

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E COMPARAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS NA PRESERVAÇÃO, EM LABORATÓRIO, DE ISOLADOS DO GÊNERO *VERTICILLIUM*

D. Finatti*; C.C. Aparecido

Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1.252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: dani_finatti@yahoo.com.br

RESUMO

Visando realizar a comparação de diferentes métodos de preservação na manutenção em laboratório de isolados de *Verticillium* spp. e a sua caracterização morfofisiológica foi realizado o presente estudo. Para os testes de viabilidade e culturas de *V. dahliae* isoladas de plantas de berinjela, tomate, amendoim, quiabo e jiló e *V. albo-atrum* isolado de plantas de batata, com amostras preservadas pelos métodos de repicagens periódicas, água destilada, liofilização e óleo mineral, foram transferidas para meio de cultura BDA e AA. Ocorrendo o crescimento da cultura foram realizadas inoculações experimentais em solo com o hospedeiro original para constatar a manutenção da patogenicidade. Para a caracterização morfofisiológica os isolados foram cultivados em meio Czapeck e inoculados em diferentes hospedeiros. Os resultados obtidos permitem concluir que, para o gênero *Verticillium*, o método de Castellani (água destilada) seja o mais eficiente, pois, além das plantas inoculadas apresentarem sintomas mais rapidamente também, os isolados demonstraram maior agressividade. Em Czapeck, os isolados IB02/01 e IB247 foram os que apresentaram maior quantidade de microesclerócios, pois todo o reverso da placa apresentou coloração negra. Os isolados IB669, IB829 e IB752 desenvolveram micélio branco e delicado, com formação de pequena quantidade de microesclerócios somente na região central da placa. IB7/75 apresentou micélio muito delicado e sem a presença de microesclerócios. As inoculações cruzadas possibilitaram constatar que as plantas de quiabo foram mais suscetíveis a isolados obtidos de diferentes hospedeiros, enquanto que as plantas de amendoim, tomate e berinjela foram as menos suscetíveis, infectadas somente pelo isolado original. O isolado IB 7/75 - *V. albo-atrum* - foi capaz de infecção e murcha em plantas de batata, hospedeiro original, mas também nas plantas de pepino, utilizadas para a diferenciação das espécies *V. dahliae* e *V. albo-atrum*, comprovando a identificação desta cultura.

PALAVRAS-CHAVE: Preservação em laboratório, fungos, viabilidade, patogenicidade e inoculações cruzadas.

ABSTRACT

PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF *VERTICILLIUM* SPP. ISOLATES AND COMPARISON OF DIFFERENT LABORATORY PRESERVATION METHODS. The present study was conducted to compare different laboratory preservation methods and to realize physiological characterization of *Verticillium* sp. For the viability tests, samples of *V. dahliae* from eggplants, tomato, peanuts, okra plants and *Solanum gilo*, as well as *V. albo-atrum* from potato plants preserved by periodic transfers, Castellani's method or distilled water, liophylization and mineral oil were transferred to culture media PDA and AA. Only 4 isolates had samples preserved by liophylization, and only 1 isolate had samples in mineral oil (OM). Upon culture growth, experimental inoculations in soil were conducted for the tests of pathogenicity in the original host. For the morphologic characterization, the cultures were cultured in Czapeck culture medium and for physiological characterization the cultures were inoculated in the various hosts from which they had been isolated. The results showed that Castellani's method is the most efficient to preserve this fungus genus, because the plants inoculated with samples preserved by this method presented symptoms more quickly and the pathogen was more aggressive. In Czapeck, IB02/01 and IB247 presented the greatest amount of microslerotia, as the entire back of the plate presented black coloration. The cultures IB669, IB829 and IB752 had white and delicate mycelium with a little formation of microsclerotia. Isolate IB7/75 presented a mycelium without microsclerotia. The

*Bolsista CNPq/PIBIC/IB.

crossed inoculations showed that okra plants were more susceptible, while the peanut, tomato and eggplant were less susceptible, only infected by the original isolate. Isolate IB7/75 (*V. albo-atrum*), was able to cause infection in potato plants (original host) and also infected cucumber plants, used for the differentiation of species *V. dahliae* and *V. albo-atrum*, proving the correct identification of this culture.

KEY WORDS: Laboratory preservation, fungi, viability, pathogenicity and cross inoculations.

A Micoteca “Mário Barreto Figueiredo” do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal do Instituto Biológico, São Paulo, foi iniciada em 1961 (FIGUEIREDO, 1967, 1971; FIGUEIREDO; PIMENTEL, 1975, 1977, 1989). Apesar da existência de pequenas coleções, até então, os técnicos que desenvolviam trabalhos com fungos fitopatogênicos tinham, por hábito, o envio de culturas consideradas de interesse para serem mantidas em coleções no exterior, não se preocupando em mantê-las na própria Instituição ou em coleções no País. Assim, quando se desejava trabalhar com pesquisa em que havia necessidade de culturas puras de um determinado patógeno, era necessário recorrer a coleções do exterior ou realizar o isolamento a partir de materiais doentes coletados ou recebidos para análise. A existência de uma coleção sana essas dificuldades e permite a cooperação entre inúmeros fitopatologistas no atendimento a solicitações para trabalhos de pesquisa e ensino.

Para a manutenção das culturas em laboratório existe ampla variedade de métodos recomendados e descritos na literatura nacional e internacional, não havendo, porém, um único que seja eficiente e recomendado para os diferentes grupos de fungos, porém será mais adequado aquele que mantiver, mesmo após longos períodos, as características originais da cultura, ou seja, viabilidade, esporulação e patogenicidade (CASTELLANI, 1939; BOESEWINKEL, 1976; FIGUEIREDO *et al.*, 1980; PIMENTEL *et al.*, 1980, 1981; PIMENTEL; FIGUEIREDO, 1989; PITTOMBO, 1989; COSTA; FERREIRA, 1991; LUCON *et al.*, 1993; AZEVEDO, 1997; APARECIDO *et al.*, 2001). Na Micoteca “Mário Barreto Figueiredo” existem, atualmente, cerca de 650 culturas, principalmente Deuteromycota (fungos mitospóricos) e Chromista (Oomycota) e, eventualmente, Ascomycota, de várias procedências do Brasil, as quais são preservadas, principalmente, por: repicagens periódicas, óleo mineral, método de Castellani ou água destilada e liofilização.

Com a expansão da agricultura e o cultivo de grandes áreas, os problemas causados por fitopatógenos também têm aumentado. Inúmeros patógenos podem causar prejuízos à agricultura, diminuindo a produção, bem como elevando os gastos com produtos químicos para a prevenção e controle das doenças. As coleções de culturas possibilitam a realização de pesquisas, tanto básicas como aplicadas, a qualquer tempo, de forma que dados importantes sobre fitopatógenos de interesse possam ser obti-

dos e aplicados na melhoria dos métodos de manejo, na seleção genética de plantas resistentes e, conseqüentemente, no controle de doenças.

Dentre os diversos grupos fúngicos que podem causar problemas encontra-se o gênero *Verticillium*, que agrupa várias espécies. Sob o ponto de vista fitopatogênico, apresentam importância *V. dahliae*, *V. albo-atrum* e *V. tricorpus*. Esses patógenos infectam os vasos condutores da planta hospedeira, resultando em murcha, escurecimento de vasos, amarelamento, subdesenvolvimento e, muitas vezes, morte repentina da planta (BERGAMIN FILHO *et al.*, 1995). Esses patógenos de solo apresentam ampla distribuição geográfica, sendo capazes de parasitar culturas economicamente importantes como plantas ornamentais, olerícolas e frutíferas (BHAT; SUBBARAO, 1999), podendo ser fator limitante à produção. Penetram na planta diretamente pelas raízes, através de ferimentos ou, ainda, através dos pelos absorventes. Segundo vários autores, o círculo de plantas hospedeiras tem aumento e, no que se refere à patogenicidade, existe variação do patógeno frente aos diferentes hospedeiros (BHAT; SUBBARAO, 1999; COUTINHO *et al.*, 2001; PASSADOR *et al.*, 2001; PASSADOR *et al.*, 2002). A diferenciação das espécies citadas pode ser realizada por observações microscópicas para a constatação de microescleródios (estruturas de coloração negra), formados somente por *V. dahliae* e de inoculações experimentais em plantas indicadoras, como pepino e alfafa, que apresentam sintomas somente ao serem infectadas por *V. albo-atrum* (APARECIDO *et al.*, 2002).

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivos analisar, comparativamente, a viabilidade e patogenicidade de culturas fúngicas pertencentes ao gênero *Verticillium*, preservadas pelos métodos utilizados na Micoteca “Mário Barreto Figueiredo”; avaliar as características morfológicas dos isolados cultivados em meio de cultura sintético (Czapeck) e realizar inoculações em diferentes hospedeiros a partir dos quais as culturas foram originalmente isoladas, verificando se há especificidade do isolado em relação ao hospedeiro.

Para verificar a viabilidade, amostras dos isolados da Tabela 1, preservadas pelos diferentes métodos, foram, assepticamente, transferidas para 2 placas: uma contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e outra, meio ágar-ágar (AA). Para avaliação foram observados o crescimento e as características morfológicas (coloração, presença ou não de

microesclerócios, conidióforos e conídios) das amostras preservadas por cada método.

Com as amostras que apresentaram crescimento e esporulação foram realizadas as inoculações nos hospedeiros originais para verificar a preservação da patogenicidade. Uma placa de cada amostra foi, separadamente, homogeneizada em liquidificador com 200 mL de água destilada, sendo a concentração de inóculo ajustada para 10^5 conídios.mL⁻¹. Ao solo de cada vaso contendo uma planta do hospedeiro original, foram incorporados 20 mL da suspensão obtida e o solo foi revolvido para que as raízes das plantas fossem brandamente feridas. Ao tratamento controle foram incorporados 20mL de uma suspensão prepara com meio BDA. A avaliação foi realizada por meio de comparações, levando-se em consideração o aparecimento ou não de sintomas, o tempo passado desde as inoculações até o início do aparecimento dos sintomas e a agressividade da infecção. Para cada tratamento havia quatro repetições e todas as plantas foram mantidas em casa de vegetação à temperatura ambiente. Sendo observados os sintomas característicos da doença, foi realizado reisolamento do patógeno. Para a caracterização morfológica foram utilizadas as culturas viáveis, as quais foram transferidas para placa de Petri contendo meio de cultura sintético Czapeck. (NaNO₃, 3g; K₂HPO₄.7H₂O, 0,5g; KCl, 0,5g; FeSO₄.7H₂O, 0,01g; sacarose, 30g; peptona, 1g; ágar, 17g; água destilada, 1L). As avaliações foram realizadas após 10 dias de incubação anotando-se o tipo e coloração do micélio, sendo observado também, o reverso da placa para constatar a presença ou não de microesclerócios.

Os isolados selecionados pelo teste de patogenicidade foram inoculados em quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench), berinjela (*Solanum melongena* L.), pepino (*Cucumis sativus*), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), batata (*Solanum tuberosum*) e jiló (*Solanum gilo*). Duas placas de cada cultura foram utilizadas e preparadas conforme

descrito no Item 2 e, para as avaliações, foi observado o aparecimento de sintomas, registrando-se, também, o número de dias após as inoculações (dai) em que os sintomas surgiram, sendo observados surgiram, realizando novamente o isolamento dos patógenos.

Todas as plantas inoculadas com amostras mantidas pelo método de Castellani (água destilada) apresentaram amarelecimento e flacidez das folhas, além de acentuada necrose da margem de um dos lados do limbo foliar e subdesenvolvimento (Fig. 1).

As amostras mantidas por repicagens periódicas resultaram somente em amarelecimento e murcha das folhas mais velhas. A amostra da cultura IB09/01 mantida em óleo mineral induziu sintomas característicos dois dias antes do que as amostras preservadas pelos demais métodos, porém não houve evolução nos sintomas, visto que as plantas se mantiveram murchas, mas sem acentuada necrose das folhas e prejuízo do desenvolvimento. Na Tabela 2 estão registrados os resultados obtidos.



Fig. 1 - Inoculação de *Verticillium dahliae* (IB829) em plantas de berinjela. A → Amostra mantida pelo método de Castellani. B → Tratamento controle.

Tabela 1 – Culturas pertencentes ao gênero *Verticillium* utilizadas para a realização dos experimentos e data de preservação.

Cultura	Espécie	Hospedeiro	Tempo de Preservação*			
			RP	CA	LI	OM
IB247	<i>V. dahliae</i>	Berinjela	21a	6a	21a	-
IB668	<i>V. dahliae</i>	Tomateiro	40a	3a	21a	-
IB669	<i>V. dahliae</i>	Berinjela	40a	5a	21a	-
IB829	<i>V. dahliae</i>	Berinjela	39a	12a	21a	-
IB752	<i>V. dahliae</i>	Amendoim var. Tatu	39a	12a	-	-
IB7/75	<i>V. albo-atrum</i>	Batata	32a	32a	-	-
IB2/2001	<i>V. dahliae</i>	Quiabo	6a	6a	-	-
IB9/2001	<i>V. dahliae</i>	Jiló	6a	6a	-	25/8/2004

*a = anos. RP = Repicagens periódicas; CA = Método de Castellani ou Água Destilada; LI = Liofilização; OM = Óleo Mineral; (-) sem amostras preservadas pelo método.

Embora metade das culturas testadas apresentasse amostras preservadas por liofilização, nenhuma apresentou-se viável. Muito provavelmente isto se deve ao fato das espécies pertencentes ao gênero *Verticillium* apresentarem esporos extremamente delicados, incapazes de resistirem ao processo de liofilização. Segundo PITTOMBO (1989) e APARECIDO *et al.* (2001), para resistir ao processo de liofilização, o fungo deve possuir esporos de paredes resistentes e espessas. Os resultados obtidos permitem supor que o método de Castellani seja o método mais eficiente para o gênero em estudo, pois as amostras preservadas dessa maneira, além de induzir os sintomas mais rapidamente, também mostraram-se mais agressivas. Fato também observado por RUSSOMANNO *et al.* (1995) para culturas do mesmo gênero. Conforme constatado por APARECIDO *et al.* (2001) e FINATTI *et al.* (2006), a preservação em água destilada tem se mostrado eficaz também com outros gêneros de fungos. FIGUEIREDO *et al.* (2006) demonstraram também que, além do método de Castellani, a preservação por óleo mineral é eficaz, sendo capaz de manter capacidade de

esporulação e patogenicidade, porém neste estudo este fato não pode ser evidenciado por haver somente uma cultura com amostra assim preservada.



Fig. 2 – *Verticillium dahliae* (IB247) isolado de berinjela e inoculado em quiabo. A → Tratamento controle. B → Planta inoculada.

Tabela 2 – Resultados obtidos nos testes de viabilidade e patogenicidade de isolados do gênero *Verticillium* spp. preservados por diferentes métodos.

Isolado	Hospedeiro original	Sintomas (dai)*			
		Método de preservação			
		CA	RP	OM	LI
IB 247	Berinjela	13 dai	20 daí	NT	-
IB 668	Tomate	-	10 daí	NT	-
IB 669	Berinjela	13 dai	20 daí	NT	-
IB 752	Amendoim	13 dai	16 daí	NT	NT
IB 829	Berinjela	10 dai	17 daí	NT	-
IB 7/75	Batata	7 dai	8 daí	NT	NT
IB 02/01	Quiabo	7 dai	9 daí	NT	NT
IB 09/01	Jiló	10 dai	10 daí	8 dai	NT

CA - método de Castellani (água destilada), RP - repicagens periódicas, OM - óleo mineral, LI - liofilização; NT - nenhuma amostra preservada pelo método; *dai - dias após a inoculação; (-) amostra não viável.

Tabela 3 – Resultados observados das inoculações cruzadas.

Hospedeiro	Nº da cultura							
	IB247	IB668	IB669	IB752	IB829	IB7/75	IB02/01	IB09/01
Berinjela	+	-	+	-	+	-	-	-
Amendoim	-	-	-	+	-	-	-	-
Batata	-	-	-	-	-	+	-	-
Quiabo	+	-	+	-	+	-	+	+
Jiló	-	-	-	-	+	-	-	+
Pepino	-	-	-	-	-	+	-	-

(+) observação de sintomas; (-) sem aparecimento de sintomas.

Em meio Czapeck, IB02/01 e IB247 foram os isolados que apresentaram maior quantidade de microesclerócios, pois todo o reverso da placa apresentou coloração negra, o que demonstra a formação das referidas estruturas. Com relação aos isolados IB669, IB829 e IB752 pôde ser observado micélio branco e delicado, com formação de pequena quantidade de microesclerócios somente na região central da placa, onde foi evidenciada a coloração negra. Provavelmente, os constituintes do meio Czapeck, ao serem utilizados pelos isolados para seu desenvolvimento, modificaram a fisiologia dos micro-organismos, o que foi refletido nas características morfológicas das culturas, induzindo à formação de grande quantidade de microesclerócios em algumas culturas. Segundo COCHRANE (1958), fatores nutricionais como microelementos essenciais, fontes de carbono e de nitrogênio podem resultar em modificações fisiológicas dos fungos, induzindo ou não a produção de estruturas e/ou pigmentos, os quais podem facilitar o reconhecimento de variações fisiológicas.

Quanto às inoculações cruzadas, pôde-se verificar que as plantas de quiabo demonstraram menor especificidade, pois foram infectadas por culturas do gênero *Verticillium* isoladas de diferentes hospedeiros, principalmente aquelas provenientes de plantas de berinjela, visto que foram observados os sintomas característicos de subdesenvolvimento, murcha e morte das plantas entre 10 e 20 dias após as inoculações. A Figura 2 ilustra o resultado observado.

Levando-se em consideração o hospedeiro, as plantas de amendoim e batata mostraram maior especificidade aos isolados, uma vez que foram infectadas somente pela cultura isolada da mesma planta hospedeira. Com relação às plantas de berinjela, estas foram infectadas somente por isolados de berinjela (IB247, IB669 e IB829). Porém, estes mesmos isolados foram capazes de infectar, também, plantas de quiabo (IB247 e IB669) e jiló (IB829). Dentre estes isolados, IB829 foi o que demonstrou ser menos específico, já que pôde infectar maior número de hospedeiros, dentre os inoculados, enquanto que IB668, IB752 e IB02/01 mostraram-se os mais específicos, infectando somente os hospedeiros originais, ou seja, plantas de tomate, amendoim e quiabo, respectivamente. Todas as culturas foram inoculadas em pepino, porém somente IB7/75, identificado como *V. albo-atrum*, foi capaz de induzir sintomas de murcha, conforme já era esperado. Isto porque o pepino é uma planta diferenciadora, infectada somente por *V. albo-atrum*, o que comprovou a identificação taxonômica do referido isolado e possibilitou classificar os demais isolados como *V. dahliae*. Na Tabela 3 estão registrados os resultados obtidos. Deve-se informar que a cultura IB668 isolada de tomateiro foi patogênica somente ao seu hospedeiro original.

BHAT; SUBBARAO (1999) constataram especificidade ao hospedeiro de ambas as espécies estudadas: no que se refere a *V. dahliae*, a especificidade foi reconhecida em isolados obtidos de berinjela, tomate, pimenta e crucíferas. No presente estudo a especificidade também foi reconhecida em isolados obtidos a partir de plantas de tomate (IB668), amendoim (IB752) e quiabo (IB02/01). Com relação a *V. albo-atrum*, BHAT; SUBBARAO (1999) constataram patogenicidade somente quando os isolados foram inoculados sobre o hospedeiro original, ocorrendo o mesmo no presente estudo.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica concedida.

REFERÊNCIAS

- APARECIDO, C.C.; EGYDIO, A.P.M.; FIGUEIREDO, M.B. Avaliação de três diferentes métodos utilizados na Micoteca do Instituto Biológico de São Paulo para preservação de fungos fitopatogênicos. *Summa Phytopathologica*, v.27, p.421-424, 2001.
- APARECIDO, C.C.; COUTINHO, L.N.; FIGUEIREDO, M.B. Diferenciação de *Verticillium dahliae* e *V. albo-atrum*. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.69 p.67, 2002. Suplemento. Trabalho apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 15., 2002, São Paulo. Resumo 085.
- AZEVEDO, J.L. Variabilidade em fungos fitopatogênicos. *Summa Phytopathologica*, v.2, p. 3-15, 1997.
- BALDASSERINI, G.; MUNGELLUZZI, C. L'empiego dell' acqua distillata per il mantenimento in coltura dei dermatofite e dei lievith. *Mycopathology et Mycology Applied*, v.27, p.110-112, 1965.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. São Paulo: Agrônômica Ceres, 1995.
- BHAT, R.G.; SUBBARAO, K.V. Host range specificity in *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, v.89, p.1218-1225, 1999.
- BOESEWINKEL, H.J. Storage of fungal cultures in water. *Transactions of the British Mycological Society*, v.66, p.183-197, 1976.
- BUEL, C.B.; WESTON, W.H. Application of Mineral oil conservation method to maintaining collection of fungus cultures. *American Journal of Botany*, v.34, p.556-561, 1947.

- CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.24, p.270-276, 1939.
- COCHRANE, V.W. *Physiology of fungi*. New York: J. Wiley, 1958. 542p.
- COSTA, C.P.; FERREIRA, M.C. Preservação de Microrganismos – Revisão. *Revista de microbiologia*, v.22, p.263-268, 1991.
- COUTINHO, L.N.; APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, M.B. *Craspedia* sp. – novo hospedeiro de *Verticillium dahliae*. *Arquivos Instituto Biológico*, São Paulo, v.68, p.53, 2001. Suplemento Trabalho apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 14., 2001, São Paulo. Resumo 054.
- FENNEL, D. Conservation of fungus cultures. *Botanical Review*, v.26, p.79-141, 1960.
- FIGUEIREDO, M.B. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para a conservação de patógenos em plantas. *O Biológico*, São Paulo, v.33, p.9-13, 1967.
- FIGUEIREDO, M.B. Resenha dos dados obtidos sobre o método de preservação de fungos em água destilada. *Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia*, v.4, p.89-71, 1971.
- FIGUEIREDO, M.B.; PIMENTEL P.V.C. Métodos utilizados para conservação de fungos na Micoteca da Seção de Micologia Fitopatológica do Instituto Biológico. *Summa Phytopatologica*, v.1, p.299-302, 1975.
- FIGUEIREDO, M.B.; PIMENTEL P.V.C. Primeiro catálogo da Micoteca da Seção de Micologia Fitopatológica, Instituto Biológico de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.44, n.4, p.247-256, 1977.
- FIGUEIREDO, M.B.; PIMENTEL, P.V.C.; PITTA, G.B.P. Preservação da patogenicidade de alguns fungos conservados em água destilada. *O Biológico*, São Paulo, v.46, p.279-308, 1980.
- FIGUEIREDO, M.B.; PIMENTEL, C.P.V. Métodos de Preservação de fungos em cultura. *O Biológico*, São Paulo, v.55, n.1/2, p.27-33, 1989.
- FIGUEIREDO, M.B.; FINATTI, D.; APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, D.S.Y.; RIBEIRO, G.A. Manutenção das características originais de fungos fitopatogênicos preservados por diferentes métodos. *Fitopatologia Brasileira*, v.31, p.S125, 2006. Trabalho apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 38., 2006, Salvador, BA. Resumo.
- FINATTI, D.; APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, M.B.; FIGUEIREDO, D.S.Y.; LESSIN, R.C. Viabilidade e patogenicidade de duas espécies de *Fusarium* mantidas em laboratório por diferentes métodos. *Fitopatologia Brasileira*, v.31, p.S125, 2006. Trabalho apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 38., 2006, Salvador, BA. Resumo.
- GREENE, H. C.; FRED, E. B. Maintenance of vigorous mold stock cultures. *Industrial Engineering Chemistry*, v.26, p.1297-1298, 1934.
- KEW, S. *Preservation of fungal cultures*. Commonwealth Mycological Institute. 1997.
- LUCON, C.M.M.; OKINO, L.K.; SCHOENLEIN-CRUSIUS, I.H. Survival of fungi preserved by lyophilization after 49 years. *Revista de Microbiologia*, v.24, p.207-11, 1993.
- PASSADOR, M.M.; APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, M.B. Isolamento de *Verticillium dahliae* e sua inoculação em três hospedeiros distintos. *Arquivos Instituto Biológico*, São Paulo, v.68, p.54, 2001. Suplemento. Trabalho apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 14., 2001, São Paulo. Resumo 055.
- PASSADOR, M.M.; APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, M.B. Isolamento de *Verticillium dahliae* e sua inoculação em dois hospedeiros distintos. *Arquivos Instituto Biológico*, São Paulo, v.69,, p.214-215, 2002. Suplemento. Trabalho apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 15., 2002, São Paulo. Resumo 166.
- PIMENTEL, C.P.V.; FIGUEIREDO, M.B. Métodos de preservação de fungos em meio de cultura. *O Biológico*, São Paulo, v.55, n.1/2, p.27-33, 1989.
- PIMENTEL, C.P.V.; PITTA, G.P.B.; FIGUEIREDO, M.B. Preservação da patogenicidade de alguns fungos conservados em água destilada. *O Biológico*, São Paulo, v.46, p.279-308, 1980.
- PIMENTEL, P.V.C.; FEITOSA, M.I.; CHIBA, S. Contribuição ao estudo da viabilidade e variabilidade de alguns isolados de *Phytophthora* do cacau (*Theobroma cacao* L.). *O Biológico*, São Paulo, v.47, n.6, p.159-168, 1981.
- PITOMBO, R.N.M. A liofilização como técnica de preservação de material de pesquisa. *Ciência e Cultura*, v.41, p.427-431, 1989.
- RUSSOMANO, O.M.R.; COUTINHO, L.N.; FIGUEIREDO, M.B.; PIMENTEL, C.P.V. Preservação da patogenicidade de culturas de *Verticillium dahliae* conservadas em água destilada. *Summa Phytopathologica*, v.21, p.178-181, 1995.

Recebido em 14/5/08

Aceito em 14/10/09