no primeiro ensaio foram *Trichoderma lignorum*, *T. hamatum*, *Trichoderma* sp. (M₁), *Trichoderma* sp. (T₁), *Trichoderma* sp. (T₃) e *Trichoderma* (T₆).

O primeiro ensaio foi feito em caixas de plástico, onde foram colocadas três camadas de substrato. A primeira foi constituída de areia + torta de filtro Oliver pré-colonizada com *Trichoderma*, na relação 1:2; a segunda de solo + torta de filtro Oliver e, por último, areia novamente. Dois frascos de 500 ml contendo torta de filtro colonizada com *Trí*

choderma foram usados em cada caixa, onde cada uma foi umedecida com 200 ml de melaço a 2%. A inoculação do *Verticillium*, um dia após o preparo do substrato, foi feita de acordo com o item 3.5.1., utilizando-se mudas de berinjela cv. Florida Market com 22 dias de idade, desenvolvidas em solo esterilizado.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições, além do controle não inoculado com *Verticillium* e dos tratamentos que receberam somente *Trichoderma*. Utilizaram-se 25 plantas por parcela (caixa).

A avaliação da reação do hospedeiro, feita 35 dias após a inoculação, foi a porcentagem de plantas doentes, de acordo com o item 3.7.2.

O segundo ensaio foi feito em vasos de barro com capacidade para 5 kg de solo, mudando-se a técnica de inoculação do patógeno, que foi a infestação do solo, conforme item 3.5.2.

Utilizaram-se para este ensaio aqueles fungos que melhores resultados proporcionaram no ensaio anterior, os quais foram *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma* sp. (T₃) e *Trichoderma lignorum*.

A semeadura da berinjela cv. Florida Market foi feita em caixas plásticas, e as mudas com 12 dias de idade foram transplantadas para vasos de polietileno de 7 cm de diâ

metro, contendo solo esterilizado. Quando as mudas atingiram aproximadamente 15 cm de altura (30 dias após a semeadura), as plantas foram transferidas para os vasos de barro contendo solo infestado com *Verticillium*. Um dia anterior ao transplante, procedeu-se à infestação do solo com os três isolados de *Trichoderma*. De cada vaso foi retirado cerca de 1/3 de solo para que se pudesse infestar uniformemente a região das raízes com os fungos antagônicos. Assim, cada vaso recebeu 300ml de torta de filtro Oliver colonizado por *Trichoderma* e 100 ml de melão a 2% foi utilizado para irrigar cada vaso. Logo após completou-se o volume do vaso com o solo restante.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições, além do controle não inoculado com o patógeno e dos tratamentos que receberam somente *Trichoderma*. Utilizaram-se 16 plantas por parcela, sendo 4 plantas em cada vaso.

A avaliação da reação do hospedeiro foi a porcentagem de plantas doentes, de acordo com o item 3.7.2. Efetuaram-se avaliações de plantas infectadas a partir do 10º dia da inoculação, em intervalos de 7 dias, totalizando um período de 38 dias.

3.15.3. CONTROLE BIOLÓGICO DE *V. albo-atrum* EM CONDIÇÕES DE CAMPO - Foram utilizados os fungos antagônicos *T. ligno-*

rum e *Trichoderma* sp. (T_3). Por motivo de não haver inóculo suficiente de *T. hematum* este fungo não foi usado neste ensaio.

A metodologia utilizada foi semelhante à descrita no ensaio anterior, mudando-se somente a técnica de inoculação de *Verticillium*. Mudanças de berinjela cv. Florida Market desenvolvidas em vasos de polietileno (10 cm de diâmetro), contendo solo esterilizado, com 32 dias de idade, foram transplantadas para o campo. Em cada cova eram adicionados 100 ml de torta de filtro Oliver colonizada por *Trichoderma* e irrigada com melão a 2%. O espaçamento utilizado foi de 1,30 X 40 cm. Sete dias após o transplante, efetuou-se a inoculação de *Verticillium* a uma concentração de inóculo de 5×10^5 conídios/ml. Cada cova no campo foi infestada artificialmente pela adição de 40 ml da suspensão. O inóculo foi incorporado ao solo a uma profundidade de 10 cm.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 6 repetições, além do controle não inoculado. Utilizaram-se 10 plantas por parcela.

A avaliação da reação do hospedeiro foi a porcentagem de plantas doentes, de acordo com o item 3.7.2. Efetuaram-se avaliações de plantas doentes com intervalos de 7 dias a partir do 14º dia após a inoculação, totalizando um período de 49 dias. As irrigações, por infiltração e capinas fo-

ram realizadas sempre que necessárias. Foram realizadas 2 aplicações de inseticidas para prevenção ao ataque de ácaro. Foi realizada uma adubação nitrogenada, em cobertura, com uréia, 30 dias após o transplante.

3.16. EXPERIMENTO VIII - INFLUÊNCIA DE MICORRIZAS VESICULO-ARBUSCULARES SOBRE A MURCHA DE *Verticillium* EM BERINJELA

No experimento, conduzido em vasos de polietileno (10 cm de diâmetro) por um período de 70 dias, foram estudados os efeitos de quatro espécies de fungos micorrízicos na incidência da murcha de *Verticillium* em berinjela. As seguintes espécies de fungos formadores de micorrizas foram empregadas: *Glomus leptotichum* Schenck e Smith, *Glomus macrocarpum* Tul e Tul, *Gigaspora heterogama* (Nicol. e Gerd.) Gerd e Trappe e *Gigaspora margarita* Becker e Hall. A primeira espécie foi isolada de solo de Piracicaba, SP. e as demais foram introduzidas da Estação Experimental de Rothamsted, Inglaterra.

O solo empregado foi terra roxa estruturada - série Luiz de Queiroz. A análise química deste solo foi realizada pelo Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da ESALQ/USP, e é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 - Análise química do solo - Terra Roxa Estruturada, série "Luiz de Queiroz".

pH	C%	PO_4^{3-}	K^+	Ca^{++}	Mg^{++}	Al^{+3}	H^+
		Em miliequivalentes/100 g de terra					
6,8	2,49	0,117	0,42	12,00	1,96	0,08	1,52

Sementes de berinjela cv. F. Market foram postas a germinar em solo esterilizado. Aos 20 dias após a semeadura, procedeu-se ao transplante para os vasos e, conseqüentemente a inoculação dos fungos micorrízicos. O inóculo, obtido pela multiplicação de esporos do fungo em milho (vasos - estoque) constou não somente de esporos (aproximadamente 300 esporos/100 ml de solo), como também pedaços de raízes infectadas e micélio. Empregaram-se 10 ml do solo contendo o inóculo. O tratamento não inoculado recebeu solo isento de fungos micorrízicos, o qual vinha sendo cultivado com milho, para adicionar na rizosfera das plantas uma população de microrganismos semelhantes à introduzida nos demais tratamentos com os inóculos. O inóculo foi colocado no solo, no fundo dos orifícios onde foram feitos os transplantes. Cada vaso recebeu somente uma planta.

A inoculação do patógeno, 15 dias após o transplante, com uma suspensão de 5×10^5 esporos/ml, foi feita in-

introduzindo-se 5 ml da suspensão de inóculo na região das raízes.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 3 repetições e cada parcela foi constituída por 16 plantas. Como controle, procedeu-se à inoculação das 4 espécies de fungos micorrízicos, com a finalidade de verificar a eficiência destes fungos, bem como estabelecer as relações de especificidade fungo-planta, eventualmente existentes.

Durante o período de condução do experimento foi feita uma adubação com solução nutritiva completa e uma pulverização com inseticida mais acaricida para controle de pulgão e ácaro.

A severidade da doença, 38 dias após a inoculação de *Verticillium*, foi determinada pela avaliação dos sintomas externos e internos, de acordo com o ítem 3.7.2. Na mesma ocasião procedeu-se a medida da altura das plantas e logo em seguida, ao corte das mesmas. A parte aérea foi pesada, e o sistema radicular, após lavagem em água corrente, foi pesado. As raízes foram preservadas em AFA (álcool-formol-ácido acético).

3.16.1. DETERMINAÇÃO DA INFECÇÃO MICORRÍZICA EM RAIZ - Para quantificação da infecção micorrízica, utilizou-se o método de coloração de raiz, descrito por PHILLIPS e HAYMAN (1970), se

guido da determinação da porcentagem de infecção pelo método descrito por GIOVANETTI e MOSSE (1980).

3,16,1,1. MÉTODO DE COLORAÇÃO DE RAIZ (PHILLIPS e HAYMAN, 1970) - Coletou-se uma amostra da raiz que estava acondicionada em AFA, lavou-se com água corrente e cobriu-se com KOH 10% durante 4 horas. Em seguida, procedeu-se à lavagem com água corrente. A raiz foi acidificada com HCl 0,1 N por 10 minutos e lavada com água. Logo depois, procedeu-se à coloração com lactofenol mais trypan-blue 1% por 12 horas, substituindo, após este período, o lactofenol colorido por lactofenol incolor.

3,16,1,2. DETERMINAÇÃO DA PORCENTAGEM DE INFECÇÃO DAS RAÍZES (GIOVANETTI E MOSSE, 1980) - Da raiz colorida, pesou-se 0,5 g que foi cortada em pedaços e estes espalhados uniformemente sobre uma placa de Petri, a qual tinha o fundo marcado com linhas paralelas transversais, formando um quadriculado cujos quadros mediam 0,5 polegadas. A técnica consistiu em contar sob microscópio estereoscópio o número de intersecções dos pedaços de raiz com as linhas horizontais ou verticais (numa só direção) do quadriculado, que tinham ou não, naquele ponto, a presença de estruturas fungicas que fossem características dos fungos micorrízicos. Posteu

riormente, para o cálculo da porcentagem de raízes infectadas, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de raízes infectadas} = \frac{\text{Nº de pontos de intersecção com presença de micorriza}}{\text{Nº total de pontos de intersecção contados}} \times 100$$

3.17. EXPERIMENTO IX - EFEITO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO SOBRE A MURCHA DE BERINJELA CAUSADA POR *V. albo-atrum*

Para testar as atividades biológicas de cinco reguladores de crescimento contra *V. albo-atrum* em berinjela foi montado um experimento em condições de casa de vegetação no período de 19/02/84 a 02/05/84.. A semeadura da berinjela cultivar Florida Market foi feita em caixas de plástico contendo solo autoclavado efetuando-se o transplante 16 dias após, para vaso de polietileno com 10 cm de diâmetro.

Além do tratamento controle aplicou-se cloreto de (2-cloroetil) trimetilamônio (CCC) nas concentrações de 5 e 10 ppm; ácido succínico-2,2-dimetilhidrazida, 5 e 10 g/l; ácido giberélico (GA) 50 e 100 ppm; ácido indolbutírico (AIB) 250 e 500 ppm e ácido 2,4-diclorofenoxyacético (2,4-D) 5 e 10 ppm. Foram feitas 2 pulverizações dos reguladores em intervalo de 48 horas, sendo a primeira em 16/03/84, ou seja, dez dias após o transplante, quando as plantas estavam bem vigorosas. As a-

plicações foram realizados até que as folhas estivessem completamente molhadas. Quatro dias após a segunda aplicação procedeu-se a inoculação de *Verticillium*, isolado V₆, numa concentração de 5×10^5 conídios/ml, através da imersão das raízes na suspensão conidial. As plantas foram arrancadas com cuidado dos vasos, suas raízes lavadas, deixadas mergulhadas no inóculo por 1 minuto e logo depois replantadas nos mesmos vasos.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 3 repetições, tendo-se mantido uma planta por vaso e 6 plantas por repetição. Procedeu-se a comparação de médias pelo teste "*t*" ao nível de 5% de probabilidade.

O critério de avaliação da reação do hospedeiro ao patógeno foi a porcentagem de plantas infectadas (murchas e/ou com descoloração vascular), segundo critério adotado no item 3.7.2. Antes de se proceder tal avaliação foram tomadas: Y_1 = medidas do comprimento da parte aérea em cm (do colo da planta até a inserção da última folha) e logo após a avaliação da doença, foram feitas as seguintes observações: Y_2 = peso fresco da parte aérea em g e Y_3 = peso fresco do sistema radicular em g. As avaliações foram feitas 35 dias após a inoculação, quando o controle só com *Verticillium* apresentou quase que 90% de plantas infectadas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. EXPERIMENTO I - REAÇÃO DE CULTIVARES DE BERINJELA A *V. albo-atrum* REINKE E BERTH.

Os resultados deste experimento e respectivas médias constam da Tabela 5 e a análise de variância detectou pelo menos um contraste significativo entre cultivares, ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 1 do Apêndice).

As cultivares de berinjela apresentaram um índice de sobrevivência variando de 27, 17 dias, como na introdução RV-1, até 10,50 dias como na cultivar Embu. As cultivares Campineira e Florida Market e seu híbrido F₁₀₀, amplamente cultivados pelos olericultores, mostraram-se suscetíveis ao patógeno. As introduções canadenses apresentaram altos níveis de resistência. Não foi verificada imunidade em nenhum material avaliado, e sim níveis de resistência, onde esta, expressa por índice de sobrevivência, ocorreu de uma maneira contínua, desde uma reação de suscetibilidade até altos níveis de resis-

Tabela 5 - Reação de cultivares de berinjela a *Verticillium albo-atrum* expressa em Índice de sobrevivência. Piracicaba, SP., 1984. Dados não transformados.

Cultivares	Origem ou População	Índice de sobrevivência			
		Repetições			Média
		I	II	III	
RV-I	Canadá	26,00	30,00	25,50	27,17a
RV-III	Canadá	26,00	21,00	25,00	24,00ab
RV-IV	Canadá	24,50	24,00	23,50	24,00ab
RV-II	Canadá	23,00	21,50	25,00	23,17abc
Imperial	Peto Seed	22,50	16,00	19,00	19,17 bc
Suzuki	Japão	18,00	16,00	20,50	18,17 bc
Campineira Mogi	População Local	15,50	17,50	17,00	16,67 cd
Campineira (B-2)	População Local	20,50	14,00	11,00	15,17 cde
Campineira Piracicaba	População Local	18,00	13,00	13,50	14,83 cde
F ₁ 465 Classic	Harris Seed	16,00	13,50	14,00	14,50 cde
Gator	Asgrow	14,50	13,00	13,50	13,67 cde
Florida Market	U.S.A.	11,50	12,00	12,00	11,83 de
F ₁₀₀	Inst. Genética-ESALQ	13,60	10,50	11,00	11,50 de
Embu	Islapak	14,50	8,00	9,00	10,50 e

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

tência. Segundo VAN DER PLANK (1968), imunidade é completa e absoluta, enquanto resistência é parcial e relativa.

Dos materiais avaliados, o híbrido F_{100} é o mais cultivado comercialmente no Brasil, devido as suas excelentes características agronômicas. No entanto, padece de resistência à murcha causada por *Verticillium*. Por se tratar a herança do caráter, de um gene recessivo (Experimento III), necessário se faz que seja introduzido este caráter em ambos os progenitores. Cabe ressaltar que o híbrido F_{100} , além de exibir maior vigor, apresenta uma homeostase genética, ou seja, é capaz de manter uma melhor produtividade em relação às variedades não híbridas, quando em condições adversas de cultivo. Segundo LERNER (1954), a homeostase refere-se à propriedade dos organismos em se ajustarem às condições variáveis de ambiente, ou ao mecanismo de auto-regulação dos organismos que permite estabilizar-se em ambientes internos e externos flutuantes. Os organismos híbridos apresentam uma maior homeostase que os indivíduos endocruzados porque, nos primeiros, deve ocorrer maior heterozigosidade dos alelos controladores de caminhos alternativos de síntese (BREWBAKER, 1964). Pelo exposto, infere-se que o híbrido F_{100} pode ser cultivado satisfatoriamente nas épocas mais frias e sustentar uma certa produção. É nessa fase que a murcha tem maior importância, justificando, assim, o trabalho de melhoramento para incorporar resistência neste material.

4.2. EXPERIMENTO II - REAÇÃO DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE BERINJELA A *V. albo-atrum*

A análise de variância da reação de resistência a *V. albo-atrum* em 12 populações segregantes de berinjela provenientes do retrocruzamento (F_1 : F. Market X RV-IV) X F. Market e (F_1 :Campineira X RV-IV) X Campineira apresentada na Tabela 2 do Apêndice, detectou pelo menos um contraste significativo entre as populações, ao nível de 5% de probabilidade.

O teste de médias (Tabela 6) realizado pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, mostrou que as populações F_3RC_1 (F. Market X RV-IV) e F_3RC_1 (Campineira X RV-IV) apresentaram índices inferiores de resistência, quando avaliadas periodicamente através do índice de sobrevivência. As populações de berinjela apresentaram um índice de sobrevivência variando de 12,90 dias como na população F_9RC_1 (F. Market X RV-IV) até 4,52 dias como na população F_3RC_1 (F. Market X RV-IV).

As populações que se sobressaíram por apresentar níveis mais altos de resistências devem ser consideradas em programas de melhoramento, extraíndo, dessas populações, progênies de plantas individuais. Essas progênies são avaliadas, procedendo-se, então, seleção entre e dentro das mesmas, para em seguida serem intercruzadas aquelas com níveis satisfatórios de resistência. A seleção contínua, mas moderada com frequente recombinação permite seleção simultânea para ou

Tabela 6 - Reação de populações segregantes de berinjela expressa em índice de sobrevivência a *V. albo-atrum*. Piracicaba, SP., 1984. Dados não transformados.

P o p u l a ç õ e s	Nível médio de resistência ^{1/} (expresso em dias de sobrevivência)
F ₉ RC ₁ (F. Market X RV-IV)	12,90a
F ₆ RC ₁ (F. Market X RV-IV)	12,48a
F ₅ RC ₁ (F. Market X RV-IV)	12,02a
F ₄ RC ₁ (F. Market X RV-IV)	10,96a
F ₅ RC ₁ (Campineira X RV-IV)	10,78a
F ₈ RC ₁ (F. Market X RV-IV)	10,10ab
F ₄ RC ₁ (Campineira X RV-IV)	10,09ab
F ₇ RC ₁ (Campineira X RV-IV)	9,90ab
F ₆ RC ₁ (Campineira X RV-IV)	9,43ab
F ₃ RC ₁ (Campineira X RV-IV)	8,45ab
F ₃ RC ₁ (F. Market X RV-IV)	4,52 b

^{1/} Média de 4 repetições.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

tros caracteres. Provavelmente, nas gerações mais avançadas, os caracteres de planta e de fruto tipo Florida Market e Campineira já estejam fixados. A geração F_3RC_1 (F. Market X RV-IV), além de apresentar um nível mais elevado de resistência, apresenta características olerícolas quase definidas, segregando apenas para características de fruto.

Apesar das gerações proveniente do cruzamento entre F. Market X RV-IV, com exceção da geração F_3RC_1 , não terem diferido estatisticamente entre si, sugere-se iniciar a seleção para resistência a *V. albo-atrum* naquelas gerações mais avançadas, devido aos motivos já assinalados. O Experimento IV deste trabalho objetivou estudar a variabilidade de 13 progênies de berinjela obtidas de plantas individuais da geração $F_{10} RC_1$ (F. Market X RV-IV).

4.3. EXPERIMENTO III - DETERMINAÇÃO DO MODO DE HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *V. albo-atrum* EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE BERINJELA

As reações dos tipos resistente e suscetível foram bastante distintas nas plantas dos diferentes materiais avaliados. Durante os testes, as cultivares Campineira e Florida Market comportaram-se como altamente suscetíveis e as introduções resistentes RV-I, RV-II e RV-IV mostraram às ve-

zes, uma pequena porcentagem de plantas com sintomas.

Os resultados obtidos na avaliação da resistência a *V. albo-atrum*, nas gerações F_1 , F_2 e retrocruzamentos resultantes do cruzamento entre a cultivar Campineira e as linhagens RV-I, RV-II e RV-IV constam da Tabela 7, e aqueles obtidos para as gerações F_1 e F_2 dos cruzamentos entre Florida Market X RV-I e Campineira X RV-I, das Tabelas 8 e 9. A geração F_2 do cruzamento entre Florida Market X RV-I foi avaliada para reação de resistência e suscetibilidade em solo artificialmente infestado, em canteiros situados no interior da casa de vegetação, assim como a geração F_2 de Campineira X RV-I, para averiguação dos resultados obtidos com esta mesma geração no ensaio anterior, onde as plantas foram avaliadas no estágio juvenil.

Em todos os cruzamentos, as gerações F_1 e retrocruzamento do F_1 para o progenitor suscetível foram suscetíveis. Isso indica que o gene para resistência a *V. albo-atrum* presente nas linhagens RV-I, RV-II e RV-IV seja sucessivo. Nas gerações F_2 houve segregação de plantas resistentes e suscetíveis na razão de 1:3.

Foram consideradas resistentes as plantas que apresentaram ausência de sintomas até a ocasião em que quase 100% das plantas do pai suscetível exibissem sintomas característicos da doença. Nos ensaios realizados em solo artificial-

Tabela 7 - Reação de resistência a *V. albo-atrum* em gerações F_1 , F_2 e retrocruzamentos dos cruzamentos entre a cultivar Campineira e as introduções RV-I, RV-II e RV-IV. Piracicaba, SP., 1984.

Geração	Cultivar ou Cruzamento	Número de Plantas		Total	χ^2 (a)	P
		Resis- tentes	Susce- tíveis			
P_1	Campineira (CO)	02	28	30		
P_2	RV - I	27	03	30		
F_1	CO X RV - I	04	54	58		
F_2	CO X RV - I	62	162	224	0,857	0,30 - 0,50
F_1RC_1	(CO X RV - I) X CO	06	54	60		
<hr/>						
P_1	Campineira (CO)	0	60	60		
P_2	RV - II	57	03	60		
F_1	CO X RV - II	08	52	60		
F_2	CO X RV - II	21	79	100	0,853	0,30 - 0,50
F_1RC_1	(CO X RV - II) X CO	0	53	53		
<hr/>						
P_1	Campineira	01	55	56		
P_2	RV - IV	61	04	65		
F_1	CO X RV - IV	04	56	60		
F_2	CO X RV - IV	68	190	258	0,252	0,70 - 0,50
F_1RC_1	(CO X RV - IV) X CO	07	53	60		

(a) proporção esperada de plantas resistentes: suscetíveis 1:3.

Tabela 8 - Reação a *V. albo-atrum* nas gerações F₁ e F₂ dos cruzamentos entre Florida Market X RV-1 e Campineira X RV-1, expressa numa escala de classificação por notas. Piracicaba, SP., 1984.

Geração	Cultivar ou Cruzamento	N o t a s								Total de Plantas
		0	20	40	60	80	100			
P ₁	Florida Market	-	-	-	-	04	16		20	
P ₂	RV-I	19	-	-	-	-	-		19	
F ₁	Florida Market X RV-I	-	-	-	-	36	12		48	
F ₂	Florida Market X RV-I	82	-	08	26	108	75		299	

P ₁	Campineira	-	-	-	-	07	13		20	
P ₂	RV-I	16	04	-	-	-	-		20	
F ₁	Campineira X RV-I	-	-	-	-	12	38		50	
F ₂	Campineira X RV-I	31	02	-	-	47	43		123	

Tabela 9 - Análise da segregação nas gerações F₂(F. Market X RV-1 e Campineira X RV-1) para reação de resistência e suscetibilidade a *V. albo-atrum*. Piracicaba, SP., 1984.

G e r a ç ã o	Número de Plantas		Total	X ² (c)	P
	Resistentes(a)	Suscetíveis(b)			
F ₁ (F. Market X RV-1)	0	48	48		
F ₂ (F. Market X RV-1)	82	217	299	0,9376	0,30 - 0,50
F ₁ (Campineira X RV-1)	0	50	50		
F ₂ (Campineira X RV-1)	33	90	123	0,2195	0,70 - 0,50

(a) Reação de resistência: classes fenotípicas 0 e 20;

(b) Reação de suscetibilidade: classes fenotípicas 40, 60, 80 e 100;

(c) Proporção esperada de plantas resistentes: suscetíveis 1:3.

mente infestado, as plantas foram avaliadas por ocasião do florescimento das mesmas.

As reações das linhagens a um mesmo isolado de *V. albo-atrum* evidenciaram que cada uma destas linhagens tem uma mesma forma de manifestação da resistência e, portanto, poderão ser geneticamente semelhantes. A expressão de resistência a *V. albo-atrum* da linhagem RV-1 foi superior as demais linhagens. Para finalidade de melhoramento, a linhagem RV-1 é melhor progenitor do ponto de vista da resistência.

Diante dos resultados das avaliações das gerações F₂ (F. Market X RV-1 e Campineira X RV-1), observa-se que a reação do hospedeiro é de resistência ou suscetibilidade completa, não ocorrendo um gradiente de reações. Nas Tabelas, os indivíduos, cujas reações se enquadraram nas classes fenotípicas 0 e 20, são considerados resistentes, e suscetíveis os enquadrados nas classes fenotípicas 40, 60, 80 e 100. Com essa medida, na análise de segregação, através do teste de χ^2 verifica-se que a distribuição dos indivíduos resistentes:suscetíveis se enquadra na proporção 1:3. Esses resultados vêm confirmar aqueles obtidos no ensaio anterior, realizado com plantas mais jovens, inoculadas por inversão das raízes na suspensão conidial e avaliadas qualitativamente.

Os dados registrados na literatura com outras fontes de resistência de *S. melongena* e os resultados obtidos

no presente trabalho, evidenciaram a presença de um gene recessivo para resistência à murcha causada por *V. albo-atrum*. Assim sendo um caráter monogênico recessivo, necessário se faz proceder a incorporação deste gene nas cultivares Florida Market e Campineira, progenitores do híbrido comercial F₁₀₀, como também noutras cultivares de interesse olerícola, através do método do retrocruzamento.

No tocante à herança da resistência a *V. albo-atrum* determinada em outras culturas, há evidências de que a mesma é controlada por um único gene recessivo, como seja na linhagem de algodão OK 141-5 (BRINKERHOFF *et alii*, 1970), berinjela (LOCKWOOD e MARKARIAN, 1961). Dominância para resistência tem sido também relatada em morango (WILHELM, 1955), batatinha (*Solanum tuberosum* L.) (McLEAN, 1955), tomate (SCHAI-BLE *et alii*, 1951), algumas fontes de resistência em algodoeiro (BARROW, 1970 e WILHELM *et alii*, 1970) e girassol (FICK e ZIMMER, 1974).

Quanto às técnicas empregadas para avaliação dos materiais estudados no presente trabalho, observou-se que a técnica de repicar as plantas em solo artificialmente infestado foi bastante eficiente para discriminação dos genótipos, visto que é em plantas adultas a melhor época em que se evidenciam os sintomas de descoloração vascular. Assim, infere-se que tal técnica seja eficiente para triagem de grande quantidade de genótipos, dispensando o laborioso trabalho de inocular as

plântulas através da imersão das raízes na suspensão conidial. Em contrapartida, esta técnica oferece a vantagem de se ter resultados a curto prazo, avançando, desse modo, o trabalho de melhoramento, selecionando as plantas resistentes e eliminando as suscetíveis.

4.4. EXPERIMENTO IV - REAÇÃO DE 13 PROGÊNIES DE BERINJELA A *V. albo-atrum*

Os resultados da reação de 13 progênies F_{10} de berinjela a *V. albo-atrum* constam na Tabela 10 e a análise de variância na Tabela 3 do Apêndice. A análise de variância revelou um efeito altamente significativo entre progênies. As progênies 6, 13, 1, 9, 10, 3 e 11 constituíram um grupo superior, pois as mesmas tiveram menores índices de doença e as cinco últimas mostraram-se mais promissoras por apresentar maior variabilidade genética.

O coeficiente de variação genética entre progênies, estimado através da esperança matemática do quadrado médio (Tabela 10) foi de 20,53%. O coeficiente de variação genética é utilizado para estimar a variabilidade genética existente em uma população. O valor, assim obtido, no presente trabalho pode ser classificado como alto, indicando a presença de considerável quantidade de variabilidade genética.

Tabela 10 - Reação de 13 progênies de berinjela a *V. albo-atrum*, coeficiente de variação dentro de progênies, coeficiente de variação genética e coeficiente de herdabilidade, ao nível de médias de progênies. Piracicaba, SP., 1984.

Progê- nies	N o t a s			Médias ^{a/} (Notas)	C.V. ^{b/}
	I	II	III		
12	67,06	54,74	52,17	57,99a	44,06
2	42,86	67,14	59,06	56,35a	38,47
7	48,80	60,00	55,24	54,68a	37,69
8	60,00	45,71	51,43	52,38a	38,30
5	52,73	46,67	51,20	50,20a	41,14
4	52,00	46,67	39,05	45,87a	43,03
6	32,00	48,57	48,00	42,86ab	44,50
13	58,00	25,55	40,00	41,18ab	37,21
1	46,67	40,76	32,48	39,97ab	50,73
9	42,00	44,44	27,50	37,98ab	53,13
10	36,00	33,91	36,36	35,42ab	54,32
3	33,33	36,80	32,00	34,04ab	54,41
11	25,71	16,47	11,43	17,87 b	84,82
F.Market	68,75	82,67	77,14	76,19	
RV-IV	31,82	21,00	25,71	26,18	
<hr/>					
$\hat{h}_x^2$ % ^{c/}	85,87				
<hr/>					
C.V.gen. % ^{d/}	20,53				

^{a/} Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{b/} Coeficiente de variação dentro de progênies.

^{c/} Coeficiente de herdabilidade, ao nível de médias de progênies.

^{d/} Coeficiente de variação genética.

ca livre; o que possibilita obter substancial progresso genético.

O coeficiente de variação dentro de progênes envolve efeitos ambientais e genéticos. Quanto maior o coeficiente de variação maior será a variação genética dentro de progênes. A amplitude do coeficiente de variação foi de 37,21 a 84,82%, para as progênes F_{10} provenientes de plantas selecionadas para resistência a *V. albo-atrum*.

Entre as progênes avaliadas, somente a de número 11 foi superior ao progenitor resistente e todas elas foram superiores a cultivar Florida Market.

A estimativa do coeficiente de herdabilidade ($\hat{h}^2$) foi calculada ao nível de parcelas e com um número relativamente pequeno de progênes. Assim, possivelmente tal estimativa tenha sido superestimada. No entanto, este parâmetro serve para dar uma idéia das possibilidades da seleção a ser efetuada entre as progênes. O valor obtido, relativamente alto (85,87%), indica que uma grande porção da variação fenotípica existente para o caráter resistência a *V. albo-atrum* é devido a causas genéticas.

4.5. EXPERIMENTO V - PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE *Verticillium albo-atrum* EM BERINJELA

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 11 e a análise da variância na Tabela 4 do Apêndice. Os isolados de *V. albo-atrum* diferiram estatisticamente entre si pelo teste F, bem como as cultivares. A interação isolados X cultivares mostrou-se significativa, e indica que a reação das cultivares foi diferencial em relação aos isolados testados. Os primeiros sintomas de murcha apareceram aos 14 dias após a inoculação. A precisão do experimento foi elevada, considerando-se os coeficientes de variação iguais a 8,15 (parcela) e 1,86 (sub-parcela).

Verifica-se, pelo teste de Tukey, que os isolados V₅, V₉ e V₃ foram os mais patogênicos, com 10,02, 11,02 e 11,20 dias de sobrevivência, respectivamente; diferindo dos demais isolados. Pôde-se então, agrupar os isolados em três classes distintas quanto ao grau de patogenicidade. Deste modo, foram classificados como menos patogênicos os isolados V₁, V₇ e V₁₀ e com patogenicidade intermediária os isolados V₆, V₈, V₂ e V₄. Os isolados V₄ e V₉, obtidos de tomateiro, foram patogênicos à berinjela. Os isolados V₂, V₇ e V₁₀ não causaram murcha na linhagem RV-1, porém foram patogênicos as demais variedades.

Tabela 11 - Patogenicidade de isolados de *V. albo-atrum*, em berinjela expresso por índice de sobrevivência. Piracicaba, SP., 1984. Dados não transformados.

Isolados	Índice de Sobrevivência				Médias ^{1/}
	F ₁₀₀	RV-1	F. Market	Campineira	
V ₅	10,03	11,40	10,50	8,17	10,02a
V ₉	10,97	8,63	12,60	11,90	11,02a
V ₃	7,93	9,33	7,93	19,60	11,20a
V ₆	11,57	16,33	11,67	18,67	14,56 b
V ₈	12,37	27,07	10,97	15,87	16,57 bc
V ₂	9,1	35,00	10,23	16,33	17,66 bc
V ₄	11,67	20,53	14,93	23,80	17,73 bc
V ₁	11,20	30,80	15,40	18,43	18,96 c
V ₇	12,83	35,00	15,87	13,77	19,37 c
V ₁₀	18,43	35,00	22,40	14,93	22,69 c
Médias	11,61	22,91	13,25	16,15	

^{1/} Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para uma melhor e rápida visualização dos efeitos dos isolados e das cultivares, elaboraram-se gráficos com base nos resultados deste ensaio (Figuras 1 e 2). Quando se comparou o efeito promédio dos 10 isolados de *V. albo-atrum* nas 4 cultivares de berinjela estudadas, representado graficamente na Figura 1, a linhagem introduzida do Canadá RV-1 demonstrou alta resistência. As variedades Florida Market e Campineira e o híbrido entre elas F₁₀₀ foram suscetíveis ao patógeno e, embora Campineira tenha sido mais resistente que Florida Market, seu nível de resistência não foi satisfatório. Quando se considerou o efeito individual de cada isolado nas 3 cultivares e no híbrido F₁₀₀ de berinjela, representado graficamente na Figura 2, foi possível apreciar que os isolados V₃, V₅ e V₉ foram os mais virulentos na linhagem resistente.

Percebe-se neste experimento que houve interação diferencial patógeno X hospedeiro para os 10 isolados testados em quatro genótipos de berinjela. Como se vê na Tabela 11, para cada variedade escolhida, tem-se sempre uma ordem diferente de isolados no sentido de maior para menor capacidade de causar doença. Da mesma maneira, para cada isolado, tem-se sempre uma ordem diferente de variedades no sentido de maior para menor nível de resistência. Neste contexto, a patogenicidade é designada virulência (VAN DER PLANK, 1968) ou patogenicidade vertical (ROBINSON, 1969) e os isolados do pató-

Figura 1 - Efeito promédia de 10 isolados de *Verticillium albo-atrum* Reinke e Berth. em 3 variedades e 1 híbrido de berinjela.

Figura 2 - Efeitos individuais de 10 isolados de *Verticillium albo-atrum* Reinke e Berth. em 3 variedades e 1 híbrido de berinjela.

geno raças virulentas (VAN DER PLANK, 1968) ou patótipos verticais (ROBINSON, 1969).

VAN DER PLANK (1963) estipulou dois tipos de resistência de plantas às doenças: resistência vertical (RV) e resistência horizontal (RH). Quando a variedade do hospedeiro é resistente a algumas raças do patógeno, mas não a todas, é porque ela possui RV (VAN DER PLANK, 1963, 1968; ROBINSON, 1969, 1973). A linhagem RV-1, por exemplo, que apresenta, embora com pequenas intensidades, plantas com sintomas característicos da doença, é resistente verticalmente aos isolados V_2 , V_7 e V_{10} , uma vez que nenhum deles reproduziu-se neste genótipo.

A interação estatisticamente significativa para isolado X hospedeiro detectada na análise de variância, é uma das indicações de que a RV está presente nos materiais estudados (VAN DER PLANK, 1963, 1968, 1975; ROBINSON, 1969, 1973, 1976), e também a teoria de Flor de que para cada gene de resistência no hospedeiro há um gene complementar de virulência no patógeno (FLOR, 1942, 1971), aplica-se a relação variedades de berinjela X isolados de *V. albo-atrum* aqui estudada.

Dentro do conceito de raças fisiológicas, é possível uma separação nítida entre os isolados. Pode-se dizer no entanto, que os isolados variaram em virulência, segundo o conceito de VAN DER PLANK (1968). Estes resultados confir

mas dados encontrados por ALEXANDER (1962) e SCHNATHORST e MATHRE (1966) que encontraram formas de *V. albo-atrum* de maior patogenicidade para o tomateiro e o algodoeiro, respectivamente. NELSON (1950) encontrou notável variação em agressividade, entre isolados de *V. albo-atrum* obtidos de menta.

4.6. EXPERIMENTO IV - PROTEÇÃO CRUZADA DE *V. albo-atrum* EM BERINJELA

A Tabela 5 do Apêndice apresenta a análise da variância dos dados referentes às inoculações simultâneas com suspensões conidiais dos isolados V_5 e V_{10} de *V. albo-atrum*. Os tratamentos diferiram estatisticamente ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. Os resultados das reações de resistência constam da Tabela 12.

O tratamento com o isolado mais patogênico (T_1) diferiu significativamente, a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, dos demais tratamentos, assim como o tratamento com o isolado menos patogênico (T_2).

A doença foi reduzida mesmo quando os dois isolados foram misturados na mesma proporção (T_4). O maior grau de proteção foi conseguido quando a concentração do isolado pouco patogênico foi 100 vezes maior que a do isolado muito patogênico (T_7). Apesar dos tratamentos T_3 , T_4 e T_5 terem di-

Tabela 12 - Médias dos tratamentos do ensaio de proteção cruzada com suspensão conidial dos isolados V_5 e V_{10} de *V. albo atrum*.

Tratamentos	Concentração de Inóculo por ml		Médias ^{1/} (Notas)
	Isolado V_5	Isolado V_{10}	
Controle	0	0	0
T_1	2×10^6	0	87,50a
T_2	0	2×10^6	45,28 e
T_3	2×10^6	2×10^7	71,67 b
T_4	2×10^6	2×10^6	73,61 b
T_5	2×10^6	2×10^5	75,28 b
T_6	1×10^6	2×10^6	65,60 c
T_7	2×10^5	2×10^7	60,28 d

^{1/} Média de 6 repetições, com 15 plantas por parcela. Critério de avaliação conforme o item 3.7.3. de Materiais e Métodos.

- Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey a 5%).

ferido do tratamento T_1 , eles não diferiram entre si, mesmo sendo utilizada no tratamento T_5 uma concentração do isolado muito patogênico 10 vezes maior que a do isolado menos patogênico.

Verifica-se que o mecanismo de proteção cruzada está relacionado com as proporções de inóculo de cada um dos dois isolados usados nas inoculações.

Existem relativamente muitos trabalhos sobre proteção cruzada de plantas com combinações de isolados de fungos de alta e de baixa patogenicidade, combinações de "*formae speciales*" de um mesmo fungo e combinações de espécies e gêneros diferentes. Assim, os resultados obtidos no presente trabalho estão em conformidade com os de SHNATHORST (1966) e PINTO (1978) que estudaram, respectivamente, proteção cruzada em algodoeiro e tomateiro, com isolados de *V. albo-atrum*.

Proteção cruzada foi obtida em tomateiro com *Verticillium* e *Fusarium*, quando utilizaram-se duas cultivares "New York" (resistente a *Verticillium* e suscetível a *Fusarium*) e "Heinz" 1548 (resistente a *Fusarium*, mas suscetível a *Verticillium* (TOKESHI, 1971). Na mesma linha de pesquisa TIGCHELAAR e DICK (1975), trabalhando também com *Verticillium* e *Fusarium*, estudaram o fenômeno de proteção cruzada em tomateiro.

Resistência induzida pela inoculação prévia

com organismos não patogênicos tem sido demonstrada para com doenças de plantas (DAVIS, 1967) e (Johnston e Haufman, 1958; Perry, 1959, citados por TIGCHELAAR e DICK, 1975). Segundo DAVIS (1967) resistência induzida pela proteção cruzada pode ser devida a um dos seguintes mecanismos: (a) acumulação de goma e tiloses; (b) formação de fitoalexinas; (c) alteração no metabolismo do hospedeiro; (d) antibióticos de origem fúngica. Deve-se salientar que evidência conclusiva para qualquer uma destas hipóteses não foi obtida nesta investigação.

Pelo exposto, verifica-se que a proteção cruzada é um mecanismo de controle biológico de doenças de plantas. Assim, sementes transportando internamente uma estirpe pouco patogênica, podem ser usadas como medida de biocontrole de uma estirpe mais patogênica.

4.7. EXPERIMENTO VII - ESTUDOS DE CONTROLE BIOLÓGICO DE *V. albo-atrum* EM BERINJELA COM *Trichoderma* sp.

4.7.1. Testes de Antagonismo *in vitro* - *Trichoderma hamatum*, *T. lignorum*, *Trichoderma* sp. (T₁), (T₃) e (T₆) foram selecionados em meio de cultura por apresentar eficiência quanto à antibiose. O mutante de *Trichoderma* sp. (M₁) mesmo não tendo uma boa performance *in vitro* foi usado no teste em casa

de vegetação. Aqueles fungos atingiram o máximo de esporulação e colonização do substrato ao 7º dia de incubação. O isolado T₆ alcançou o nível máximo ao 10º dia.

Verificou-se que houve diferentes tipos de inibição do crescimento onde cresciam os dois fungos, havendo sempre uma zona de inibição entre as duas colônias. O *Verticillium* parava seu crescimento, enquanto o antagonista continuava a crescer pela zona de inibição. Os quatro mutantes usados não produziram zona de inibição. Verificou-se que a ação dos fungos *in vitro* correspondeu ao seu comportamento *in vivo*.

4.7.2. Controle Biológico de *V. albo-atrum* em Condições de Casa de Vegetação e de campo. Os resultados do ensaio, feito em caixas plásticas, constam da Tabela 13 e da Figura 3. A análise da variância (Tabela 6 do Apêndice) detectou pelo menos um contraste significativo entre os tratamentos, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

No tocante ao teste de médias (Tabela 13) realizado através do teste de Dunnett ao nível de 5%, pôde-se observar que todos os fungos utilizados, com exceção do mutante de *Trichoderma* (M₁), reduziram significativamente a incidência da doença quando comparado com o controle.

Pode-se inferir, pelos resultados, que o potencial de inóculo utilizado foi suficiente para causar 60% de

Tabela 13 - Controle de *V. albo-atrum*, em substrato colonizado por *Trichoderma* sp. em berinjela, em condições de casa de vegetação. Dados não transformados.

T r a t a m e n t o s	M é d i a s ^{1/} % de plantas doentes
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma</i> sp. (M ₁)	41,66 ^{ns}
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma</i> sp. (T ₁)	33,33*
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma</i> sp. (T ₆)	29,99*
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma lignorum</i>	26,66*
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma</i> sp. (T ₃)	16,66*
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma hamatum</i>	13,33*
<i>V. albo-atrum</i> (Controle)	59,99

^{1/} Média de 4 repetições.

*Significativo ao nível de 5% pelo Teste Dunnett quando comparado como controle

^{ns} Não significativo.

Figura 3 - Controle de *Verticillium albo-atrum* com *Trichoderma* sp. em berinjela, em condições de casa de vegetação, expresso em porcentagem de plantas doentes. Piracicaba, SP., 1984.

ataque. Verifica-se uma redução de 60% (*Verticillium* sozinho) para 13% de plantas atacadas quando se inoculou simultaneamente *Verticillium* e *Trichoderma hamatum*. *T. lignorum* e o isolado T₃ também reduziram sensivelmente a murcha causada por *Verticillium*.

No teste de antagonismo em vasos de barro com solo artificialmente infestado com o patógeno, os resultados apresentados na Tabela 14 e Figura 4, indicam que *T. hamatum* e o isolado T₃ reduziram significativamente a incidência da doença. Os primeiros sintomas da doença, no tratamento com *Verticillium* e *T. hamatum*, foram observáveis 21 dias após o surgimento da doença no controle. *T. hamatum* reduziu a doença em cerca de 50%, comparado com o controle.

Apesar de *T. lignorum* ter reduzido a incidência da murcha, esta não foi estatisticamente diferente do controle, pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

O controle de *Verticillium* em condições de campo por *Trichoderma lignorum* e *Trichoderma* sp (T₃) ficou evidenciado pela acentuada diminuição da doença. Estes fungos diferiram estatisticamente do controle ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. (Tabela 6 do Apêndice). As comparações entre as médias, expressas em porcentagem de plantas doentes, pelo teste de Dunnett a 5%, encontram-se na Tabela 15. *T. lignorum*, diferente do ensaio anterior, mostrou-se eficiente

Tabela 14 - Controle de *V. albo-atrum*, em solo artificialmente infestado com o patógeno, em condições de casa de vegetação. Dados não transformados.

T r a t a m e n t o s	M é d i a s ^{1/} % de plantas doentes
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma lignorum</i>	47,91 ^{ns}
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma</i> sp. (T ₃)	41,67*
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma hamatum</i>	33,33*
<i>V. albo-atrum</i> (Controle)	64,58

^{1/} Média de 4 repetições.

*Significativo ao nível de 5% pelo Teste de Dunnett quando comparado com o controle.

^{ns} Não significativo

Figura 4 - Controle de *V. albo-atrum* com *Trichoderma* sp em berinjela, em solo artificialmente infestado, expresso em porcentagem de plantas doentes. Piracicaba, SP., 1984.

Tabela 15 - Controle de *V. albo-atrum* com *Trichoderma* sp. em condições de campo. Dados não transformados.

T r a t a m e n t o s	M é d i a ^{1/} % de plantas doentes
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma lignorum</i>	58,33*
<i>V. albo-atrum</i> + <i>Trichoderma</i> sp. (T ₃)	55,00*
<i>V. albo-atrum</i> (Controle)	90,00

^{1/} Média de 6 repetições.

*Significativo ao nível de 5% pelo Teste de Dunnett quando comparado com o controle.

Figura 5 - Controle de *Verticillium albo-atrum* com *Trichoderma* sp., em condições de campo. Piracicaba, SP., 1984.

te em controlar a doença no campo, naquelas condições estudadas. (Veja também Figura 5).

Tanto em condições de casa de vegetação como em condições de campo, o controle de *Verticillium* foi eficiente com a utilização do isolado T₃ de *Trichoderma*. *T. hamatum* foi também eficiente em casa de vegetação. Assim, recomenda-se a utilização destes fungos em testes posteriores.

Este é o primeiro relato de *T. hamatum* controlando a murcha de berinjela causada por *V. albo-atrum*. O único exemplo de controle biológico de *Verticillium* spp. com fungos antagônicos é com *T. lignorum* em algodoeiro [*Gossypium hirsutum* L.] e em berinjela (Berimistru e Shteinberg (1978), citados por MARROIS *et alii* (1982). MARROIS *et alii* (1982) usaram com sucesso o fungo *Talaromyces flavus* como agente efetivo no controle biológico da murcha de *Verticillium* em berinjela.

Devido ao fato de *V. albo-atrum* (forma microesclerocial) ser o fungo mais importante da berinjela no Estado de São Paulo, novos biótipos ou isolados de *Trichoderma*, e talvez outros agentes de biocontrole, necessitam ser desenvolvidos com atividade contra este patógeno. Necessitam também ser desenvolvidos melhores e mais baratos substratos para a multiplicação do fungo *Trichoderma* sp. para garantir sua estabilidade no solo. O fungo *Trichoderma*, segundo HARMAN *et alii*

(1981), necessita de um bom substrato para se estabelecer no solo.

Este trabalho não tem evidentemente pretensões de estabelecer definitivamente a viabilidade prática do uso do controle biológico mas, encorajar a pesquisa nesta área para que, futuramente, tal prática seja usada rotineiramente pelos agricultores. Ademais, o emprego adequado de organismos eficientes no biocontrole possibilitará a redução do uso de fungicidas, que entre tantas desvantagens propicia o aparecimento de raças resistentes dos patógenos, oneram o custo de produção, destroem o equilíbrio ecológico e são, em geral, altamente tóxicos.

Para que o controle biológico seja usado com sucesso, deve-se se possível utilizar hospedeiros com certo grau de resistência ao patógeno em estudo. Usando-se hospedeiros suscetíveis, a doença não pode ser controlada eficientemente só com o uso de organismos antagônicos. BROWNING *et alii* (1977) afirmam que se deve trabalhar com genes de resistência (táticas) para conseguir um objetivo epidemiológico. O uso adequado de diferentes táticas - diferentes tipos de resistência, fungicidas e práticas culturais para maximizar a ação de antagônicos (biocontrole) ajudaria no manejo estratégico de doenças.

4.8. EXPERIMENTO VIII - INFLUÊNCIA DE MICORRIZAS VESÍCULO-ARBUSCULARES SOBRE A MURCHA DE *V. albo-atrum* EM BERINJELA

Os resultados referentes aos pesos frescos de raiz e parte aérea, altura da planta e referentes à severidade da doença são apresentados na Tabela 16. As análises das variâncias para cada um destes parâmetros analisados constam da Tabela 7 do Apêndice. O teste F detectou diferenças significativas entre os tratamentos, ao nível de 1% de probabilidade. Os coeficientes de variação foram de 18,76%, 9,50%, 12,34% e 4,17%, indicando boa precisão experimental.

Com relação ao peso fresco da parte aérea, peso fresco do sistema radicular e altura da planta, os fungos endomicorrízicos *Glomus leptotichum* e *Glomus macrocarpum* com ou sem o patógeno, tiveram um efeito significativamente superior aos outros dois fungos e testemunha. As plantas micorrizadas com *G. leptotichum* e com *G. macrocarpum* foram mais altas e tiveram maiores produções de matéria fresca do que as plantas não micorrizadas e as micorrizadas com *Gigaspora heterogama* e *Gigaspora margarita*. Estes dois últimos fungos não diferiram entre si, nem do tratamento que recebeu somente *Verticillium*.

A infecção causada por *V. albo-atrum* conduziu

Tabela 16 - Efeito de micorrizas vesículo-arbusculares na murcha de *Verticillium* em berinjela. Piracicaba, SP., 1984.

T r a t a m e n t o s	Parâmetros analisados ^{1/}			
	Doença (%)	Peso fresco da parte aérea (g)	Peso fresco do sistema radicular (g)	Altura da planta (cm)
<i>G. leptotrichum</i> + <i>Verticillium</i>	87,50a	12,91a	5,85a	19,08a
<i>G. macrocarpum</i> + <i>Verticillium</i>	79,17b	11,69a	5,47a	18,21a
<i>G. heterogama</i> + <i>Verticillium</i>	33,33 d	6,94 b	3,51 b	13,50 b
<i>G. margarita</i> + <i>Verticillium</i>	33,33 d	6,20 b	2,90 b	12,83 b
<i>Verticillium albo-atrum</i>	62,50 c	5,63 b	3,82 b	12,37 b

<i>G. leptotrichum</i>	00,00	13,02	6,12	20,06
<i>G. macrocarpum</i>	00,00	11,58	5,56	19,62
<i>G. heterogama</i>	00,00	7,10	3,60	13,32
<i>G. margarita</i>	00,00	6,35	2,96	13,11
Controle (s/ <i>Verticillium</i>)	00,00	6,49	3,88	12,96

^{1/} Médias de 3 repetições, tendo 16 plantas por parcela.

a um decréscimo do peso fresco da parte aérea e altura das plantas. Sintomas de descoloração vascular e murcha foram mais frequentes e com maiores intensidades nas parcelas com *Verticillium* + *G. leptotichum* e *Verticillium* + *G. macrocarpum* do que nos outros tratamentos (Tabela 15). *G. margarita* e *G. heterogama* reduziram significativamente a murcha de *Verticillium*, ao passo que as espécies de *Glomus* a intensificaram. *G. leptotichum* causou mais doença (87,50%) do que *G. macrocarpum* (79,17%). Aparentemente as raízes micorrizadas tiveram menos descoloração dos vasos causada por *V. albo-atrum* do que as raízes somente com o patógeno.

A intensificação da murcha por *G. leptotichum* e por *G. macrocarpum* sugere que estes fungos podem predispor o hospedeiro à infecção. O desenvolvimento de arbúsculos, vesículas e clamidoporos no córtex das raízes pode afetar a penetração e/ou o desenvolvimento do patógeno.

Todos os fungos micorrízicos investigados neste trabalho promoveram infecção nas raízes de berinjela. Não houve muita variação na intensidade de infecção causadas pelas espécies de *Glomus* (Tabela 17). Geralmente são usados dois parâmetros para quantificar a presença do fungo em simbiose com a planta: a porcentagem de infecção nas raízes e o número de esporos do fungo no solo.

Quanto à porcentagem de infecção, os maiores valores foram observados com os fungos *G. macrocarpum* e *G. leptotichum*. A Tabela 17 apresenta as porcentagens médias de infecção com suas respectivas amplitudes. Apesar de *G. margarita* não ter diferido de *G. heterogama* para aqueles parâmetros anteriormente citados, o referido fungo apresentou uma maior porcentagem de infecção. Deve-se frisar que a porcentagem de infecção não está relacionada com eficiência micorrízica. Um fungo pode ser mais eficiente do que outro e causar perfeitamente menor infecção.

Tabela 17 - Porcentagem de infecção em raízes de berinjela colonizadas por micorrizas vesículo-arbusculares.

T r a t a m e n t o s	% de infecção nas raízes ^{1/}	Amplitude
<i>G. leptotichum</i> + <i>Verticillium</i>	49,89	45,61-52,40
<i>G. macrocarpum</i> + <i>Verticillium</i>	54,14	40,91-61,30
<i>G. heterogama</i> + <i>Verticillium</i>	22,61	20,44-25,82
<i>G. margarita</i> + <i>Verticillium</i>	37,51	28,00-45,35
<i>Glomus leptotichum</i>	51,62	44,21-60,26
<i>Glomus macrocarpum</i>	55,03	48,82-60,00
<i>Gigaspora heterogama</i>	27,31	21,67-35,26
<i>Gigaspora margarita</i>	44,69	39,99-48,72

^{1/} Média de 5 repetições, sendo 1 planta/repetição.

As plantas foram bem infectadas por *G. margarita* e *G. heterogama*, mas não mostraram, entretanto, nenhuma tendência de aumentar o desenvolvimento das mesmas.

O efeito benéfico observado com *G. leptotichum* e *G. macrocarpum* na berinjela deve ser devido ao conhecido aumento de absorção de nutrientes pelas raízes micorrizadas. Desse modo, sendo o hospedeiro mais infectado pelo fungo micorrízico e com maior capacidade de absorção do que as espécies de *Gigaspora*, sugere-se que o patógeno seja favorecido com aqueles fungos endomicorrízicos.

Normalmente o efeito das micorrizas no aumento da produção de matéria seca tem sido atribuído à maior absorção de fósforo, zinco e cobre pelas plantas micorrizadas (SANDERS e TINKER, 1971). De acordo com SANDERS e TINKER (1971) o aumento na absorção de nutrientes, que geralmente se verifica em plantas micorrizadas, deve ser atribuído ao aumento na superfície de absorção promovido pelas hifas do fungo, externas à raiz. O mecanismo de controle de infecção sugerido por RATNAYAKE *et alii* (1978) é o de alteração da permeabilidade da membrana, determinada pela variação nos teores de P do sistema radicular. Quando o P é baixo há maior exudação de açúcares redutores e aminoácidos, que promovem a germinação do esporo e sustentam o processo inicial de infecção. Quando o teor de P no sistema radicular é elevado, a permeabilidade é

menor, a exudação diminui e o processo infeccioso é inibido. Deve-se salientar que no presente trabalho, usou-se somente um tipo de solo, cuja análise é mostrado na Tabela 4, e portanto, com aquela dose de P presente no solo.

O desenvolvimento da podridão radicular de soja por *Phytophthora* em plantas micorrizadas com alto teor de fósforo no solo indica que o efeito exercido pela endomicorriza na suscetibilidade está relacionado com a própria infecção micorrízica (ROSS, 1972). Por outro lado, DAVIS e MENGE (1980) afirmam que a influência de um fungo micorrízico sobre uma doença pode ser devido ao aumento na absorção de nutrientes e não a um efeito direto do fungo micorrízico. O número de raízes sadias em plantas de citrus (*Citrus sinensis* L.) micorrizadas, inoculadas com *Phytophthora parasita* foi maior do que em plantas não micorrizadas inoculadas com *P. parasitica* (DAVIS *et alii*, 1978). Contudo, as respostas a *P. parasitica* foram influenciadas pela nutrição de fósforo; em plantas não inoculadas com *P. parasitica*, as concentrações de P nas folhas de plantas micorrizadas foram maiores do que nas folhas de plantas não micorrizadas.

Vários estudos indicam que infecção radicular causada por micorrizas vesículo-arbusculares (VA) influencia as doenças causadas por fungos do solo. Plantas micorrizadas podem ser mais severamente afetadas pelos patógenos do que

plantas não micorrizadas. Micorrizas VA aumentaram a resistência de tabaco à doença causada por *Thielaviopsis basicola* (BALTRUSCHAT e SCHÖNBECK, 1975), e raízes de algodoeiro não micorrizada foram mais severamente danificadas por *T. basicola* do que as não micorrizadas (SCHÖNBECK e DEHNE, 1977). A murcha do tomateiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* foi reduzida quando as plantas foram pré-infectadas pelo fungo micorrízico *Glomus mosseae* (DEHNE e SCHÖNBECK, 1975). Em contraste, raízes micorrizadas de abacate foram mais suscetíveis a *Phytophthora cinnamomi* do que raízes sem micorrizas (DAVIS *et alii*, 1978).

Apesar de não se ter conclusões concretas sobre a natureza do efeito observado dos fungos micorrízicos, os dados indicam que as espécies *Glomus leptotichum* e *Glomus macrocarpum* devem ser escolhidas preferencialmente para outros estudos de inoculação no referido hospedeiro, pois foram tais fungos que melhores resultados propiciaram à berinjela; muito embora tenham intensificado a severidade da doença. Por outro lado, as espécies *Gigaspora margarita* e *Gigaspora heterogama* devem ser estudadas acuradamente com o objetivo de controlar biologicamente *V. albo-atrum*. O uso de hospedeiros geneticamente resistentes a *V. albo-atrum* deve ser considerado. No presente trabalho só foi usada uma espécie suscetível ao patógeno. Uma espécie de fungo micorrízico que fornece proteção a

um patógeno em uma espécie de planta pode não ser tão efetiva em outra espécie de planta, apesar do mesmo patógeno estar envolvido. Uma situação comparável pode também ocorrer entre diferentes cultivares sobre a mesma espécie de planta. SCHENCK *et alii* (1975) encontraram *Glomus macrocarpum* efetivo em reduzir populações de nematóides em cultivares de soja suscetíveis, mas o mesmo fungo micorrízico não foi tão efetivo numa cultivar resistente.

Uma vez que a infecção micorrízica aumenta a absorção de fósforo pelas raízes, necessário se torna ensaiar os fungos micorrízicos em níveis crescentes de fósforo a fim de se estudar a influência de tais fungos sobre a doença porque, se concentrações similares de fósforo podem ser estabelecidas em plantas micorrizadas e não micorrizadas, o efeito deste elemento na interação micorriza-patógeno seria minimizado.

4.9. EXPERIMENTO IX - EFEITO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO SOBRE A MURCHA DE BERINJELA CAUSADA POR *V. albo-atrum*

O teste F para tratamentos mostrou-se significativo ao nível de 1% de probabilidade para os caracteres doença, peso fresco da parte aérea e altura da planta e ao nível de 5% para peso fresco da raiz (Tabela 18). O teste "t", (Tabela 18), mostrou-se também significativo ao nível de 5%

de probabilidade, quando comparado com o controle, para os caracteres acima mencionados, exceto para o peso fresco da raiz muito embora o teste F tenha detectado diferença significativa entre os tratamentos. Só seria detectada diferença se se fosse comparado, por exemplo, o tratamento GA 50 ppm com o tratamento ácido succínico 10 g. Observando-se as diferenças entre as médias, nota-se que todos os reguladores de crescimento testados reduziram a murcha de *Verticillium* em berinjela, exceto AIB a 500 ppm. Como se vê na Tabela 18, e melhor visualizado na Figura 6, o 2,4-D foi aquele que melhores resultados proporcionou, no tocante à redução de doença. Deve-se salientar que a dosagem de 10 ppm de 2,4-D causou certa deformação nas folhas de algumas plantas. Assim, tal dosagem pode ser considerada crítica ao hospedeiro, sem levar em consideração os efeitos desta auxina, assim como dos demais tratamentos, sobre a produção.

O AIB 250 ppm resultou em 26,67% de doença, reduzindo a doença em 69,23% quando comparado ao controle. O AIB 500 ppm não diferiu do controle, talvez por ter sido muito elevado esta dosagem. A esta concentração as plantas apresentaram-se com maiores variações em altura e em peso fresco da parte aérea. No entanto, mesmo AIB 500 ppm, como os demais tratamentos atrasaram o aparecimento dos primeiros sintomas, vindo estes a se manifestarem aos 16 dias após o aparecimento dos sintomas no controle.

Tabela 18 - Efeitos de reguladores de crescimento quanto as suas atividades quimioterapeu-
ticas, sobre a murcha de *V. albob-attum*, peso e altura da planta em berinjela.
Piracicaba, SP., 1984.

C o n c e n t r a ç ã o	Concen- tração	Parâmetros analisados ^{1/}			
		Doença (%)	Peso fresco da parte aérea (g)	Peso fresco da raiz (g)	Altura da planta (cm)
Controle absoluto		00,00	8,12	5,21	18,64
Controle (<i>Verticillium</i>)		86,67	7,25	4,56	18,33
Cycocel + <i>Verticillium</i>	5 ppm	33,33*	10,47	6,99	22,87*
	10 ppm	46,67*	9,20	5,23	20,67
Ácido Succínico + <i>Verticillium</i>	5 g/l	40,00*	8,24	3,98	16,67
	10 g/l	46,67*	4,78	2,10	12,80*
Ácido Giberélico + <i>Verticillium</i>	50 ppm	33,33*	12,02*	7,51	21,10
	100 ppm	60,00*	6,90	4,47	16,87
Ac. Indolbutírico + <i>Verticillium</i>	250 ppm	26,67*	9,04	4,68	23,57*
	500 ppm	66,67	12,13*	6,09	24,60*
Ácido 2,4-Diclorofenoxiacéti- co + <i>Verticillium</i>	6 ppm	13,33*	9,91	4,95	19,83
	10 ppm	6,67*	11,13*	5,73	23,60*

*Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste "t", quando comparado com o controle.

^{1/} Dados expressos em média de 3 repetições.

Figura 6 - Efeitos de reguladores de crescimento sobre a murcha causada por *V. albo-atrum* em berinjela.

Observou-se que as plantas tratadas com 2,4-D 10 ppm, AIB 250 e 500 ppm e CCC 5 ppm mostraram maior altura que as demais. O CCC, descrito como um retardador de crescimento, estimulou o crescimento das plantas, nas concentrações utilizadas, apesar de ter reduzido a incidência da doença, como também retardado o aparecimento desta enfermidade. O ácido succínico, como era de se esperar, reduziu o porte da planta e a incidência da doença. Em tomateiro KNAVEL (1969) notou que o CCC e o ácido succínico mostraram-se efetivos em reduzir o porte da planta.

Notou-se que os reguladores de crescimento ensaiados não afetaram significativamente o sistema radicular, nas condições estudadas (Tabela 18).

Com relação ao controle da murcha, estes resultados mostram-se semelhantes aos obtidos por DAVIS e DIMOND (1953) que observaram o 2,4-D, o ácido indol-3-acético, o ácido α -naftalenoacético, o ácido 2,3,5-triidobezoico e o ácido β -naftalenoacético reduzindo a murcha do tomateiro causada por *Fusarium*. Deve-se frisar que a capacidade dos reguladores de crescimento induzirem resistência numa relação hospedeiro-patógeno não implica necessariamente que eles atuem similarmente noutra relação. Rowell (1949), citado por DAVIS e DIAMOND (1953) demonstrou que 2,4-D aumentou a suscetibilidade do tomateiro a *Alternaria solani*. SINHA & WOOD (1964) relaç

taram que o CCC atrasou e reduziu a severidade da murcha causada por *V. albo-atrum* em tomateiro. Em algodoeiro, os sintomas da murcha por *V. albo-atrum* foram atrasadas em 12 dias quando comparado com as plantas inoculadas não tratadas com CCC (ERWIN, 1977). Em nenhum caso o CCC atrasou ou reduziu a doença quando este foi aplicado após a inoculação do patógeno.

As evidências indicam que grande parte dos reguladores de crescimento é absorvida dentro de poucas horas após o tratamento (RICE, 1948, WEAVER, 1948). Assim, parece provável que se os reguladores de crescimento agem diretamente como fungitóxico ou inativador de toxinas, seu efeito seria mais pronunciado quanto mais curto fosse o intervalo entre a inoculação e o tratamento.

Não se tem informação sobre o modo de ação do CCC em atrasar a murcha de *Verticillium* do algodoeiro, apesar de SINHA e WOOD (1964) terem relatado que houve um aumento na formação de tiloses em plantas de tomate tratadas.

Neste trabalho não se investigou a causa da resistência que as plantas, assim tratadas, adquirem. Possivelmente, os reguladores de crescimento devem ter um efeito estimulante sobre o sistema de fitoalexina na berinjela. BELL (1969) relatou que compostos fenólicos relacionados ao gossipol, que foram isolados de plantas de algodão inoculadas

e mostrados serem induzidos pela inoculação, agiram como um mecanismo de resistência em variedades tolerantes de algodão. Mais tarde ZAKI *et alii* (1972) purificaram o composto em plantas de algodão e designaram-no de hemigossipol.

5. CONCLUSÕES

Dos estudos realizados, nas condições dos experimentos, foram obtidas as seguintes conclusões:

- 1) As linhagens de berinjela RV-I, RV-II, RV-III e RV-IV representam as melhores fontes de resistência a *V. albo-atrum*. A população segregante F_2 RC₁ do retrocruzamento (F_1 : F. Market X RV-IV) X F. Market mostrou-se mais resistente a *V. albo-atrum* do que as demais populações. As populações segregantes do retrocruzamento (F_1 : Campineira X RV-IV) X Campineira tiveram menores índices de sobrevivência.
- 2) Considerando-se as introduções RV-I, RV-II e RV-IV como padrões de resistência, a herança de tal caráter é controlada por um

par de gene recessivo, proposto ser *veve*.

- 3) O coeficiente de herdabilidade no sentido restrito, ao nível de progênies, de 85,87% e o coeficiente de variação genética de 20,53% indicam a presença de suficiente variabilidade genética, de modo a permitir progressos subsequentes.
- 4) Os isolados V_5 , V_9 e V_3 foram os mais patogênicos. Foi observada especialização fisiológica no patógeno, o que representa uma grande ameaça para os planos de melhoramento visando resistência a *V. albo-atrum*. A presença de interação diferencial cultivares X isolados no complexo berinjela X *Verticillium* indica ser do tipo vertical a resistência envolvida. Assim, por ser a murcha uma doença de juro simples e o hospedeiro uma planta anual, considera-se viável o uso de genes de resistência vertical, por possibilitar a rotação de genótipos e a atuação da seleção estabilizadora.
- 5) *Trichoderma* sp. apresentou hiperparasitismo a *V. albo-atrum* "in vitro". Em condições de

casa de vegetação, o controle de *V. albo-atrum* foi mais eficiente com a utilização de *Trichoderma hamatum* e o isolado T₃ de *Trichoderma* sp. Este último isolado e *T. lignorum* reduziram sensivelmente a enfermidade em condições de campo. Recomenda-se a utilização destes fungos em testes posteriores.

- 6) Plantas de berinjela cv. F. Market micorrizadas com *Gigaspora margarita* e *Gigaspora heterogama*, inoculadas com *V. albo-atrum*, foram mais resistentes à murcha do que as plantas não micorrizadas. Em contraste, *Glomus leptotichum* e *Glomus macrocarpum* intensificaram a doença. As interações do sistema micorriza-patógeno-hospedeiro são bastante complexas e, portanto, as relações de especificidade e eficiência micorrízica devem ser analisadas cuidadosamente.
- 7) Os reguladores de crescimento CCC, AIB, GA, 2,4-D e Ácido Succínico reduziram significativamente a incidência da doença. O maior controle foi conseguido com 2,4-D.

6. BIBLIOGRAFIA

- ACOSTA, J.C., J.C. GILBERT e V.L. QUINON, 1964. Heritability of bacterial wilt resistance in tomato. *Proc. Amer. Soc. for Hort. Sci.* Beltsville, 84:455-462.
- ALEXANDER, L.J., 1962. Susceptibility of certain *Verticillium* resistant varieties to an Ohio isolate of the pathogen. *Phytopathology*. St. Paul, Minnesota, 55:998-1000.
- ALLEN, M.F.; W.K. SMITH; S.M. MOORE; M. CHRISTENSEN, 1981. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bautelona gracilis*. *New Phytol.*, Oxford, 88:683-693.
- ALLISON, C.C. e D.V. PHYLLIPS, 1963. In vivo selection of biotypes of *Cephalosporium* inhibitory to the development of tomato and cotton *Fusarium* wilt symptoms. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 53(8):869 (abstract).
- ANWAR, A.A., 1949. Factors affecting the survival of *Helminthosporium sativum* and *Fusarium lini* in soil. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 39:1005-1019.
- AGRIOS, N.G., 1969. Plant Pathology. Academic Press, Inc. 629p.

- BALTRUSCHAT, H. e F. SCHÖNBECK, 1975. The influence of endotrophic mycorrhiza on the infestation of tobacco by *Thielaviopsis basicola*. *Phytopath. Z.*, 84:172-188.
- BARROW, J.R., 1970. Heterozygosity in inheritance of *Verticillium* wilt tolerance in cotton. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 60:301-303.
- BELL, A.A., 1969. Phytoalexin production and *Verticillium* wilt resistance in cotton. *Phytopathology*, St. Paul, 59:1119-1127.
- BELL, A.A.; J.T. PRESLEY, 1969. Heat-inhibited or heat-killed conidia of *Verticillium albo-atrum* induce disease resistance and phytoalexin synthesis in cotton. *Phytopathology*, St. Paulo, MN., 59:1147-1151.
- BENNETT, C.W., 1953. Interactions between viruses and virus strains. In: K.M. SMITH e M.A. LAUFFER, ed. *Advances in virus research*. Academic Press, New York. p.39-67.
- BORLAUG, N.E., 1945. Variation and variability of *Fusarium lini*. *Minnesota Agr. Exp. Sta. Tech. Bull*, 168. 40p.
- BOZARTH, R.F., E.I. HECHT e A.F. ROSS, 1962. Systemic acquired resistance against tobacco mosaic virus resulting from localized infections by *Thielaviopsis basicola* in tobacco leaves. *Phytopathology*. St. Paul, MN., 52:4 (Abstr.).
- BRAVERMAN, S.W., 1963. Screening eggplant for resistance to *Verticillium* wilt. *Phytopathology*, 53:343 (Abstract).
- BREWBAKER, J.L., 1964. *Genética na Agricultura*. São Paulo. Editora da Universidade de São Paulo/Editora Polígono. 217p.

- BROWNING, J.A., M.D. SIMONS e E. TORRES, 1977. Managing host genes epidemiologic and genetic concepts. In: Plant disease. vol. I. Academic Press, Inc., New York. pp.191-211.
- BUIMISTRU, L.D. e M.E. SHTEINBERG, 1978. Study of rhizosphere mycoflora of eggplants as affected by the application of *Trichoderma lignorum*. Izv. Akad. Nauk Mold. Biol. Khim., Nauk. 87-88.
- CATANI, S.C. e J.L. PETERSON, 1967. Antagonistic relationships between *Verticillium dahliae* and fungi isolated from the rhizosphere of *Acer platanoides*. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 57:363-366.
- CARDOSO, E.J.B.N., 1968. Contribuição ao estudo do controle biológico da murcha de *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli* (Schlecht) Kendr e Snyder em *Phaseolus vulgaris* L. (Dissertação de Mestrado apresentada à ESALQ/USP. 58pp.
- CHISLER, J.A., C.E. SMITH, M.R. MENON e C.C. ALLISON, 1962. Symptom retardation of *Fusarium* wilt of tomato seedling by a *Cephalosporium* species. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 52:728 (Abstr.).
- COTTON, J.R., 1965. Breeding cotton for tolerance to *Verticillium* wilt. Crops Research Division; ARS, USDA. 18p.
- DAVIS, D., 1964. Cross-protection of *Fusarium* wilt susceptible wilt light formae specialis of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 54:891 (Abstr.).
- DAVIS, D., 1967. Cross-protection in *Fusarium* wilt diseases. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 57:311-314.

- DAVIS, D. e A.E. DIMOND, 1953. Inducing disease resistance with plant growth-regulators. *Phytopathology*, St. Paul, 43:137-140.
- DAVIS, R.M., J.A. MENGE e G.A. ZENTMYER, 1978. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on *Phytophthora* root rot of three crop plants. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 68:1614-1617.
- DEHNE, H.W.; F. SCHONBECK, 1975. The influence of the endotrophic mycorrhiza on the fusarial wilt of tomato. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenpathol. Pflanzenschutz*, 82:630-632.
- DEXHEIMER, M.C.; V. GIANINAZZI-PEARSON; S. GIANINAZZI, 1982. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhizas. IV- Ultracytoenzymological evidence (ATP-ase) for active transfer process in the host-arbuscule interface. *New Phytol.*, Oxford, 90:37-43.
- DIXON, G.R. e G.F. PEGG, 1969. Hyphal lysis and tylose formation in tomato cultivars infected by *Verticillium albo-atrum*. *Transf. Br. Mycol. Soc.*, 53:109-118.
- EMMATY, D.A. e R.J. GREEN JR., 1969. Fungistasis and the behavior of the microesclerotia of *Verticillium albo-atrum* in soil. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 59:1590-1595.
- ERWIN, D.C., 1977. Growth retardants: evidence for their effect on suppression of *Verticillium* wilt of cotton. In: *Crop Protection Agents-their biological control*. McFARLANE, N.R. (ed.). London, New York, San Francisco. Academic Press. 638p.
- EVANS, G. e C.D. McKEEN, 1975. A strain of *Verticillium dahliae* pathogenic to sweet pepper in Southwestern Ontario. *Can. J. Pl. Sci.*, Ottawa, 55:857-859.

- FICK, G.N., D.E. ZIMMER, 1974. Monogenic resistance to *Verticillium* wilt in sunflowers. *Crop. Sci.*, Madison, 14:895-896.
- FIGUEIREDO, M.B., B.P. BASTOS CRUZ, A.P. SILVEIRA, S.G.P. SILVEIRA e J.B. BERNARDI, 1968. Resistência de algumas variedades de berinjela à "murcha verticilar", ocasionada pelo fungo *Verticillium dahliae* Kleb. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 35(1):9-15.
- FISHER, W.D., 1968. Breeding cotton for tolerance to *Verticillium* wilt. Beltwide Cotton Prod. Res. Conf. (Hot Springs, Arkansas). Proc. p.230 (Abstr.).
- FLOR, H.H., 1942. Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Phytopathology*. St. Paul, MN., 32:653-659.
- FLOR, H.H., 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Ann. Rev. of Phytopathology*. Palo Alto, 9:275-296.
- FORDYCE JR., C. e R.J. GREEN JR., 1964. Mechanism of variation in *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 54:795-798.
- GARRETT, S.D., 1965. Toward biological control of soil-borne plant pathogens. In: *Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens - Prelude to Biological Control*. K.F. Baker and W.C. Snyder. Univ. of California Press:4-17.
- GIOVANNETTI, M. e B. MOSSE, 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in roots. *New Phytol.*, Oxford, 84:489-500.
- GRIFFITHS, D.A. e I. ISAAC, 1966. Host parasite relationships between tomato and pathogenic isolates of *Verticillium*. *Ann. Appl. Biology*, Great Britain, 63:277-288.

- GRINSTEIN, A., J. KATAN e Y. ESHEL, 1976. Effect on dinitroaniline herbicides on plant resistance to soilborne pathogens. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 66:517.
- HARMAN, G.E., I. CHET e R. BAKER, 1981. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as a biocontrol agent. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 71:569-572.
- HECHT, E.I.; D.F. BATEMAN, 1964. Nonspecific acquired resistance to pathogens resulting from localized infections by *Thielaviopsis basicola* or virus in tobacco leaves. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 54:523-530.
- HODGES, C.F., 1978. Postemergent herbicides and the biology of *Duchslera sorokiniana*: Influence on severity of leaf spot on *Poa pratensis*. *Phytopathology*, St. Paulo, MN., 68:1359-1359.
- HORNER, C.E., 1953. Pathogenicity of *Verticillium* isolates from various hosts on peppermint. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 43:588.
- ISAAC, I. e W.G. KEYWORTH, 1948. *Verticillium* wilt of hop (*Humulus lupulus*). III- A study of the pathogenicity of isolates from fluctuating and from progressive outbreaks. *Ann. App. Biology*, Great Britain, 35:243-249.
- ISAAC, I., 1967. Speciation in *Verticillium*. *Ann. Rev. Phytopathology*, Palo Alto, California, 5:201-222.
- JOHNSON, L.F., E.A. CURL, J.H. BOND e H.A. FRIBOURG, 1959. Methods for studying soil microflora - Plant disease relationships. Burgess Publishing Co. Mineapolis. 172p.

- JOHNSTON, C.O. e M.D. HUFFMAN, 1958. Evidence of local antagonism between two cereal rust fungi. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 48:69-70.
- KIRALY, Z., Z. KLEMENT, F. SOLYNDY e S. VÖRÖS, 1970. *Verticillium* wilt. In: *Methods in Plant Pathology*. Budapest, Akademiai Kiadó. p.427-433.
- KNAVEL, D.E., 1969. Influence of growth retardants on growth, nutrient contents and yield of tomato plants grown at various fertility levels. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, Michigan, 94:32-35.
- LEE, M. e J.L. LOCKWOOD, 1977. Enhanced severity of *Thielaviopsis basicola* root rot induced in soybean by the herbicide chloramben. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 67:1360.
- LERNER, I.M., 1954. *Genetics Homeostasis*. Edinburgh e London. Oliver and Boyd. 134p.
- LITTLE, T.M. e F.J. HILLS, 1973. *Statistical Methods in Agricultural Research*. Davis, T.M. Little e F.J. Hills. 242p.
- LOCKWOOD, J.L. e D. MARKARIAN, 1961. Breeding eggplants for resistance to *Verticillium* wilt. *Quarterly Bulletin*. Michigan Agricultural Experiment Station, 44(1):15-20.
- LOCKWOOD, J.L. e D. MARKARIAN, 1967. Breeding eggplants for resistance to *Verticillium* wilt: 1961-1966. *Quarterly Bulletin*. Michigan Agricultural Experiment Station, 50(1):50-58.
- LONG, D.W., 1963. Inhibition of *Fusarium* wilt symptoms in cowpea by species of *Cephalosporium*. *Phytopathology*, St. Paul, 53(8):881 (Abstr.).

- LOPES, E.S.; J.O. SIQUEIRA e L. ZAMBOLIM, 1983. Caracterização das micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, SP., 7(1):1-19.
- LOVREKOVICH, L. e G.L. FARKAS, 1965. Induced protection against wildfire diseases in tobacco leaves treated with heat-killed bacteria. *Nature*, London, 205:823-824.
- MAROIS, J.J., A. JOHNSTON, M.T. DUNN e G.C. PAPAVIDAS, 1982. Biological control of *Verticillium* wilt of eggplant in the field. *Plant Disease*, Beltsville, 66:1166-1168.
- MATHRE, D.E. *et alii*, 1966. Comparison of the virulence of isolates of *Verticillium albo-atrum* from several of the cotton-growing regions in the United States, Mexico and Peru. *Pl. Dis. Repr.*, Beltsville, Maryland, 50:930-933.
- MARTIN, J.P., 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Science*, 134:1528-1529.
- MARX, D.H., 1973. Mycorrhizae and feeder root disease. In: MARXS, G.C. e T.T. KOZLOWSKI, ed. *Ectomycorrhizae*. London, Academic Press, p.351-382.
- McLEAN, J.G., 1955. Selecting and breeding potatoes for field resistance to *Verticillium* wilt in Idaho. *Idaho Agr. Exp. Sta. Res. Bull.* 30.
- McCLURE, T.T., 1951. *Fusarium* foot rot of sweet potato sprouts. *Phytopathology*. St. Paul, MN., 41:72-77.
- MENGE, J.A.; S. NEMEC; R.M. DAVIS e V. MINASSIAN, 1978. Mycorrhizal fungi associated with citrus and their possible interactions with pathogens. *Proc. Intern. Soc. Citriculture*, v.3.

- MEREDITH, C.H., 1944. The antagonism of soil organism to *Fusarium oxysporum cubense*. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 34:426-429.
- MEREDITH, C.H., 1946. Soil actinomycetes applied to banana plants in the field. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 36:983-987.
- MOSSE, B., 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, 11:171-196.
- NELSON, R., 1950. *Verticillium* wilt of peppermint. *Mich. Agric. Exp. Sta. Tech. Bull*, 221. 259p.
- O'BRIEN, M.J., 1983. Evaluation of eggplant accessions and cultivars for resistance to *Verticillium* wilt. *Plant Disease*, Beltsville, 67:763-764.
- PAGET, D.K., 1975. The effect of *Cylindrocarpus* on plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: SANDERS, F.E., B. MOSSE e P.B. TINKER, eds. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press. p.593-606.
- PEARSON, V. e P.B. TINKER, 1975. Measurement of phosphorus fluxes in the external hyphae of endomycorrhizas. In: SANDERS, F.E.; B. MOSSE; P.B. TINKER, eds. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press. p.277-287.
- PEGG, G.F. e G.R. DIXON, 1969. The reactions of susceptible and resistant tomato cultivars to strain of *Verticillium albo-atrum*. *Ann. Appl. Biol.*, Great Britain, 63:389-400.
- PERRY, D.A., 1959. Studies on the mechanism underlying the reduction of pea wilt by *Fusarium solani* f. *pisii*. *Brit. Mycol. Soc. Trans.*, 42:388-396.

- PHILIPS, J.M. e D.S. HAYMAN, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55:158-161.
- PIMENTEL GOMES, F., 1973. Curso de Estatística Experimental. 5a. ed. São Paulo, Livraria Nobel S.A. 430p.
- PINTO, N.F.J.A., 1978. Metodologia de inoculação e proteção cruzada de *Verticillium albo-atrum* Reinke e Bert. em tomateiro (*Lycopersicum esculentum* Mill., ESALQ/USP, Piracicaba, SP. 38p. (Dissertação de Mestrado).
- PRESLEY, J.T., 1941. Saltants from a monosporic culture of *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 31:1135-1139.
- PRESLEY, J.T., 1950. *Verticillium* wilt of cotton with particular emphasis on variation of the causal organism. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 40:497-511.
- PUTT, E.D., 1964. Breeding behavior of resistance to leaf mottle on *Verticillium* wilt in sunflowers. *Crop. Sci.*, Madison, 4:177-179.
- RATNAYAKE, M., R.T. LEONARD e J.A. MENGE, 1978. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal endophyte of Ericaceae. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 63:381-383.
- RAVA, C.A., 1970. Murcha de girassol incitada por *Verticillium albo-atrum* Reinke e Berth. Variabilidade do patógeno e hospedeiro. Piracicaba, ESALQ/USP. 38p. (Dissertação de Mestrado).
- RICE, E.L., 1948. Absorption and translocation of ammonium 2,4-dichlorophenoxyacetate on bean plants. *Bot. Gaz.*, 109:301-314.

- ROBERTS, C.L. e G. STATEN, 1972. Heritability of *Verticillium* wilt tolerance in crosses of American Upland Cotton. *Crop. Sci.*, Madison, 12:63-65.
- ROBINSON, R.A., 1969. Disease resistance terminology. *Review of Applied Mycology*. London, 48:593-606.
- ROBINSON, R.A., 1973. Horizontal resistance. *Review of Plant Pathology*. Palo Alto, 52:483-501.
- ROBINSON, R.A., 1976. *Plant Pathosystems*. Berlin, Heidelberg New York, Springer-Verlag. 184p.
- ROSS, A.F., 1961. Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plantas. *Virology*, 14:340-358.
- ROSS, J.P., 1972. Influence of *Endogone* mycorrhiza on phytophthora root of soybean. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 62:896-897.
- ROY, I., M. PATEL, 1963. Prevention of symptom development of *Fusarium* wilt of cotton by isolates of a *Cephalosporium* species. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 53:887. (Abstr.).
- SANDERS, F.E. e P.B. TINKER, 1971. Mechanisms of absorption of phosphate from soil by *Endogone* mycorrhizas. *Nature*, London, 233:278-279.
- SCHAIBLE, L.; O.S. CANNON; Y. WADDOUPS, 1951. Inheritance of resistance to *Verticillium* wilt in a tomato cross. *Phytopathology*. St. Paul, MN., 41:986-990.
- SCHENCK, N.C., R.A. KINLOCH e D.W. DICKSON, 1975. Interaction of endomycorrhizal fungi and root-knot nematode on soybean. In: SANDERS, F.E.; B. MOSSE e P.B. TINKER, eds. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press, p.605-617.

- SCHENCK, N.C. e M.K. KELLAN, 1978. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on disease development. Gainesville, Univ. Florida. (Bulletin 798, Technical). 16p.
- SCHENCK, N.C. e T.H. NICOLSON, 1977. A zoosporic fungus occurring on species of *Gigaspora margarita* and other vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologia*, New York, 69:1049-1053.
- SCHFFER, R.P., S.S. GOTHOSKAR, C.F. PIERSON e R.P. COLLINS, 1956. Physiological aspects of *Verticillium* wilt. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 46:83-87.
- SCHNATHORST, W.C., 1966. Host range and differentiation of a severe form of *Verticillium albo-atrum* in cotton. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 56:1155-1161.
- SCHONBECK, F. e H.W. DEHNE, 1977. Damage to mycorrhizal and nonmycorrhizal cotton seedlings by *Thielaviopsis basicola*. *Plant Dis. Rep.*, Washington, 61:266-267.
- SHMOTINA, G.E. e M.V. GORLENKO, 1968. Morphological variability of the causal agent of *Verticillium* wilt under different nutritional conditions. *Review of Applied Mycology*, London, 47:17.
- SILVA, G.S., 1978. Variabilidade de *Verticillium albo-atrum* e sua patogenicidade a algumas ervas daninhas. Dissertação de Mestrado - ESALQ/USP. 41p.
- SINA, A.K. e R.K.S. WOOD, 1967. An analysis of responses of resistant and of susceptible tomato plants to *Verticillium* infection. *Ann. Appl. Biology*, Great Britain, 59:143-154.

- SINHA, A.K. e R.K.S. WOOD, 1964. Control of *Verticillium* wilt of tomato plants with "Cycocel". *Nature*, London, 202:824.
- SMITH, G.E., 1957. Inhibition of *Fusarium oxysporum lycopersici* by a species of *Micromonospora* isolated from tomato. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 47:429-432.
- SNEDECOR, G.W. e W.G. COCHRAN, 1973. *Statistical Methods*. 6. ed. Ames. Iowa University Press. 593p.
- STEEL, R.G.D. e J.H. TORRIE, 1960. *Principles and Procedures of Statistics with Special References to the Biological Sciences*, New York. McGraw Hill Book Co., Inc. 481p.
- STEWAT, E.L.; F.L. PFLEGER, 1977. Development of poinsettia as influenced by endomycorrhizae, fertilizer and root rot pathogens *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani*. *Florist's Review*, 159:37, 79-80.
- TALBOYS, P.W., 1958. Association of tylosis and hyperplasia of the xylem with vascular invasion of the hop by *Verticillium albo-atrum*. *Trans. Er. Mycol. Soc.*, London, 41:249-260.
- TARVETT, I.W., 1938. Effect of mixed inocula on the production of seedling blight of flax. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 28:21 (Abstr.).
- THAYSEN, A.C. e K.R. BUTLIN, 1945. Inhibition of the development of *Fusarium oxysporum cubense* by a growth substance produced by Meredith's Actinomycets. *Nature*, 156-3974:781-782.
- TIGCHELAAR, E.C. e J.B. DICK, 1975. Induced resistance from simultaneous inoculation of tomato with *Fusarium oxysporum* Sacc. and *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth. *Hort. Science*, Michigan, 10(6):623-624.

- TINKER, P.B., 1975. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. In: JENNINGS, D.H. e D.L. LEE, ed. Symbiosis. *Proc. 29th Symp. Soc. Exp. Biol.* Cambridge, Cambridge Univ. Press, p.325-350.
- TOKESHI, H., 1971. Cross-protection in tomato with *Fusarium* and *Verticillium* wilt pathogens. The Ohio State University. 72p. (Ph.D. Thesis).
- TVEITT, M. e R.K.S. WOOD, 1955. The control of *Fusarium* blight in oat seedling with antagonistic species of *Chaetomium*. *Ann. Appl. Biol.*, 43(4):538-552.
- VAN DER PLANK, J.E., 1963. *Plant Disease - Epidemics and Control*. New York, London, Academic Press. 349p.
- VAN DER PLANK, J.E., 1968. *Disease Resistance in Plant*. New York, San Francisco, London. Academic Press. 206p.
- VENCOVSK, R., 1978. Herança quantitativa. In: Melhoria e produção do milho no Brasil. Editor: E. Paterniani. Fundação Cargil. 650p.
- VIÉGAS, A.P., 1939. A murcha do algodoeiro. *Rev. Agricultura*, Piracicaba, 14:449-556.
- WAKSMAN, S.A. e E. BUGIE, 1944. *Chaetomium*, a new antibiotic substance produced by *Chaetomium cochliodes*. *J. of Bacteriology*, 48:527-530.
- WEAYER, R.J., 1948. Some uses of activated carbon in contratoxification of plant growth-regulators. *Bot. Gaz.*, 110:300-312.

- WEINDLING, R., 1941. Experimental consideration of the mold toxins of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 31:991-1003.
- WEINDLING, R. e H.S. FAWCETT, 1936. Experiments in the control of rhizoctonia damping-off of citrus seedlings. *Hilgardia*, 10:1-16.
- WEINDLING, R., H. KATZNELSON e H.P. BEADLE, 1950. Antibiosis in relation to plant diseases. *Ann. Rev. Microbiology*, 4:247-260.
- WILHELM, S., 1951. Is *Verticillium albo-atrum* a soil invader or a soil inhabitant? *Phytopathology*, St. Paul, MN, 41:944-945.
- WILHELM, S., 1955. Longevity of the *Verticillium* wilt fungus in the laboratory and field. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, 45:180-181.
- WILHELM, S., 1955. *Verticillium* wilt of strawberry with special reference to resistance. *Phytopathology*. St. Paul, MN., 45:387-391.
- WILHELM, S., 1975. Source and nature of *Verticillium* wilt resistant in some major crops. In: *Biology and control of soil-borne plant pathogens*. St. Paul, Minnesota. The American Phytopathological Society. p.166-171.
- WILHELM, S., 1973. Principles of biological control of soil-borne plant disease. *Soil Biol. Biochem.*, 5:729-737.
- WILHELM, S.; J.E. SAGEN; H. TRITZ, 1969. Dominance of Sea Island resistance to *Verticillium* wilt in F₁ progenies of upland X Sea Island cotton crosses. Beltwide Cot. Res. Conf. Proc. p.31 (Abstr.).

- WILHELM, S., H.E. THOMAS e D.D. JENSEN, 1948. The effect of temperature on the taxonomic characters of *Verticillium albo-atrum* Rke, et But. *Phytopathology*, St. Paul, MN, 38:919.
- WILSON, E.M., 1958. Rust-TMV cross-protection and necrotizing reaction in bean. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 48:228-231.
- WOOD, R.K.S. e M. TVEITT, 1955. Control of plant diseases by use of antagonistic organisms. *Bot. Rev.*, 21:441-492.
- WOOLHOUSE, H.W., 1975. Membrane structure and transport problems considered in relation to phosphorus and carbon movements and the regulation of endotrophic mycorrhizal associations. In: SANDERS, F.E.; B. MOSSE; P.B. TINKER, eds. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press. p.209-240.
- YARWOOD, C.E., 1956. Cross-protection with two rust fungi. *Phytopathology*. St. Paul, MN., 46:540-544.
- YARWOOD, C.E., 1960. Localized acquired resistance to tobacco mosaic virus. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 50:741-744.
- ZAK, B., 1964. Role of mycorrhizae in root disease. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, 2:377-392.
- ZAKI, A.I.; N.T. KEEN; D.C. ERWIN, 1972. Implication of vergosin and hemigossypol in the resistance of cotton to *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 62:1402-1406.
- ZAMBOLIM, L. e N.C. SCHENCK, 1981. Interactions between a vesicular-arbuscular mycorrhizae and root-infecting fungi on soybean. *Phytopathology*, St. Paul, MN., 71:267.

7. APÊNDICE

Tabela 1 - Valores e significâncias dos quadrados médios e coeficiente de variação da análise da variância da reação de resistência de cultivares de berinjela a *V. albo-atrum*. Piracicaba, SP., 1984.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	0,7112	0,3556	
Tratamentos	13	15,5874	1,1990	17,5752**
Resíduo	26	1,7738	0,0682	
Média Geral:	4,1258			
Coeficiente de variação(%):	6,33			
Transformação:	$\sqrt{\text{índice de sobrevivência}}$			

Tabela 2 - Valores e significâncias do quadrado médio e coeficiente de variação da análise da variância do Experimento II. Reação de populações segregantes de berinjela a *V. albo-atrum*. Piracicaba, SP., 1984.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Blocos	3	0,433692	0,144564	
Populações	11	6,942375	0,631125	3,26*
Erro	31	5,998731	0,193507	
Média		3,27		
Coeficiente de Variação(%):		14,00		
Transformação:		$\sqrt{I.S.}$		
Unidade		I.S. = Índice de sobrevivência		

Tabela 3 - Valores e significâncias do quadrado médio da análise da variância entre e dentro de progênies F10 de berinjela para reação de resistência a *V. albo-atrum*. Piracicaba, SP., 1984.

Fontes de Variação	G.L.	Q.M.	F
Blocos	2	0,3102	
Progênies	12	4,3099	7,07**
Erro	24	0,6091	
Média		6,006	
Coeficiente de Variação(%):		12,99	
Transformação:		$\sqrt{X + 1/2}$	
Unidade:		X = Notas	

**Significativo ao nível de 1% pelo teste F.

Tabela 4 - Valores e significâncias dos quadrados médios da análise da variância do Experimento V - Patogenicidade de isolados de *Verticillium albo-atrum* em berinjela. Piracicaba, SP., 1984.

Fontes de Variação	G.L.	Q.M.	F
Isolados (I)	9	3,09506	30,71**
Resíduo (a)	20	0,10079	
<hr/>			
Parcelas	29		
Cultivares (c)	3	9,14715	1745,94**
Interação (I X C)	27	1,22813	234,42**
Resíduo (b)	60	0,00524	
Total	119		
Média:		3,90	
Coeficiente de Variação(%):	(a)	8,15	(b) 1,86
Transformações:		$\sqrt{I.S.}$	
Unidade:		I.S. = Índice de sobrevivência	

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5 - Valores e significâncias do quadrado médio e coeficiente de variação da análise da variância do Experimento VI - Proteção cruzada de *V. albo-atrum* em berinjela. Piracicaba, SP., 1984.

Fonte de Variação	G.L.	Q.M.	F
Blocos	5	0,2236	
Tratamentos	6	7,1887	13,7058**
Erro	30	0,5245	
Média:		7,9	
Coeficiente de Variação(%):		9,17	
Transformação:		$\sqrt{X + 1/2}$	
Unidade:		X = Notas	

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 6 - Valores e significâncias dos quadrados médios e coeficiente de variação da análise da variância do Experimento VII - Estudos de controle biológico de *Verticillium albo-atrum* em berinjela com *Trichoderma* sp. Piracicaba, SP., 1984.

Fontes de Variação	Ensaio I		Ensaio II		Ensaio III	
	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.
Tratamentos	6	419,9100**	3	238,6985*	2	1172,8810**
Erro	21	60,88	12	48,4667	15	98,9879
Média:		33,52		43,07		57,20
Coeficiente de Variação(%) :		23,28		16,16		17,39
Transformação:	arc sen $\sqrt{X}$		arc sen $\sqrt{X}$		arc sen $\sqrt{X}$	
Unidade:	X = %		X = %		X = %	

* e **Significativo aos níveis de 1% e de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 7 - Valores e significâncias dos quadrados médios e coeficientes de variação da análise da variância do Experimento VIII - Influência de micorrizas vesículo-arbusculares na murcha de *Verticillium* em berinjela. Piracicaba, SP., 1984.

Fontes de Variação	Análise da Doença ^{1/}		Peso Fresco da Parte Aérea		Peso Fresco do Sistema Radicular		Altura da Planta	
	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.
Tratamentos	4	859,6548**	4	34,0690**	4	4,9222**	4	30,4520**
Erro	10	94,1865	10	0,6792	10	0,2832	10	0,4008
Média:		51,72		8,673		4,311		15,197
Coefficiente de Variação(%) :		18,76		9,50		12,34		4,17

^{1/} Análise feita com os dados transformados em $\text{arc sen } \sqrt{\%100}$.

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 8 - Valores e significâncias dos quadrados médios das análises da variância do Experimento IX - Efeitos de reguladores de crescimento na incidência da murcha de *V. albo-atrum* em berinjela. Análises feitas com os dados não transformados, exceto para o caráter doença, cujos dados foram transformados em $\sqrt{\%/100}$.

Fontes de Variação	G.L.	Análise da Doença ¹		Peso Fresco da Parte Aérea		Peso Fresco da Raiz		Altura da Planta	
		Q.M.	F	Q.M.	F	Q.M.	F	Q.M.	F
Blocos	2	48,7677		1,4041		1,1549		13,2175	
Tratamentos	10	1116,5144	8,41**	15,5851	4,53**	6,5668	3,04*	39,6643	13,33**
Erro	20	132,8312		3,4406		2,1628		2,9756	
Média:		36,70		9,19		5,12		20,08	
Coefficiente de Variação(%):		31,40		20,19		28,72		8,59	

* e **Significativo aos níveis de 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.