



Esporulação e crescimento micelial de *Fusarium solani* em diferentes meios de cultura e regimes de luminosidade¹

Sporulation and mycelial growth of Fusarium solani in different culture media and steady bright

Jhonata Lemos da Silva^{2*}, Raimundo Nonato Vieira Teixeira³

Resumo - Visando a caracterização fisiológica de *Fusarium solani* isolado de raízes de mandioca, objetivou-se com este trabalho avaliar a esporulação e o crescimento micelial de *F. solani* em diferentes meios de cultura e regimes de luminosidade. O fungo foi cultivado utilizando cinco meios de cultura (batata dextrose ágar, batata sacarose ágar, mandioca ágar, micophil e ágar-água) sob três regimes de luminosidade (escuro contínuo, fotoperíodo de 12 h e luz contínua) durante o período de incubação de sete dias, a temperatura de 25 °C ± 2 °C. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (5x3), com três repetições. Discos de 5 mm de diâmetro, retirados da borda da colônia cultivada em meio BDA, foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo 20 mL de cada meio. Determinou-se o crescimento micelial por meio da medida do diâmetro das colônias em dois sentidos diametralmente opostos, enquanto a esporulação por meio da quantificação de conídios pelo método da gota. Foram observadas variações significativas na produção de massa micelial e conídios nos diferentes meios de cultura e regimes de luminosidade testados, sendo que BDA e BSA sob regime de luz contínua induziram maior crescimento micelial e produção de conídios. Enquanto que no meio AA sob escuro contínuo ocorreu às menores taxas de esporulação e crescimento micelial.

Palavras-chaves - Avaliação. Fisiologia. *Manihot esculenta*. Podridão radicular.

Abstract - Considering the physiological characterization of *Fusarium solani* isolated from cassava roots, the objective of this study was to evaluate mycelial growth and sporulation of *F. solani* in different culture media and lighting regimes. The fungus was grown using five culture media (potato dextrose agar, potato sucrose agar, cassava, agar-agar, and water micophil) under three light regimes (continuous darkness, a photoperiod of 12 h, and continuous light) during the incubation period of seven day, temperature 25 °C ± 2 °C. The trial was done in completely randomized design with three replications. Discs of 5mm diameter taken from the edge of the colony grown on PDA medium were transferred to the center of Petri dishes containing 20 mL of each medium. Mycelial growth was determined by measuring the diameter of the colonies in two diametrically opposite directions while sporulation by quantifying conidia by drop method. No significant changes in the production of conidia and mycelial mass in different culture media and lighting regimes tested, and BDA and BSA under the regime of continuous light best sporulation and conidial production were observed. While in the midst AA under continuous darkness was the lowest rates of mycelial growth and sporulation.

Key words - Evaluate. *Manihot esculenta*. Physiology. Root rot.

¹ Enviado para publicação em 28/10/2011 e aprovado em 12/02/2012

* Autor para correspondência

² Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia (PPG-FITO), UFLA, Lavras, Minas Gerais, Departamento de Fitopatologia, Campus UFLA, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, jhonleamos1990@gmail.com

³ Discente do Curso de Agronomia da Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Humaitá, Amazonas, Rua 29 de Agosto, 786 Centro, CEP 69800-000, nopvh@hotmail.com

Introdução

A podridão radicular, causada principalmente, por *Fusarium* sp. e *Phytophthora* sp. é um dos fatores limitantes da produção de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em algumas áreas da Região Norte e Nordeste. A doença é particularmente importante nos ecossistemas de Várzea e de Terra Firme dos Estados do Amazonas, Pará, e Amapá (SERRA *et al.*, 2009).

Segundo Lorenzi e Dias (1993), a doença ataca plantas jovens e adultas, causando marcha repentina, severo desfolhamento e podridão das raízes. Diferencia-se por estar normalmente restrita às áreas de solos argilosos e mal drenados causando problemas nos plantios feitos em baixadas e várzeas (MASSOLA; BEBENDO, 2005). Em alguns casos, têm-se observados prejuízos totais, principalmente em plantios conduzidos em áreas sujeitas à constante encharcamento (MUNIZ *et al.*, 2006). Estima-se que, na Região Amazônica as perdas causadas pela podridão radicular chegam a ser superiores a 50 % na Várzea, podendo atingir até 30% na Terra Firme (MATTOS; CARDOSO, 2003).

A dificuldade em conseguir isolados esporulantes, ou mesmo padronizar condições ideais para a esporulação de fungos fitopatogênicos, é um dos principais problemas enfrentados por grupos de pesquisa que visam à identificação de cultivares resistentes (CRUZ *et al.*, 2009).

Para serem desenvolvidos estudos de resistência genética do hospedeiro, há necessidade de se fazer inoculações artificiais em ambientes controlados, o que requer a produção massal de esporos do patógeno (HANADA *et al.*, 2002). Porém, poucas são as informações referentes à esporulação de *F. solani* da mandioca *in vitro*.

Sabe-se que a composição do meio de cultura a temperatura e luminosidade determinam a quantidade e qualidade do crescimento micelial e esporulação dos fitopatógenos (DHINGRA; SINCLAIR 1995). Nozaki *et al.* (2004), afirmam que nem sempre as condições que favorecem o crescimento são as mesmas para esporulação, pois a luz exerce efeito direto sobre o fungo, induzindo ou inibindo a formação de estruturas reprodutivas. Segundo estes autores, alguns meios de cultura são mais favoráveis para a esporulação de fungos que outros, por apresentarem carboidratos complexos que são menos adequados para a produção de hifas vegetativas, porém mais adequados à produção de esporos.

Quando um fungo cresce bem em um substrato e não em outro, acredita-se que metabólitos específicos estejam envolvidos (MENEZES; SILVA-HANLIN, 1997). A esporulação é um processo de diferenciação

mais específico, no qual, estão envolvidas as células reprodutivas afetadas por modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (CASTRO; COELHO, 2000).

Neste trabalho, avaliaram-se os efeitos de meios de cultura e regimes de luminosidade no crescimento micelial e esporulação de conídios de *F. solani*.

Material e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitossanidade da Universidade Federal do Amazonas, localizada no município de Humaitá-AM. Neste experimento, foi avaliada a esporulação de *F. solani* em cinco meios de cultura utilizando três regimes de luminosidade.

O isolado de *F. solani* foi obtido a partir de raízes de mandioca da cultivar Pirarucu, apresentado sintomas característicos da doença, proveniente de lavouras localizadas nas várzeas do município de Humaitá-AM. Pelo método de isolamento direto, transferiram-se estruturas reprodutivas do patógeno para placas de Petri contendo meio de BDA e cloranfenicol 250 ppm. Culturas de *F. solani*, crescidas em placa de Petri contendo meio de BDA, com 14 dias de incubação a 25 °C ± 2 °C no escuro, foram utilizadas para multiplicação de inóculo.

Da cultura pura do isolado, foram retirados discos de 5 mm de diâmetro e depositados no centro de cada placa de Petri com 20 ml de seus respectivos meios testados. Todas as placas foram mantidas em incubadora, a 25 °C ± 2 °C sob seus relativos regimes de luminosidades.

Os meios de cultura testados foram: Batata-dextrose-ágar (BDA) (extrato de 200 g de batata, 20 g de dextrose, 20 g de ágar e 1000 mL água destilada), Micophil-ágar (MA) (10 g de extrato de soja, 10 g de dextrose, 20 g de ágar e 1000 mL de água destilada), Batata-sacarose-ágar (BSA) (extrato de 200 g de batata, 20 g de sacarose, 20 g de ágar e 1000 mL de água destilada), Mandioca-ágar (MAND-A), o meio mandioca-ágar foi preparado, utilizando 200 g de mandioca, 20 g de dextrose, 17g de ágar e 1000 mL de água destilada. Após o preparo, todos os meios foram autoclavados a 120 °C por 20 minutos.

Os três regimes de luminosidade empregados foram: escuro contínuo (EC), luz contínua (LC), fotoperíodo de 12 h (FT).

A avaliação do crescimento micelial consistiu da leitura, a cada 24 h, do diâmetro da colônia em dois sentidos diametralmente opostos, com auxílio de uma régua milimetrada definindo uma média de três leituras. As leituras foram concluídas quando o crescimento da colônia cobriu completamente o diâmetro da placa em um

dos tratamentos, determinando-se a velocidade média de crescimento do fungo.

Após a avaliação do crescimento do fungo, determinou-se o número de conídios, adicionando-se 3 ml de água destilada em cada placa, removendo-se os esporos com uma escova de cerdas macias. Da suspensão obtida, quantificou-se a esporulação de conídios por meio de três leituras em lâmina utilizando o método da gota.

O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x3, com três repetições, onde cada parcela foi representada por uma placa de Petri de 90 mm de diâmetro. Foi utilizado o teste de Tukey ao nível de 5 % para a comparação das médias. Utilizou-se o programa estatístico SISVAR v. 4.0 para análise dos dados (FERREIRA, 2000).

Após a definição das melhores condições para o crescimento e reprodução de *F. solani*, adicionalmente realizou-se o teste de resistência. Para tanto um experimento em delineamento experimental inteiramente casualizado, com nove repetições, foi montado. Os tratamentos foram compostos por mudas das principais cultivares utilizadas pelos agricultores da região, sendo: Amarelinha, Branquinha, Cazuza, Juvelina, Juvenal, Orana, Paxiubão e Pirarucu. A parcela foi composta de um copo plástico com 0,435 dm³.

A inoculação do isolado procedeu-se através do método de Poltronieri *et al.* (2002), onde as mudas de mandioca com as raízes previamente feridas foram imersas em uma suspensão de 10⁶ esporos/ml e logo após, plantadas em copos de plástico de 14 x 9 cm, contendo solo esterilizado. Foram deixadas 9 mudas como testemunha de cada cultivar, as quais sofreram o mesmo processo de fermento em raízes, sendo o inóculo substituído por água destilada esterilizada. A avaliação foi realizada aos 20 e 30 dias após a inoculação, levando-se em consideração a presença ou ausência de sintomas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com nove repetições. Os dados de incidência da doença foram submetidos à análise de variância, de acordo com Dantas *et al.* (2003), e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade utilizando o programa estatístico SISVAR v. 4.0 (FERREIRA, 2000).

Resultados e discussão

O crescimento micelial de *F. solani* ocorreu em todos os meios quando submetidos aos três regimes de luminosidade avaliados, no entanto, segundo os resultados da análise de variância (Tabela 1), houve diferença significativa para os meios de cultura e entre os três regimes de luminosidade avaliados.

Tabela 1 – Resumo da análise de variância para o crescimento micelial, em mm, e esporulação de *F. solani* em diferentes meios de cultura e regimes de luminosidade

F.V.	G.L.	Q.M.	
		Crescimento micelial	Esporulação
Meios (M)	4	4143,90**	9332319,74**
Luminosidade (L)	2	259,31**	1509915,09**
M * L	8	205,39**	414655,31**
Resíduo	30	18,16	34259,44
Total	44		
C.V. (%)		9,35	10,24

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

Em relação ao crescimento micelial do fungo foi observado que o mesmo aproveitou de maneira mais eficiente o meio BDA, pois este proporcionou maior velocidade de crescimento micelial diferindo estatisticamente dos outros meios nos regimes de luz contínua e fotoperíodo de 12h (Tabela 2).

Em regime escuro contínuo a maior média ocorreu no meio de cultura BSA seguida do meio BDA não sendo observadas diferenças estatísticas entre estes dois tratamentos.

O meio BSA promoveu um bom desempenho na taxa de crescimento micelial, destacando-se dos meios Mand-A, MA e AA, que proporcionaram, em todos os regimes de luminosidade as menores taxas de crescimento, respectivamente. Os valores relativamente altos para velocidade média de crescimento do fungo nos meios BDA e BSA demonstraram uma adequação do substrato às exigências fisiológicas do fungo.

Considerando a média dos resultados nos regimes de luminosidade observou-se maior crescimento micelial, quando o fungo foi cultivado em regime de luz contínua seguido de fotoperíodo de 12h e escuro contínuo. Portanto, a ausência de luz inibiu o desenvolvimento micelial de *F. solani* em quase todos os meios de cultura, enquanto que a luz contínua favoreceu o crescimento micelial do fungo.

A ausência de luz para indução da esporulação já foi relatada para diversos fungos fitopatogênicos como, *Alternaria solani* (LUKENS, 1963) e *Mycosphaerella fijiensis* (HANADA *et al.*, 2002). Nestes casos, a luz age como foto-inibidor do crescimento micelial.

Os resultados da esporulação mostraram uma diferenciação de comportamento do fungo, de conformidade com as condições de luminosidade e nutricionais a que foi submetido. Assim, a maior produção

Tabela 2 - Crescimento micelial, em mm, de *F. solani* em diferentes meios de cultura sob três regimes de luminosidade: escuro contínuo (EC); fotoperíodo 12 h (FP); luz contínua (LC)

Regime de luminosidade ¹	Meios de cultura ²				
	AA	BDA	BSA	MAND-A	MA
LC	13,00aE	90,00aA	62,66aB	50,83aC	35,00aD
EC	16,66aC	48,50cA	59,16abA	41,50bB	44,00bB
FT	15,83aD	67,83bA	53,50bB	36,50bC	38,66abC
C.V. (%) = 9,35%					

¹Médias de três repetições por tratamento. Médias seguidas das mesmas letras minúsculas (colunas) e maiúsculas (linhas) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ²AA = Ágar-água; BDA = Batata-dextrose-água; BSA = Batata-sacarose-água; MAND-A = Mandioca ágar; MA = Micophil ágar.

de conídios foi constatada com relação à condição de LC, quando cultivado no meio de BDA. Também em FT o meio BDA apresentou médias superiores, já em regime EC o meio BSA proporcionou maior taxa de esporulação não diferindo estatisticamente do meio BDA.

Os meios BDA e BSA são aqueles que apresentam maior riqueza nutricional e maior quantidade de carboidratos complexos. Estas características são citadas por diversos autores como capazes de induzir a reprodução de muitos fungos mitospóricos (LUKENS, 1963; STRANDBERG, 1987).

Os meios MA e Mand-a apresentaram uma esporulação intermediária nos três regimes de luminosidade testados, mostrando-se estatisticamente semelhantes. Já o meio AA não estimulou a esporulação de *F. solani* nos regimes de luminosidade testados. Por outro lado, os meios mais ricos propiciaram maior esporulação como o BDA e o BSA, contrapondo-se a Dhingra e Sinclair (1995), que para estimular a esporulação de fungos recomendam meios de cultura mais pobres.

A inclusão de material vegetal no meio de cultura é uma técnica usada para estimular a produção de esporos para alguns fungos (NOZAKI *et al.*, 2004). Satyanarayana e Sadasiva (1986) também recomendam que meios preparados a partir de partes de plantas suscetíveis podem aumentar as chances de esporulação, porém, no presente trabalho o substrato preparado a partir da inclusão de raízes de mandioca (Mand-A) não estimulou o crescimento micelial e a esporulação satisfatória de *F. solani*.

A luminosidade foi um fator fundamental na esporulação de *F. solani* uma vez que no regime LC foram observadas as maiores médias diferindo estatisticamente de FT e EC (Tabela 3). Estes resultados contrapõem-se a Bolkan *et al.* (1982), que observaram menores taxas de crescimento micelial de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, na presença de luz contínua e melhor

esporulação no escuro contínuo a 27 °C ± 1 °C. Resultados opostos foram obtidos por Devi e Singh (1994), os quais observaram que *F. moniliforme* esporulou mais em luz contínua.

Sabe-se que a luminosidade pode exercer efeito indutor ou inibidor sobre a formação de estruturas reprodutivas. Trione e Leach (1969) relataram que, para fungos cuja esporulação é induzida pela luz, este agente físico age diretamente na ativação de enzimas-chave envolvidas na esporogênese. Os mesmos autores afirmam ainda que a quantidade e a qualidade da luz necessária para induzir a formação de estruturas reprodutivas variam de acordo com a espécie fúngica. Com fotoperíodo de 12h *F. solani* apresentou as menores taxas de esporulação nos meios de AA, Mand-A e MA, respectivamente. Segundo Nozaki *et al.* (2004), nem sempre as condições que favorecem o crescimento do fungo são as mesmas para esporulação. A necessidade de luz para o crescimento e esporulação de fungos é muito variável, até mesmo entre isolados da mesma espécie (MASANGKAY, 2000 citado por CARNAÚBA *et al.*, 2007). Alguns esporulam melhor na presença de luz contínua ou em escuro contínuo (COOPERMAN; JENKINS, 1986).

Todas as cultivares testadas apresentaram suscetibilidade ao fungo (Tabela 4). Os sintomas observados foram murcha da parte aérea e podridão das raízes, que culminava com a morte das plantas até 30 dias após o plantio.

Este alto índice de incidência da podridão radicular em mudas de mandioca havia sido relatado, em condições casa-de-vegetação, por Poltronieri *et al.* (2002), utilizando a cultivar Olho de Boto.

Apesar da suscetibilidade das cultivares estudadas, identificar fontes de resistência representa uma possibilidade de utilização da resistência genética como uma ferramenta importante e componente de um programa de manejo (CAVALCANTI *et al.*, 2002).

Tabela 3 - Produção de conídios ($\times 10^3$ conídios.mL⁻¹) de *F. solani* em meios de cultura sob três regimes de luminosidade: luz contínua (LC), escuro contínuo (EC) e fotoperíodo 12 h (FP)

Meios de cultura ¹	Regimes de luminosidade ²					
	LC		FT		EC	
	A	B	A	B	A	B
AA	0,53	6,27aD	0,48	6,17 Ad	0,42	6,04 aC
BDA	4,13	8,32aA	3,09	8,03 Ba	2,19	7,69 cA
BSA	2,56	7,84aB	2,50	7,82 aB	2,20	7,69 aA
MAND-A	1,62	7,39aC	1,39	7,23 abC	1,20	7,09 cB
MA	1,75	7,46aC	1,55	7,34 Ac	1,41	7,25 aB

C.V. = 10, 24%

1 - AA (Ágar-água); BDA (Batata-dextrose-ágar); BSA (Batata-sacarose- Ágar); MAND-A (Mandioca Ágar); MA (Micophil ágar). 2 - A coluna [A] refere-se a dados originais de produção de conídios de *F. solani*/mL $\times 10^3$. A coluna [B] refere-se a transformados para $\ln(x+1)$, onde x é a esporulação de *F. solani*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4 – Incidência (%) da podridão radicular em cultivares de mandioca aos 20 e 30 dias após a inoculação

Cultivar	Incidência (%)	
	20 dias	30 dias
Juvenal	100d	100d
Paxiubão	100d	100d
Branquinha	90d	100d
Orana	90d	100d
Cazuza	80c	100d
Pirarucu	80c	90c
Amarelinha	70b	80b
Juvelina	60b	80b
Testemunha	0a	0a
DMS	17,94	12,56

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Conclusões

A melhor condição de incubação visando à produção de conídios de *F. solani* se dá pela associação do regime de luz contínua com os meios de cultura BDA e BSA.

Todas as cultivares de mandioca inoculadas mostraram-se suscetíveis ao fungo *F. solani*.

Agradecimentos

À Professora Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento, por possibilitar a realização dos ensaios *in vitro* no Laboratório de Fitossanidade da Universidade Federal do Amazonas. Aos produtores rurais Sr. Cláudio Vieira da Silva pelo fornecimento de parte do material de plantio e Sr. Germano Souza Costa pelo suporte estrutural disponibilizado para os ensaios em ambiente protegido.

Literatura científica citada

- BOLKAN, H. A. *et al.* Influence of carbon source, light, water potencial and temperatura on growth and sporulation of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. **Revista de Microbiologia**, Brasília, v.13, n.3, p.264- 271, 1982.
- CARNAÚBA, J. P. *et al.* Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Scytalidium lignicola*. **Summa Phytopathologica**, v.33, p.199-200, 2007.
- CASTRO, N. R.; COELHO, R. S. B. Caracterização fisiológica de isolados de *Cercospora cruenta* em diferentes meios de cultura. **Summa Phytopathologica**, v.26, p. 466-471, 2000.
- CAVALCANTI, L. S.; COELHO, R. S. B.; PEREZ, J. O. Reação de cultivares de batata-doce à podridão-do-pé, em condições de campo. **Ciência Rural**. v. 32, p. 699-701, 2002.
- COOPERMAN, C. J.; JENKINS, S. F. Conditions influencing growth sporulation of *Cercospora asparagi* blight development in Asparagus. **Phytopathology**, v. 76, p. 617-622, 1986.
- CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M.; MACIEL, J. L. N. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. **Ciência Rural**, v.39, p.1562-1564, 2009.

- DANTAS, S. A. F. *et al.* Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**. v.28, p.528-533, 2003.
- DEVI, R. K. T.; SINGH, N. I. Effect of temperature and light on growth and sporulation of *Fusarium* rice sheath rot. **International Rice Research Notes**, Manila, v.19, n.3, p.28, 1994.
- DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic Plant Pathology Methods**. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida. 1995.
- FERREIRA, D. F. Análises Estatísticas por meio do Sisvar para Windows 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 255- 258.
- HANADA, R. E.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R. Esporulação de *Mycosphaerella fijiensis* em diferentes meios de cultura. **Fitopatologia Brasileira**. n 27, p. 170-173. 2002.
- LORENZI, J. O.; DIAS, C. A. C. **Cultura da mandioca**. Campinas, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral - CATI, 1993. 41p. (Boletim Técnico, n.211).
- LUKENS, R. J. Photo-inhibition of sporulation in *Alternaria solani*. **American Journal of Botany**, New York, v.50, n.7, p.721-724, 1963.
- MASSOLA, N. S.; BEBENDO, I. P. Doenças da mandioca. In KIMATI, H. *et al.* **Manual de fitopatologia**. São Paulo, 2005. 663p.
- MATTOS, P. L. P.; CARDOSO, E. M. R. **Mandioca e Fruticultura Sistemas de Produção**. EMBRAPA. Versão eletrônica Jan/2003. Disponível em http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_para/doencas.htm#topo. Acesso em 1 de Julho de 2009.
- MENEZES, M.; SILVA-HANLIN, D. M. W. **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, 1997. 106p.
- MUNIZ, M. F. S. *et al.* Caracterização de isolados de *Phytophthora drechsleri*, agente causal da podridão mole de raízes de mandioca. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 31, p. 195-198, 2006.
- NOZAKI, M. H.; CAMARGO, M. E.; BARRETO, M. Caracterização de *Diaporthe citri* em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. **Fitopatologia Brasileira**, v.29 p. 429-432, 2004.
- POLTRONIERI, L. S. *et al.* Incidência de *Fusarium solani* em mandioca no estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 544, 2002.
- SATYANARAYANA, K.; SADASIVA R. C. A new and cheap medium supporting the sporulation of *Pyricularia oryzae*. **Cav. Indian Journal Mycological Plant Pathology**. v. 16. p.329, 1986.
- SERRA, I. M. R. S. *et al.* *Scytalidium lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao patógeno. **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 327-328, 2009.
- STRANDBERG, J. O. Isolation, storage, and inoculum production methods for *Alternaria dauci*. **Phytopathology**, St. Paul, v.77, n.7, p.1008- 1012, 1987.
- TRIONE, E. J.; LEACH, C. M. Light-induced sporulation and sporogenic substances in fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v.59, n.8, p.1077-1083, 1969.